

# Fraksinasi Minyak Sawit Kasar dengan Pelarut Organik dalam Pembuatan Konsentrat Karotenoid

## *Crude Palm Oil Fractination with Organic Solutions in Carotenoid Concentrate Production*

Nur Wulandari<sup>1,2)\*</sup>, Herher Hernawati<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>2)</sup>South East Asian Food and Agricultural Science and Technology Center, Institut Pertanian Bogor, Bogor

**Abstract.** Efforts to collect carotenoid components from palm oil by crystallization fractionation method with organic solvents can improve the added value of palm oil. The objective of this research was to study the process of crude palm oil fractionation with various organic solvents and find out the types of organic solvent that can produce carotenoid concentrates with high concentration and recovery, and know the effect of organic solvent treatment on the content of tocopherol in carotenoid concentrate. This study consisted of two stages, the CPO raw material characterization stage and the solvent selection phase. The solvents used were acetone, benzene, ethanol, diethyl ether, hexane, isopropanol, carbon tetrachloride, metanol, petroleum ether, and toluene. Fractionation is carried out at gradually lowered temperatures from room temperature (2 °C) to 20°C, 15°C and lower temperature. Result showed that solvents that produce high concentrations and recovery of carotenoids at stage 1 were acetone, hexane, petroleum ether, diethyl ether, benzene, and toluene. The results of stage 2 for solvent selection showed that the sample with acetone solvent had the highest carotenoid concentration but the recovery was still low at 28.58%.

**Keywords:** carotenoid, concentrate, CPO, fractionation, organic solvent

**Abstrak.** Upaya penjumlahan komponen karotenoid dari minyak sawit dengan fraksinasi kristalisasi suhu rendah dengan bantuan pelarut organik dapat meningkatkan nilai tambah minyak sawit. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari proses fraksinasi minyak sawit kasar dengan berbagai pelarut organik dan mengetahui jenis pelarut organik yang dapat menghasilkan konsentrat karotenoid dengan konsentrasi dan *recovery* karotenoid yang tinggi, serta melihat pengaruh perlakuan jenis pelarut organik terhadap kandungan tokoferol pada konsentrat karotenoid. Penelitian ini terdiri atas dua tahap, yaitu tahap karakterisasi bahan baku CPO dan tahap seleksi pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu aseton, benzena, etanol, dietil eter, heksana, isopropanol, karbon tetraklorida, metanol, petroleum eter, dan toluena. Fraksinasi dilakukan pada suhu yang diturunkan secara bertahap mulai dari suhu kamar (27°C), 20°C, 15°C dan seterusnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut yang menghasilkan konsentrasi dan *recovery* karotenoid cukup tinggi pada seleksi tahap 1 adalah aseton, heksana, petroleum eter, dietil eter, benzena, dan toluena. Hasil seleksi pelarut tahap 2 menunjukkan bahwa sampel dengan pelarut aseton memiliki konsentrasi karotenoid tertinggi, tetapi *recovery*-nya masih rendah yaitu 28.58%.

**Kata Kunci:** CPO, fraksinasi, karotenoid, konsentrat, pelarut organik

**Aplikasi Praktis:** Hasil penelitian ini menyediakan data tentang kondisi proses fraksinasi menggunakan pelarut yang dapat digunakan untuk penjumlahan karotenoid dari minyak sawit. Data tersebut dapat dijadikan acuan bagi pengembangan upaya pemanfaatan karotenoid untuk menambah nilai tambah minyak sawit sebagai produk farmasetikal dan nutrasetikal.

## PENDAHULUAN

Setiap tahun luas areal perkebunan kelapa sawit mengalami peningkatan sekitar 150,000-200,000 ha diiringi dengan peningkatan produksi minyak sawit kasar atau *Crude Palm Oil* (CPO). Data statistik menunjukkan bahwa pada tahun 2005 luas areal perkebunan kelapa sawit di Indonesia adalah 3.592.000 ha (BPS 2005) dengan produksi CPO sebesar 13.1 juta ton (IPOC 2005). Saat ini, industri pengolahan kelapa sawit masih didominasi oleh industri kilang minyak

sawit kasar (*Crude Palm Oil*), minyak inti sawit (*Palm Kernel Oil*), serta produk antara berupa *Refined Bleached Deodorized Palm Oil* (RBDPO). Oleh karena itu, perlu adanya upaya pemanfaatan minyak kelapa sawit menjadi produk turunannya dengan nilai tambah yang lebih besar.

Minyak kelapa sawit memiliki beberapa keunggulan salah satunya adalah kandungan pigmen karotenoid jumlah yang tinggi, yaitu sekitar 500-700 ppm (Ping dan Lian 2005). Selain sebagai pewarna alami, komponen karotenoid pada minyak sawit memiliki manfaat bagi kesehatan manusia.

Korespondensi: wulandari\_safardan@yahoo.com

Teknologi proses pemurnian minyak yang dipraktikkan industri minyak goreng selama ini menyebabkan karotenoid dan tokoferol mengalami kerusakan karena berlangsung pada suhu tinggi (Nurchayono dan Zubaidah 2015, Derlean 2009). Untuk itu, diperlukan upaya penjumlahan komponen karotenoid dari minyak sawit dengan teknik tertentu sehingga dapat meningkatkan nilai tambah minyak sawit. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendapatkan konsentrat karotenoid dari minyak sawit kasar yaitu dengan metode fraksinasi. Karotenoid mudah mengalami kerusakan akibat suhu tinggi (Nurchayono dan Zubaidah 2015), oleh karena itu kerusakan karotenoid perlu dikurangi melalui proses fraksinasi pada suhu rendah dengan bantuan pelarut organik. Penggunaan pelarut organik dalam fraksinasi suhu rendah adalah untuk membantu pemisahan fraksi cair (Susanti *et al.* 2014) dan mengikat lebih banyak karotenoid sehingga dihasilkan produk konsentrat dengan konsentrasi dan *recovery* karotenoid yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari proses fraksinasi minyak sawit kasar dengan berbagai pelarut organik dan mengetahui jenis pelarut organik yang dapat menghasilkan konsentrat karotenoid dengan konsentrasi dan *recovery* karotenoid yang tinggi. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk melihat pengaruh perlakuan jenis pelarut organik terhadap kandungan tokoferol pada konsentrat karotenoid yang dihasilkan.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak sawit kasar atau *Crude Palm Oil* (CPO) dan berbagai jenis pelarut yaitu aseton, benzena, dietil eter, etanol, heksana, isopropanol, karbon tetraklorida, metanol, petroleum eter, dan toluena. Bahan lain yang digunakan yaitu standar tokoferol murni, NaOH, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, KI, alkohol, 2,2-bipiridin, FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, gas nitrogen, dan bahan kimia lainnya untuk analisis.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UVVis, *Gas Chromatography* (GC), neraca analitik, vorteks, tabung reaksi bertutup, inkubator suhu rendah yang dapat diatur suhunya, dan peralatan gelas lainnya.

Penelitian ini terdiri atas dua tahap, yaitu karakterisasi bahan baku CPO dan seleksi pelarut organik (selanjutnya disebut pelarut) dengan metode fraksinasi. Karakterisasi CPO meliputi penentuan konsentrasi karotenoid, kadar air, asam lemak bebas sebagai asam palmitat, bilangan iod, kadar tokoferol, dan komposisi asam lemak. Tahap seleksi pelarut dilakukan untuk mengetahui jenis pelarut yang mampu menghasilkan konsentrat karotenoid dengan konsentrasi dan *recovery* karotenoid yang tinggi. Seleksi pelarut dibagi menjadi dua tahap yaitu seleksi pelarut tahap 1 untuk mengetahui proses fraksinasi CPO dengan 10 jenis pelarut yang berbeda pada suhu fraksinasi yang diturunkan secara bertahap mulai dari suhu 27, 20, 15°C, dan seterusnya,

serta tahap 2 untuk seleksi kembali pelarut yang mampu menghasilkan konsentrasi dan *recovery* karotenoid cukup tinggi dari tahap 1 pada suhu fraksinasi yang diturunkan secara bertahap mulai dari suhu 27, 20, 15, 10, 5, 0, -10, dan -20°C.

### Karakterisasi bahan baku CPO

Karakterisasi bahan baku dilakukan untuk mengetahui kualitas CPO yang mengacu pada syarat mutu yang ditetapkan dalam SNI 01-2901-2006 (BSN 2006) yang menetapkan spesifikasi mutu minyak sawit. Analisis bahan baku CPO meliputi penentuan konsentrasi karotenoid dengan metode spektrofotometri, analisis kadar air, penentuan asam lemak bebas sebagai asam palmitat, bilangan iod metode Hanus, kadar tokoferol, dan komposisi asam lemak dengan *Gas Chromatography*.

### Seleksi pelarut yang digunakan dalam fraksinasi tahap I

Pelarut-pelarut yang diseleksi pada tahap 1 adalah aseton, benzena, etanol, dietil eter, heksana, isopropanol, karbon tetraklorida, metanol, petroleum eter, dan toluena. Perbandingan CPO terhadap pelarut yang digunakan adalah 1:4 (b/v) dengan bobot CPO 2 g dan volume pelarut 8 mL. CPO ditimbang ke dalam tabung reaksi bertutup yang dibungkus dengan aluminium foil, lalu ditambahkan sejumlah pelarut dan divorteks selama 90 detik agar terjadi pencampuran yang baik antara karotenoid dengan pelarut.

Setelah dikocok dengan vorteks, sampel disimpan pada suhu fraksinasi tertentu secara bertahap mulai dari suhu kamar (27), 20, 15°C, dan seterusnya sampai fraksi padat yang terbentuk sudah terpisah kembali mencapai volume CPO awal yaitu setara dengan berat CPO 2 g. Sampel dipindahkan ke suhu berikutnya apabila pada selang waktu 24 jam tidak ada penambahan fraksi padat yang terbentuk. Pemisahan fraksi dilakukan pada suhu ketika fraksi padat yang terbentuk setara dengan volume CPO awal. Fraksi cair yang telah dipisahkan lalu dihembus dengan gas N<sub>2</sub> untuk menghilangkan pelarutnya. Setiap selang waktu 10 menit sampel ditimbang sampai diperoleh bobot yang tetap untuk memastikan pelarut sudah menguap semua dan hanya menyisakan residu dalam jumlah sangat kecil. Setelah bobot sampel tetap, penghambusan N<sub>2</sub> dihentikan dan konsentrat karotenoid diukur konsentrasinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 446 nm (Kuntom *et al.* 2005). Pelarut yang memberikan hasil terbaik akan diseleksi kembali pada tahap 2.

### Seleksi pelarut yang digunakan dalam fraksinasi tahap II

Seleksi pelarut tahap 2 merupakan modifikasi dari seleksi pelarut tahap 1. Pada tahap ini fraksinasi dilakukan dengan perlakuan suhu rendah yang diturunkan secara bertahap. Suhu fraksinasi diturunkan sampai suhu dimana sampel mengendap semua atau membeku.

Pemisahan fraksi cair dan fraksi padat dilakukan pada setiap tingkatan suhu.

Perbandingan CPO terhadap pelarut yang digunakan adalah 1:4 (b/v) dengan bobot CPO 2 g dan volume pelarut 8 mL. CPO dan pelarut divorteks selama 90 detik agar terjadi pencampuran yang baik antara karotenoid dengan pelarut. Campuran antara CPO dengan pelarut lalu diinkubasi pada suhu tertentu secara bertahap sehingga terjadi pemisahan antara fraksi padat dengan fraksi cair. Suhu yang diterapkan pada tahap ini dimulai dari suhu kamar (27°C), selanjutnya diturunkan secara bertahap ke suhu 20, 15, 10, 5, 0, -10, dan -20°C.

#### Analisis kandungan karotenoid (Kuntom *et al.* 2005)

Analisis kandungan karotenoid di dalam ekstrak dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: ekstrak karotenoid ditimbang sebanyak 0.5 g lalu diencerkan di dalam labu takar 25 mL dengan pelarut heksana. Ekstrak yang sudah diencerkan diambil sebanyak 2 mL ke dalam labu takar 10 mL lalu diencerkan kembali dengan pelarut heksana, dan selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 446 nm.

#### Analisis tokoferol (Wong *et al.* 1988)

Sampel ditimbang dengan tepat sebanyak 200±10 mg ke dalam labu takar 10 mL, lalu ditambahkan 5 mL toluena untuk melarutkan sampel. Kemudian ditambahkan 3.5 mL 2.2-bipiridin (0.07% b/v dalam etanol 95%) dan 0.5 mL FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (0.2% b/v dalam etanol 95%) dan ditepatkan dengan etanol 95% sampai volume total 10 mL (kira-kira 1 mL). Setelah didiamkan selama 1 menit dalam ruang gelap, absorbansinya diukur pada panjang gelombang 520 nm. Larutan blanko dibuat seperti prosedur di atas tetapi tanpa sampel. Absorbansi blanko diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang yang sama. Penentuan kadar tokoferol sampel dilakukan berdasarkan kurva standar.

#### Penetapan komposisi asam lemak (AOAC 1995)

Contoh yang akan dianalisis asam lemaknya ditimbang dalam tabung reaksi bertutup, kemudian ditambahkan larutan standar internal 1.0 mg/mL sebanyak 0.5 mL. Ke dalam campuran tersebut selanjutnya ditambahkan 1.5 mL NaOH metanolik 0.5 N, dihembus dengan gas nitrogen, ditutup rapat, kemudian dikocok. Campuran ini selanjutnya dipanaskan dalam penangas air yang mendidih (suhu air sekitar 100°C) selama 5 menit, diikuti dengan pendinginan sampai suhu campuran berada pada kisaran suhu 30–40°C. Pereaksi BF<sub>3</sub>-metanol 14% (b/v) segera ditambahkan ke dalam campuran, dialiri gas nitrogen dan ditutup rapat, kemudian dipanaskan kembali dalam penangas air mendidih selama 30 menit. Campuran didinginkan kemudian ditambahkan 1 mL heksana, dialiri gas nitrogen, ditutup rapat, dan dikocok selama 30 detik.

Campuran yang dihasilkan selanjutnya ditambahkan 5 mL larutan NaCl jenuh, dihembus gas nitrogen, ditutup rapat dan dikocok. Lapisan heksana dipindahkan

ke dalam vial, fase metanol-air diekstrak kembali dengan 1 mL heksana dan hasil ekstraksi digabungkan serta disaring dengan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat dan dipekatkan dengan gas nitrogen sampai diperoleh volume sekitar 1 mL. Metil ester asam lemak yang telah dibebaskan dari kandungan air dengan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat dan telah dipekatkan dengan gas nitrogen, sebanyak 1 µL disuntikkan ke alat kromatografi gas. Alat kromatografi dilengkapi dengan FID, *integrator chromatopac C-R6*, dan kolom kapiler DB-23 (30 m x 0.25 mm: J & W Scientific, Folson, CA). Suhu *injector* diatur 250°C dan suhu detektornya 260°C. Suhu awal kolom 140°C yang dipertahankan selama 6 menit dengan laju kenaikan suhu 30°C/menit. Suhu akhir kolom diatur 230°C dan dipertahankan selama 25 menit. Gas pembawa yang digunakan adalah gas helium dengan tekanan 1 kg/cm<sup>2</sup> dan detektor FID. Tekanan gas hidrogen dan tekanan udara diatur sampai 0.5 kg/cm<sup>2</sup>. Kromatogram yang diperoleh digunakan untuk menentukan persentase komposisi asam lemak.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Karakterisasi bahan baku CPO

Bahan baku CPO dianalisis mutunya pada parameter mutu warna, kadar air, asam lemak bebas, bilangan iod, total karotenoid, dan total tokoferol. Berdasarkan pengamatan, CPO yang digunakan dalam penelitian berwarna jingga berbentuk cair agak mengental. Hal ini sesuai dengan syarat mutu dalam SNI 01-2901-2006 (BSN 2006) yang menyebutkan bahwa warna minyak sawit adalah jingga kemerah-merahan. Warna jingga kemerahan pada minyak sawit berasal dari pigmen karotenoid yang terkandung cukup tinggi dalam minyak sawit yaitu 500–700 ppm (Ping dan Lian 2005).

Nilai kadar air dan asam lemak dari CPO yang digunakan dalam penelitian ini secara berturut-turut adalah 0.10 dan 1.91%. Nilai kadar air lebih rendah dari standar yang ditetapkan dalam SNI 01-2901-2006 (BSN 2006) yaitu maksimum 0.50%. Dengan demikian, bahan baku CPO yang digunakan dalam penelitian dapat dikategorikan bermutu baik. Akan tetapi kandungan asam lemak masih belum memenuhi persyaratan karena lebih tinggi dari standar SNI yaitu maksimum 0.50%. Nilai bilangan iod sampel CPO sebesar 47.14 g iod/100 g minyak. Nilai ini masih mendekati kisaran nilai bilangan iod minyak sawit pada umumnya yaitu 48–55, sedangkan total karoten CPO sebesar 492.97 ppm. Nilai ini masih berada sedikit di bawah nilai yang dinyatakan dalam Ping dan Lian (2005) yaitu 500–700 ppm. Selain karotenoid, minyak sawit juga memiliki kandungan tokoferol yang cukup tinggi. Penelitian yang dilakukan Choo *et al.* (2004) menyatakan bahwa 36% dari total vitamin E yang terdapat dalam CPO adalah tokoferol. Kandungan vitamin E pada CPO berkisar antara 600–1000 ppm. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh kadar tokoferol pada sampel minyak sawit lebih tinggi dari nilai yang dinyatakan dalam Choo *et al.* (2004) yaitu sebesar 1104.09 ppm.

Komposisi asam lemak dalam CPO dianalisis dengan menggunakan instrumen *Gas Chromatography*. Komposisi asam lemak CPO hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Komposisi asam lemak CPO

Jenis Asam Lemak	Komposisi Asam Lemak (%)	Komposisi Asam Lemak Hasil Analisis (%)
Asam kaprat (C10:0)	–	0.06
Asam laurat (C12:0)	0.00–0.40	0.00
Asam miristat (C14:0)	0.60–1.70	0.81
Asam palmitat (C16:0)	41.10–47.00	34.47
Asam stearat (C18:0)	3.70–5.60	2.13
Asam oleat (C18:1 n-9)	38.20–43.60	34.56
Asam linoleat (C18:2 n-6)	6.60–11.90	11.86
Asam α-linolenat (C18:3 n-3)	0.00–0.60	0.45

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa komposisi asam lemak CPO hasil analisis memenuhi komposisi asam lemak CPO pada umumnya. Namun, ada beberapa asam lemak dengan komposisi kurang dari standar yang telah ditentukan diantaranya asam lemak palmitat, stearat, dan oleat. Selain itu juga ditemukan asam kaprat sebesar 0.06%. Asam lemak ini tidak biasa ditemukan dalam CPO.

**Seleksi pelarut tahap I**

**Kelarutan CPO dalam pelarut pada suhu kamar**

Berdasarkan hasil pengamatan, setelah campuran CPO terhadap pelarut diinkubasi pada suhu kamar (27 °C), setiap pelarut memberikan karakteristik pemisahan yang berbeda-beda. Kelarutan CPO dalam berbagai pelarut (perbandingan 1:4 b/v) pada suhu kamar ditunjukkan pada Gambar 1.

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa pada perbandingan CPO terhadap pelarut 1:4 b/v dengan pelarut heksana, petroleum eter, benzena, toluena, karbon tetraklorida, dan dietil eter, sampel CPO larut sempurna, tetapi terjadi pemisahan pada pelarut aseton, isopropanol, etanol, dan metanol. Berdasarkan urutan tingkat kepolaran pelarut dalam Gritter *et al.* (1991) pelarut heksana, petroleum eter, benzena, toluena, karbon tetraklorida, dan dietil eter memiliki sifat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan aseton, etanol, isopropanol, dan metanol sehingga dapat dikategorikan termasuk pelarut non polar. Minyak sawit kasar tersusun oleh sebagian besar senyawa trigliserida dengan kandungan sampai 93% (Setyoprato 2012). Senyawa trigliserida yang bersifat non polar akan larut dalam senyawa non polar juga sehingga dengan pelarut heksana, petroleum eter, benzena, toluena, karbon tetraklorida, dan dietil eter yang bersifat lebih non polar dibandingkan pelarut lain, CPO larut sempurna dan tidak terjadi pemisahan pada suhu kamar. Sementara itu, pelarut aseton, etanol, isopropanol, dan metanol bersifat lebih polar sehingga tidak mampu melarutkan CPO secara sempurna pada suhu kamar.



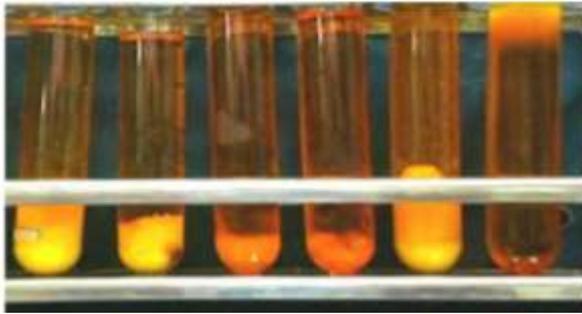
**Gambar 1.** Kelarutan CPO dalam berbagai jenis pelarut pada suhu kamar

**Karakteristik fraksinasi CPO dalam pelarut pada penurunan suhu secara bertahap**

Sampel dengan pelarut aseton, isopropanol, etanol, dan metanol mengalami pemisahan fraksi padat dan fraksi cair pada suhu kamar karena fraksi padat yang terbentuk sudah maksimal. Untuk meningkatkan jumlah fraksi padat pada pelarut heksana, petroleum eter, benzena, toluena, karbon tetraklorida, dan dietil eter maka fraksinasi dilanjutkan pada kondisi penyimpanan suhu lebih rendah dari suhu kamar sampai diperoleh volume fraksi padat maksimal. Teknis penyimpanan sampel yaitu diurutkan mulai dari suhu kamar lalu dipindahkan ke suhu-suhu yang lebih rendah (20, 15, 10, 5, 0°C, dan seterusnya) hingga pada suhu tertentu fraksi padat yang terbentuk mencapai jumlah maksimal. Melalui penerapan suhu fraksinasi yang lebih rendah diharapkan agar lemak yang belum mengendap pada suhu kamar karena titik bekunya lebih rendah, dapat mengendap pada suhu yang lebih rendah. Hasil pemisahan pada kondisi ini ditunjukkan pada Gambar 2 dan Tabel 2. Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 2 diketahui bahwa fraksinasi CPO dengan pelarut heksana, petroleum eter, dietil eter, dan karbon tetraklorida menghasilkan fraksi padat yang berwarna kuning pucat sedangkan fraksi cairnya berwarna jingga. Hal ini mengindikasikan bahwa keempat pelarut tersebut mampu melarutkan karotenoid.

**Tabel 2.** Karakteristik pemisahan fraksi pada CPO dengan berbagai pelarut (perbandingan 1:4 b/v) pada suhu rendah

Jenis Pelarut	Suhu Akhir Fraksinasi (°C)	Waktu Fraksinasi (hari)	Keadaan Fraksi Padat	Keadaan Fraksi Cair
Petroleum eter	10	16	Warna kuning pucat	Warna jingga jernih
Dietil eter	0	21	Warna kuning pucat	Warna jingga jernih
Toluena	-20	25	Warna jingga	Warna jingga agak keruh
Benzene	0	21	Warna jingga	Warna jingga dan membeku pada suhu di bawah 0 °C
Heksana	10	16	Warna kuning pucat	Warna jingga jernih
Karbon tetraklorida	-20	23	Bentuk tidak padat dan berada di bagian atas fraksi cair sehingga sulit untuk dipisahkan	Warna jingga



Keterangan dari kiri ke kanan: petroleum eter, dietil eter, toluena, benzena, heksana, dan karbon tetraklorida

**Gambar 2.** Kelarutan CPO dalam berbagai jenis pelarut pada suhu rendah

**Konsentrasi karotenoid dan recovery karotenoid dalam fraksi cair dengan berbagai pelarut**

Konsentrasi karotenoid dan *recovery* karotenoid hasil fraksinasi dengan berbagai pelarut dan *recovery* karotenoid dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Konsentrasi karotenoid dan *recovery* karotenoid hasil fraksinasi

Jenis Pelarut	Konsentrasi Karotenoid (ppm)	Recovery Karotenoid (%)
Metanol	129.62	1.67
Etanol	324.92	10.27
CCl4	409.95	67.73
Isopropanol	429.80	44.88
Benzena	462.94	80.12
Dietil eter	497.08	78.89
Heksana	519.16	77.09
Petroleum eter	526.89	82.04
Aseton	528.37	76.08

Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa dengan konsentrasi karotenoid CPO sebesar 505.54 ppm peningkatan konsentrasi karotenoid hanya terjadi pada sampel dengan pelarut heksana, petroleum eter, aseton, dan toluena. Pada tahap 1 ini pelarut toluena menghasilkan konsentrasi karotenoid yang paling tinggi diantara pelarut yang lain yaitu 590.90 ppm. Tingginya konsentrasi karotenoid disebabkan oleh fraksinasi yang dilakukan sampai suhu lebih rendah dari -10°C, yaitu -20°C. Fraksinasi yang dilakukan pada suhu rendah akan menyebabkan gliserida yang memiliki asam-asam lemak jenuh membentuk kristal.

Metanol dan etanol menghasilkan *recovery* karotenoid paling rendah diantara pelarut yang lain. Rendahnya nilai *recovery* karotenoid pada metanol dan etanol juga dapat dilihat dari berat konsentrat yang

diperoleh yaitu hanya 0.1336 dan 0.3235 g. *Recovery* karotenoid semakin meningkat seiring dengan semakin tingginya berat konsentrat yang dihasilkan.

Karotenoid termasuk senyawa yang larut dalam lemak dan minyak serta larut dalam pelarut non polar (Mustapa *et al.* 2011). Oleh karena itu, dengan pelarut-pelarut yang dapat melarutkan lemak dan bersifat non polar dapat dihasilkan fraksi cair cukup banyak sehingga nilai *recovery* karotenoid pun meningkat. Namun, hal ini tidak selalu diiringi dengan peningkatan konsentrasi karotenoidnya. Hal ini disebabkan masih banyaknya asam-asam lemak dan senyawa lain selain karotenoid yang ikut terbawa dalam fraksi cair.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap nilai konsentrasi dan *recovery* karotenoid dengan nilai probabilitas <0.05. Pada tahap ini nilai konsentrasi karotenoid yang dihasilkan belum maksimal. Oleh karena itu, dilakukan seleksi pelarut tahap 2 dengan perbaikan metode sehingga diharapkan konsentrasi karotenoid dan *recovery* karotenoid lebih meningkat. Pelarut-pelarut yang diuji pada tahap selanjutnya adalah pelarut-pelarut yang menghasilkan konsentrasi dan *recovery* karotenoid cukup tinggi yaitu aseton, heksana, petroleum eter, dietil eter, benzena, dan toluena. Hasil analisis beda Duncan menunjukkan bahwa nilai *recovery* karotenoid dari keenam pelarut ini tidak berbeda nyata.

**Seleksi pelarut tahap II**

**Karakteristik fraksinasi CPO dalam berbagai pelarut pada penurunan suhu secara bertahap**

Pengamatan hasil fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 4. Kondisi fraksi padat dan fraksi cair serta waktu fraksinasi berbeda-beda untuk masing-masing sampel. Fraksi padat yang terbentuk dengan pelarut-pelarut ini semakin bertambah seiring dengan penurunan suhu. Adanya bagian fraksi padat yang mudah buyar menyulitkan pada waktu dilakukan pemisahan antara fraksi padat dengan fraksi cairnya. Warna jingga pada fraksi padat menunjukkan bahwa karotenoid masih banyak yang tertinggal pada fraksi padat.

**Pengaruh penurunan suhu fraksinasi secara bertahap**

Fraksinasi pada suhu rendah dipengaruhi oleh perbedaan kelarutan antara komponen-komponen yang terkandung dalam sampel itu sendiri. Pada umumnya

kelarutan karbon, asam lemak jenuh normal, atau asam lemak tidak jenuh dalam pelarut organik menurun seiring dengan kenaikan bobot molekulnya, artinya semakin panjang rantai semakin rendah kelarutannya. Kelarutan asam lemak juga dipengaruhi oleh jumlah ikatan rangkap. Asam lemak tidak jenuh dengan ikatan rangkap banyak lebih larut dibandingkan asam lemak tidak jenuh tunggal dan asam lemak jenuh. Selain itu, titik leleh juga mempengaruhi kelarutan asam lemak. Pada titik leleh yang semakin tinggi maka kelarutan lemak semakin rendah dan sebaliknya (Vaikousi *et al.* 2007). Perlakuan suhu memberikan pengaruh terhadap beberapa karakteristik pemisahan yaitu rendemen fraksi cair dan fraksi padat, berat konsentrat, konsentrasi karotenoid, *recovery* karotenoid, dan tingkat pemekatan karotenoid.

**Rendemen fraksi cair**

Rendemen fraksi cair adalah persen perolehan kembali fraksi cair yang sudah diupkan pelarutnya dari berat CPO awal. Rendemen fraksi cair hasil fraksinasi CPO dengan pelarut dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan Gambar 3 rendemen fraksi cair hasil fraksinasi CPO dengan beberapa pelarut cenderung menurun dengan penurunan suhu. Sebaliknya, rendemen fraksi padat cenderung meningkat dengan penurunan suhu. Penurunan rendemen fraksi cair yang terjadi pada pelarut aseton dan dietil eter disebabkan bentuk kristal

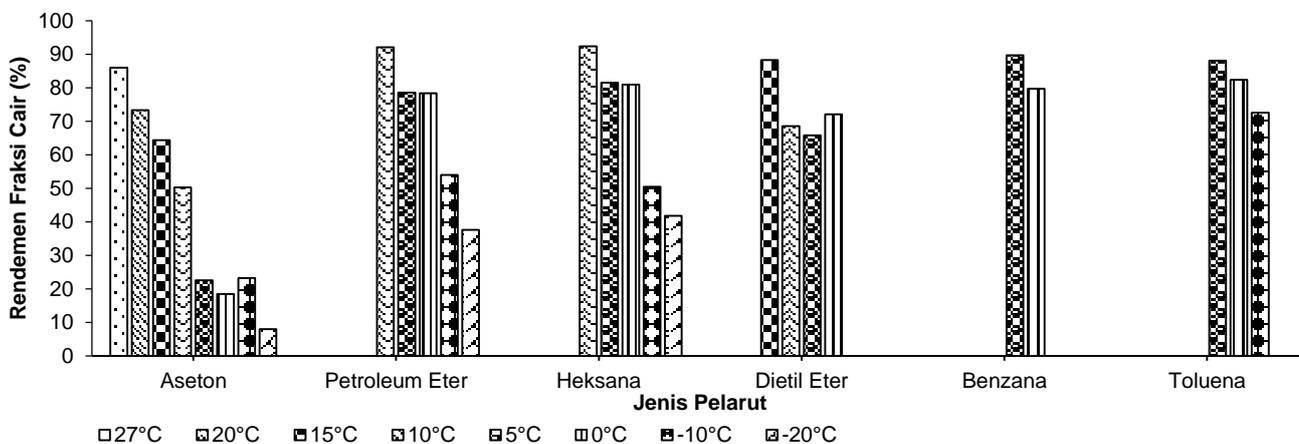
yang dihasilkan halus dan ada bagian fraksi padat yang mudah buyar sehingga kondisi pemisahan tidak optimal. Pada pelarut benzena perubahan rendemen fraksi cair tidak terlalu signifikan karena proses fraksinasi hanya berlangsung pada dua tingkatan suhu yaitu 5 dan 0°C. Pada suhu ini belum banyak gliserida yang mengalami pengkristalan sehingga rendemen fraksi padat rendah dan rendemen fraksi cair tinggi. Selain itu, titik leleh benzena pada suhu 5.5°C menyebabkan pada suhu di bawah 0°C sampel dengan pelarut benzena mengalami pembekuan sehingga tidak bisa dilakukan pemisahan dan fraksinasi tidak diteruskan ke suhu berikutnya yang lebih rendah.

**Berat konsentrat**

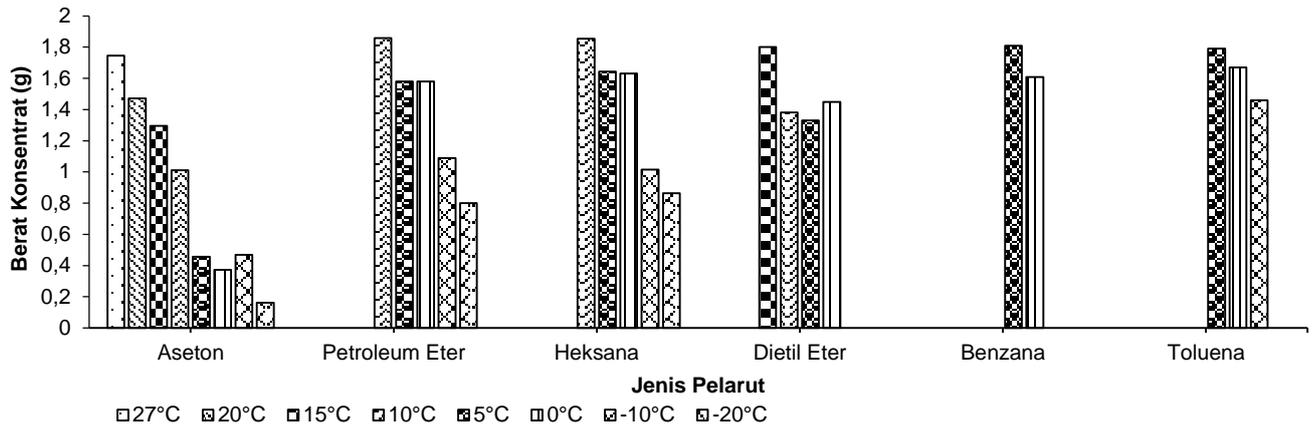
Gambar 4 menunjukkan pengaruh suhu terhadap berat konsentrat yang dihasilkan masing-masing pelarut. Berat konsentrat sebanding dengan rendemen fraksi cair. Konsentrat masih mengandung komponen lain selain karotenoid, karena pada saat fraksinasi CPO ada komponen lain yang ikut terekstrak ke fraksi cair. Penurunan suhu menyebabkan fraksi cair yang dihasilkan semakin berkurang dan fraksi padat semakin bertambah. Hal inilah yang mengakibatkan berat konsentrat menurun. Semakin rendah suhu, gliserida-gliserida pada CPO semakin banyak yang mengalami pengkristalan sehingga komponen lemak yang terlarut pada pelarut semakin berkurang.

**Tabel 4.** Karakteristik fraksinasi CPO dalam pelarut dengan penurunan suhu secara bertahap

Jenis Pelarut	Suhu Akhir Fraksinasi (°C)	Waktu Fraksinasi (hari)	Keadaan Fraksi Padat	Keadaan Fraksi Cair
Petroleum eter	-20	25	Fraksi padat berwarna kuning, bentuk kristal cukup kompak	Fraksi cair berwarna jingga jernih
Heksana	-20	25	Fraksi padat berwarna kuning, bentuk kristal cukup kompak	Fraksi cair berwarna jingga jernih
Dietil eter	0	21	Fraksi padat terbagi 2: 1. Warna kuning kompak 2. Warna agak jingga mudah buyar	Fraksi cair berwarna jingga jernih
Toluena	-10	23	Fraksi padat berwarna jingga, sulit dipisahkan karena mudah buyar	Fraksi cair berwarna jingga agak keruh
Benzena	0	21	Fraksi padat berwarna jingga, sulit dipisahkan karena mudah buyar	Fraksi cair berwarna jingga agak keruh
Aseton	-20	25	Fraksi padat terbagi 2: 1. Warna kuning kompak 2. Warna agak jingga mudah buyar	Fraksi cair berwarna jingga jernih



**Gambar 3.** Histogram rendemen fraksi cair pengukuran langsung hasil fraksinasi CPO pada penurunan suhu secara bertahap dengan berbagai pelarut (perbandingan 1:4 b/v)



**Gambar 4.** Histogram berat konsentrat hasil fraksinasi CPO pada penurunan suhu secara bertahap dengan berbagai pelarut (perbandingan 1:4 b/v)

**Konsentrasi dan recovery karotenoid**

Histogram Gambar 5a menunjukkan pengaruh suhu terhadap konsentrasi karotenoid masing-masing pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi CPO. Histogram tersebut menunjukkan adanya penurunan suhu nilai konsentrasi karotenoid sampel cenderung meningkat.

Suhu fraksinasi semakin rendah menyebabkan banyak komponen asam lemak mengendap sehingga asam lemak di dalam fraksi cair berkurang dan konsentrasi karotenoid meningkat. Pada suhu-suhu awal fraksinasi belum semua komponen lemak CPO mengalami pengkristalan dan masih banyak yang terlarut dalam fraksi cair sehingga mempengaruhi konsentrasi karotenoid. Pada suhu rendah gliserida pada CPO yang memiliki asam-asam lemak jenuh dengan titik leleh tinggi akan lebih dahulu mengendap dari pada asam lemak tidak jenuh sehingga kandungan komponen lemak dalam fraksi cair semakin berkurang dan konsentrasi karotenoid meningkat. Histogram Gambar 5b menunjukkan pengaruh suhu terhadap recovery karotenoid konsentrat hasil fraksinasi CPO dengan berbagai pelarut pada perlakuan suhu rendah secara bertahap.

Recovery karotenoid cenderung menurun dengan adanya penurunan suhu karena semakin rendah suhu, komponen lemak CPO semakin banyak mengkristal. Pada saat pembentukan kristal, ada sebagian karotenoid yang terperangkap dalam kristal lemak sehingga kelarutan dalam fraksi cair berkurang. Penurunan recovery karotenoid sebanding dengan berkurangnya berat konsentrat pada setiap tingkatan suhu.

**Tingkat pemekatan karotenoid**

Histogram pada Gambar 6 menunjukkan pengaruh suhu terhadap tingkat pemekatan karotenoid pada berbagai jenis pelarut. Pemekatan karotenoid cenderung meningkat dengan adanya penurunan suhu.

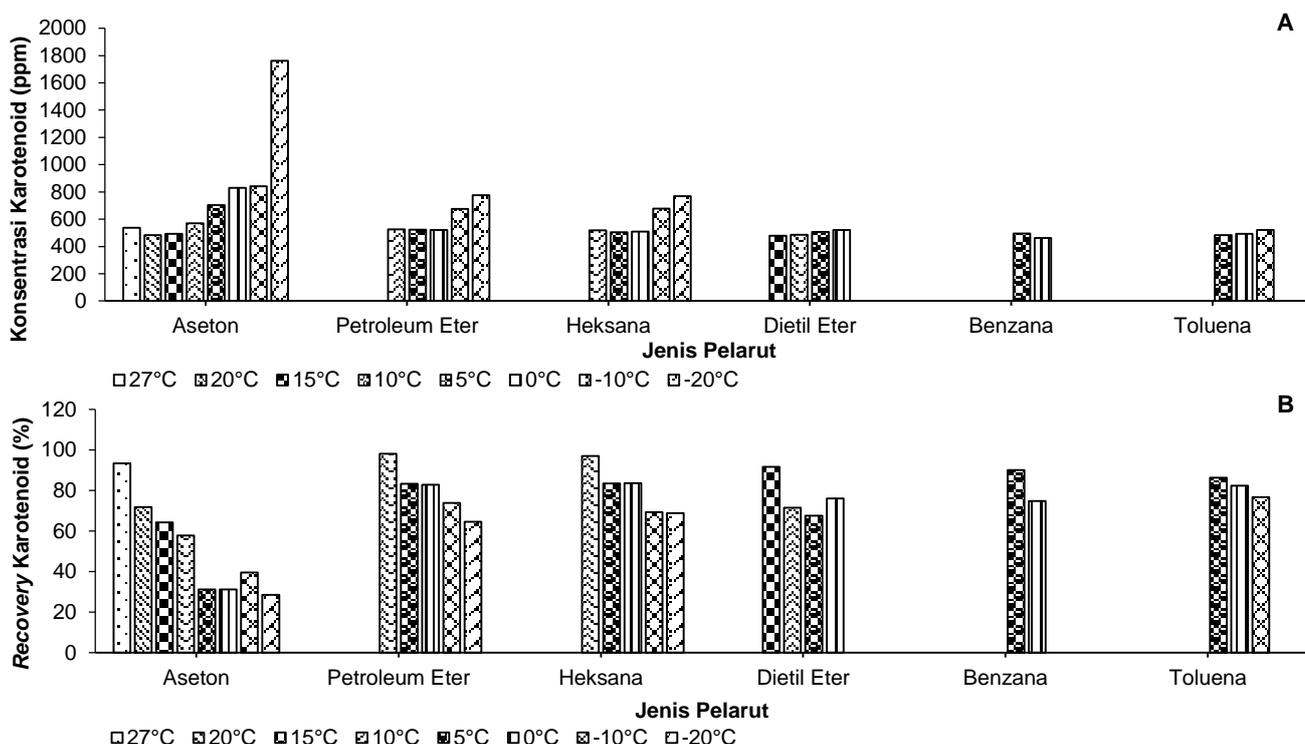
**Pengaruh jenis pelarut**

Pelarut yang digunakan untuk melarutkan karotenoid harus mampu melarutkan secara spontan. Reaksi pelarutan spontan dapat terjadi jika interaksi solut dengan pelarut sama kuat. Solut dan pelarut

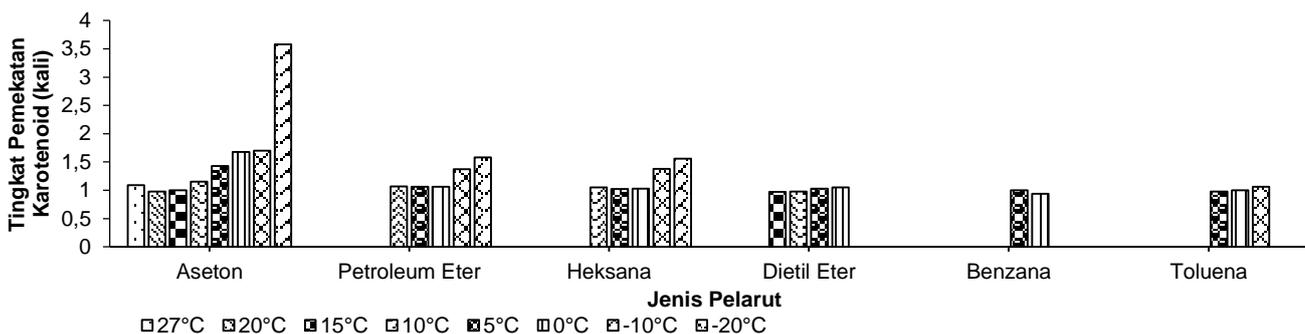
keduanya polar atau keduanya non polar (Zum Dahl dan DeCoste 2012). Pengaruh pelarut terhadap beberapa karakter proses fraksinasi CPO dapat dilihat berdasarkan berat konsentrat yang dihasilkan, konsentrasi, recovery, dan tingkat pemekatan karotenoid serta kadar total tokoferol pada suhu fraksinasi terendah (suhu akhir). Data pengaruh jenis pelarut terhadap parameter disajikan pada Tabel 5.

Berat konsentrat hasil fraksinasi CPO cenderung tinggi pada sampel dengan pelarut-pelarut yang bersifat non polar yaitu heksana, petroleum eter, dietil eter, benzena, dan toluena. Pelarut-pelarut ini juga memiliki daya larut yang baik terhadap komponen lemak selain karotenoid dalam CPO. Oleh karena itu, fraksi cair yang dihasilkan masih cukup tinggi walaupun sudah ada penurunan suhu. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap berat konsentrat karotenoid (Sig<0.05). Berdasarkan uji beda Duncan berat konsentrat aseton berbeda nyata dengan pelarut lainnya.

Analisis ragam konsentrasi karotenoid menunjukkan nilai probabilitas <0.05 yang berarti jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap konsentrasi karotenoid produk konsentrat akhir. Berdasarkan uji beda Duncan konsentrasi karotenoid tertinggi dihasilkan oleh sampel dengan pelarut aseton yang berbeda nyata dengan pelarut lainnya. Secara umum CPO terdiri dari komponen utama trigliserida dan karotenoid. Trigliserida diduga lebih bersifat non polar dari pada komponen karotenoid. Recovery karotenoid cenderung menurun dengan semakin rendahnya tingkat kepolaran pelarut. Sampel dengan pelarut aseton memiliki recovery paling kecil diantara pelarut-pelarut lainnya karena fraksinasi berlangsung sampai suhu -20°C. Hal ini menyebabkan terjadinya kristalisasi komponen lemak atau terbentuknya fraksi padat cukup tinggi sehingga karotenoid banyak yang terperangkap dalam fraksi padat. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pengaruh jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap recovery karotenoid dengan nilai probabilitas <0.05. Berdasarkan uji beda Duncan nilai recovery karotenoid pada sampel dengan pelarut aseton berbeda nyata dengan pelarut lainnya.



**Gambar 5.** Histogram konsentrasi karotenoid (a) dan *recovery* karotenoid (b) konsentrat hasil fraksinasi CPO pada penurunan suhu secara bertahap dengan berbagai pelarut (perbandingan 1:4 b/v)



**Gambar 6.** Histogram tingkat pemekatan karotenoid hasil fraksinasi CPO pada penurunan suhu secara bertahap dengan berbagai pelarut (perbandingan 1:4 b/v)

Analisis ragam pemekatan karotenoid menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap tingkat pemekatan karotenoid ( $Sig < 0.05$ ). Berdasarkan uji beda Duncan, tingkat pemekatan pada sampel dengan pelarut aseton berbeda nyata dengan pelarut lainnya. Hasil kajian karakter proses fraksinasi CPO dengan berbagai pelarut organik dalam penelitian ini menunjukkan bahwa untuk mendapatkan konsentrat karotenoid dengan konsentrasi tinggi pelarut yang cocok adalah pelarut dengan tingkat kepolaran yang tidak terlalu rendah atau terlalu tinggi (semi polar). Apabila digunakan pelarut yang tingkat kepolarannya rendah maka selain melarutkan karotenoid, komponen lemak selain karotenoid juga ikut terlarut.

Komponen tokoferol merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas vitamin E. Kombinasi vitamin E dan karotenoid dilaporkan mampu bertindak sebagai

pemusnah radikal bebas (Khomsan dan Anwar 2008). Apabila dibandingkan, nilai kandungan tokoferol pada masing-masing konsentrat dengan perlakuan jenis pelarut yang berbeda tidak berbeda jauh dengan kadar tokoferol pada bahan baku CPO. Berdasarkan analisis ragam perlakuan jenis pelarut ini tidak berpengaruh nyata terhadap kadar tokoferol dalam konsentrat. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada peningkatan konsentrasi tokoferol setelah dilakukan fraksinasi CPO pada suhu rendah secara bertahap dengan pelarut yang berbeda-beda. Tidak terjadinya perubahan yang nyata pada konsentrasi tokoferol mengindikasikan bahwa tokoferol tidak dipengaruhi keadaannya walaupun dilarutkan pada pelarut yang berbeda. Kondisi ini diduga karena titik beku tokoferol yang tinggi dan stabilitas suhunya yang sangat baik.

**Tabel 5.** Pengaruh jenis pelarut terhadap berat konsentrat, konsentrasi karotenoid, tingkat pemekatan karotenoid, dan konsentrasi tokoferol

Jenis Pelarut	Berat Konsentrat (g)	Konsentrasi Karotenoid (ppm)	Recovery Karotenoid (%)	Tingkat Pemekatan Karotenoid (kali)	Konsentrasi Tokoferol (ppm)
Aseton	0.16 <sup>a</sup>	1762.92 <sup>d</sup>	28.58 <sup>d</sup>	3.58 <sup>a</sup>	928 <sup>a</sup>
Petroleum eter	0.80 <sup>b</sup>	776.65 <sup>c</sup>	64.54 <sup>c</sup>	1.58 <sup>b</sup>	1071 <sup>a,b</sup>
Heksana	0.86 <sup>b</sup>	769.33 <sup>c</sup>	68.94 <sup>b,c</sup>	1.56 <sup>b</sup>	1210 <sup>b</sup>
Dietil eter	1.45 <sup>c</sup>	519.58 <sup>b</sup>	76.04 <sup>a</sup>	1.05 <sup>c</sup>	1062 <sup>a,b</sup>
Toluena	1.46 <sup>c</sup>	520.90 <sup>b</sup>	76.70 <sup>a</sup>	1.06 <sup>c</sup>	980 <sup>a</sup>
Benzena	1.61 <sup>d</sup>	462.98 <sup>a</sup>	74.84 <sup>a,b</sup>	0.94 <sup>d</sup>	1060 <sup>a,b</sup>
CPO	-	-	-	-	1104 <sup>a,b</sup>

Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

## KESIMPULAN

CPO memiliki kelarutan sempurna dengan pelarut heksana, petroleum eter, benzena, toluena, karbon tetraklorida, dan dietil eter pada perbandingan 1:4 b/v di suhu kamar (27°C). Sedangkan dengan pelarut aseton, isopropanol, metanol, dan etanol CPO terpisah menjadi fraksi padat dan fraksi cair pada suhu kamar. Sampel dengan pelarut aseton memiliki konsentrasi karotenoid tertinggi yaitu 1762.92 ppm dan tingkat pemekatan 3.58 kali pada suhu fraksinasi -20°C. Tetapi *recovery* karotenoidnya masih sangat rendah yaitu 28.58%. Konsentrasi karotenoid paling rendah dihasilkan oleh pelarut benzena yaitu 462.98 ppm dengan *recovery* karotenoid 74.84% pada suhu fraksinasi -20°C. Sedangkan untuk kadar tokoferol, jenis pelarut tidak memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan kadar tokoferol dalam konsentrat karotenoid.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. Washington DC.
- Choo YM, Ng MH, Ma AN, Chuah CH, Hashim MA. 2004. Separation of vitamin E (tocopherol, tocotrienol, and tocomonoenol) in palm oil. *Lipids* 39(10): 1031–1035.
- Derlean A. 2009. Pengaruh suhu dan lama pemanasan terhadap kerusakan minyak kelapa. *Bifamik* 1: 19–26.
- Gritter RJ, Bobbit JM, Schwarting AB. 1991. Pengantar Kromatografi Terjemahan. Kosasih Padmawinata, Bandung: ITB.
- Khomsan A, Anwar F. 2008. Sehat itu Mudah. Penerbit Hikmah, Jakarta (ID).
- Kuntom A, Lin SW, Ai TY, Idris NA, Yusof M, Sue TT, Ibrahim NA. 2005. MPOB TEST METHOD: A Compendium of Test on Palm Oil Products, Palm Kernel Products, Fatty Acids, Food Related Products and other. Kuala Lumpur: Malaysian Palm Oil Board.
- Mustapa AN, Manan ZA, Azizi CYM, Setianto WB, Omar AKM. 2011. Extraction of b-carotenes from palm oil mesocarp using sub-critical R134a. *Food Chemistry* 125: 262–267.
- Nurcahyono ID, Zubaidah E. 2015. Pengaruh konsentrasi *carboxymethyl cellulose* sebagai *edible coating* dan suhu pengeringan terhadap sifat fisik dan kimia wortel kering instan. *J Pangan Agroindustri* 3(3): 1192–1202.
- Ping BTY, Lian GEC. 2005. Spectroscopic identification of geometrical isomer of  $\alpha$ - and  $\beta$ - carotenes from palm oil. *J Oil Palm Res* 17: 92-102.
- Setyoprato P. 2012. Produksi asam lemak dari minyak kelapa sawit dengan proses hidrolisis. *J Teknik Kimia* 7(1): 26–31.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2006.. Standar Nasional Indonesia 01-2901-2006. Minyak Kelapa Sawit Mentah (Crude Palm Oil). Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Susanti CM, Sugiharto R, Setyani S, Subeki. 2014. Pengaruh jumlah pelarut etanol dan suhu fraksinasi terhadap karakteristik lemak kakao hasil ekstraksi *non-alkalized cocoa powder*. *J Teknol Industri Hasil Pert* 19(2): 307–319.
- Vaikousi H, Lazaridou A, Biliaderis CG, Zawistowski J. 2007. Phase transitions, solubility, and crystallization kinetics of phytosterols and phytosterol–oil blends. *J Agr Food Chem* 55(5): 1790–1798. DOI: 10.1021/jf0624289.
- Wong ML, Tims RE, Goh EM. 1988. Colorimetric determination of total tocopherol in palm oil, olein, and stearin. *J Am Oil Chem Soc* 65(2): 258-261.
- Zumdahl S, DeCoste D. 2012. Chemical Principles. Brooks Cole, Pacific Grove (US).

JMP-03-17-14 -Naskah diterima untuk ditelaah pada 05 Mei 2017. Revisi makalah disetujui untuk dipublikasi pada 11 Agustus 2017. Versi Online: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jmpi>