

EVALUASI KOMPOSISI *NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENT* DAN KONDISI OPERASI PADA EKSTRAKSI B-KAROTEN DARI *CRUDE PALM OIL*

CECILIA RUTH STEFANY PASARIBU



**PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK INDUSTRI PERTANIAN
FAKULTAS TEKNIK DAN TEKNOLOGI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir dengan judul “Evaluasi Komposisi *Natural Deep Eutectic Solvent* dan Kondisi Operasi pada Ekstraksi B-Karoten dari *Crude Palm Oil*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tugas akhir ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2026

Cecilia Ruth Stefany Pasaribu
F3401221006

ABSTRAK

CECILIA RUTH STEFANY PASARIBU. Evaluasi Komposisi *Natural Deep Eutectic Solvent* dan Kondisi Operasi pada Ekstraksi β -Karoten dari *Crude Palm Oil*. Dibimbing oleh DWI SETYANINGSIH.

β -Karoten merupakan senyawa bioaktif utama dalam *Crude Palm Oil* (CPO) yang berpotensi dimanfaatkan sebagai antioksidan alami, namun proses ekstraksinya umumnya masih menggunakan pelarut organik konvensional. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi komposisi *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) dan kondisi operasi terhadap ekstraksi β -karoten dari CPO. Penelitian dilakukan melalui seleksi formulasi NADES berdasarkan variasi *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), rasio molar, dan waktu ekstraksi. Evaluasi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, sedangkan identifikasi β -karoten dikonfirmasi menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Karakterisasi ekstrak meliputi *recovery* β -karoten, bilangan penyabunan, aktivitas antioksidan metode DPPH, serta karakterisasi fisikokimia NADES. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formulasi *Menthol:Camphor* (1:1) dengan waktu ekstraksi 90 menit merupakan kondisi terbaik berdasarkan *recovery* β -karoten sebesar 21,80%, bilangan penyabunan terendah sebesar $23,78 \pm 0,49$ mg KOH/g, serta aktivitas antioksidan sebesar $42,07 \pm 0,18\%$. Analisis HPLC mengonfirmasi keberadaan β -karoten pada ekstrak dengan waktu retensi sekitar 8,93 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa NADES berbasis *menthol*, khususnya *Menthol:Camphor*, berpotensi sebagai pelarut alternatif yang lebih ramah lingkungan untuk ekstraksi β -karoten dari CPO.

Kata kunci: β -karoten, *Crude Palm Oil*, ekstraksi, *Natural Deep Eutectic Solvent*, *recovery*.

ABSTRACT

CECILIA RUTH STEFANY PASARIBU. Evaluation of Natural Deep Eutectic Solvent Formulation and Operating Conditions for β -Carotene Extraction from Crude Palm Oil. Supervised by DWI SETYANINGSIH.

β -Carotene is one of the major bioactive compounds in crude palm oil (CPO) with potential applications as a natural antioxidant. However, its extraction commonly relies on conventional organic solvents. This study evaluated the effects of *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) composition and operating conditions on β -carotene extraction from CPO. NADES formulations were screened by varying the *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), molar ratio, and extraction time. β -Carotene distribution was evaluated using UV-Visible spectrophotometry and confirmed by *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). The extracts were further characterized through β -carotene recovery, saponification value, DPPH radical scavenging activity, and physicochemical properties of the selected NADES. The best extraction performance was obtained using Menthol:Camphor (1:1) with an extraction time of 90 min, resulting in a β -carotene recovery of 21.80%, the lowest saponification value of 23.78 ± 0.49 mg KOH/g, and antioxidant activity of $42.07 \pm 0.18\%$. HPLC analysis confirmed the presence of β -carotene with a retention time of approximately 8.93 min. These findings demonstrate that menthol-based NADES, particularly Menthol:Camphor, has potential as a greener alternative solvent for β -carotene extraction from CPO.

Keywords: β -carotene, crude palm oil, extraction, Natural Deep Eutectic Solvent, recovery.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

EVALUASI KOMPOSISI *NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENT* DAN KONDISI OPERASI PADA EKSTRAKSI B-KAROTEN DARI *CRUDE PALM OIL*

CECILIA RUTH STEFANY PASARIBU

Tugas Akhir
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Teknik pada
Program Studi Teknik Industri Pertanian

**PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK INDUSTRI PERTANIAN
FAKULTAS TEKNIK DAN TEKNOLOGI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tugas Akhir:
1 Dr. Ir. Sapta Raharja, D.E.A.
2 Prof. Dr. Ir. Suprihatin

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

Judul Tugas Akhir : Evaluasi Komposisi *Natural Deep Eutectic Solvent* dan
Kondisi Operasi pada Ekstraksi B-Karoten dari *Crude Palm Oil*

Nama : Cecilia Ruth Stefany Pasaribu

NIM : F3401221006

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr. Dwi Setyaningsih, S.TP, M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Ono Suparno, S. TP., M. T., IPM

NIP. 197212031997021001

Tanggal Ujian:
16 Juli 2026

Tanggal Lulus:



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Penelitian ini telah dilaksanakan sejak bulan Februari 2026 sampai bulan Juni 2026 dengan judul “Evaluasi Komposisi *Natural Deep Eutectic Solvent* dan Kondisi Operasi pada Ekstraksi β -Karoten dari *Crude Palm Oil*.” Dalam proses penyusunan karya ilmiah ini, penulis memperoleh banyak bantuan, bimbingan, doa, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua dan seluruh keluarga, khususnya almarhum Tagak Jonlenon Pasaribu, S.E., ayah tercinta, yang telah menanamkan nilai-nilai kehidupan dan mimpi yang terus menguatkan setiap langkah penulis. Kepada Erniwaty Pandiangan, ibu tercinta, penulis mengucapkan terima kasih atas kasih sayang, doa, dan pengorbanan yang tiada henti. Terima kasih telah menjadi ibu sekaligus ayah, yang dengan penuh keteguhan mengantarkan penulis hingga dapat menyelesaikan karya ilmiah ini.
2. Dr. Dwi Setyaningsih, S.TP, M.Si., selaku dosen pembimbing dan dosen PIC, yang telah membimbing serta memberikan arahan, masukan, dan dukungan selama penyusunan karya ilmiah ini.
3. Kedua adik penulis, Catherine Joy Christy Pasaribu dan Cristian Bonardo Pasaribu, atas doa, semangat, dan dukungan yang senantiasa diberikan kepada penulis.
4. Seluruh dosen, laboran, tenaga kependidikan, serta seluruh staf Program Studi Teknik Industri Pertanian yang telah membantu saya.
5. Mikael Febrian Aritonang, yang senantiasa kebersamai, mendukung, dan menjadi tempat berbagi cerita selama proses penyusunan karya ilmiah ini.
6. Geng "CeRiT" (Cecil, Rio, Tabina), khususnya Rionaldy Hakki dan Tabina Khalita Rafifah, atas kebersamaan, kerja sama, dan cerita yang mewarnai perjalanan penelitian ini.
7. Zahsy Farah, Alexandra Widya Damayanti, dan Yunan Meta Ardita (S.H., S.T., S.Ap., S.Pd.), atas doa, dukungan, dan kasih sayang yang selalu diberikan.
8. Grace Paula Veronica, Lestari Endah Purwaningsih, dan Farsya Ashila Mumtazah (JCO), yang telah menjadi sahabat dan teman berbagi sejak awal perkuliahan.
9. Teman-teman TIN Angkatan 59 (Tinit), atas kebersamaan, dukungan, dan setiap pengalaman yang telah dilalui bersama.
10. Seluruh teman-teman yang selalu memberikan segala bentuk dukungan dan menjadi tempat berkeluh kesah, utamanya teman YS, tiba-tiba ngasprak, Anak bimbing IBU PERI WASTU, blekping, alfalaval, dan IPBaktiChampions.

Bogor, Juli 2026

Cecilia Ruth Stefany Pasaribu



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	x
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Ruang Lingkup	2
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Crude Palm Oil</i> (CPO)	4
2.2 β -Karoten	4
2.3 <i>Natural Deep Eutectic Solvent</i> (NADES)	5
2.4 Ekstraksi β -Karoten menggunakan NADES	6
2.5 Analisis β -Karoten dan Aktivitas Antioksidan	7
2.6 Evaluasi Hasil Ekstraksi β -Karoten	8
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Tahapan Desain Keteknikan	11
3.4 Prosedur Penelitian	13
3.5 Karakterisasi CPO	19
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Karakteristik <i>Crude Palm Oil</i> (CPO)	22
4.2 Seleksi Awal Formulasi NADES	23
4.3 Pengembangan Formulasi NADES	27
4.4 Seleksi Formulasi Berbasis <i>Menthol</i>	29
4.5 Variasi Waktu Ekstraksi terhadap Konsentrasi β -Karoten	32
4.6 <i>Re-extraction</i> dan Evaporasi Fase NADES	35
4.7 Identifikasi β -Karoten menggunakan HPLC	36
4.8 <i>Recovery</i> Hasil β -Karoten	41
4.9 Analisis Komponen Tersabunkan pada Ekstrak β -Karoten	42
4.10 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Karotenoid dengan Metode DPPH	43
4.11 Karakteristik NADES Terpilih	45
V SIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Simpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	49



DAFTAR TABEL

1	Hasil karakterisasi CPO	22
2	Hasil pengamatan karakteristik fisik NADES	24
3	Hasil <i>screening</i> awal ekstraksi	26
4	Pengembangan formulasi NADES	28
5	Profil spektrum serapan β -karoten	30
6	Data absorbansi kurva standar	32
7	Konsentrasi karotenoid fase atas pada variasi waktu ekstraksi	34
8	Profil HPLC ekstrak	40
9	Kadar β -karoten dan <i>recovery</i> ekstrak	41
10	Hasil bilangan penyabunan sampel	43
11	Hasil pengujian aktivitas antioksidan sampel	44
12	Karakterisasi NADES terpilih	46

DAFTAR GAMBAR

13	Struktur ikatan hidrogen antara HBA dan HBD	6
14	Tahapan desain keteknikan	13
15	Tahapan pembuatan NADES	14
16	Tahapan ekstraksi CPO dengan NADES	15
17	Tahapan <i>re-extraction</i> CPO dengan heksana dan air	15
18	Diagram alir identifikasi β -karoten menggunakan HPLC	17
19	Penampakan NADES (a) CG (b) CF (c) MC (d) CO (e) MA (f) MP (g) ML (h) MG	25
20	Penampakan hasil ekstraksi (a) CG (b) CF (c) MC (d) CO (e) ML	27
21	Penampakan hasil ekstraksi (a) BFA (b) BLA (c) BPA (d) BBA	29
22	Kurva panjang gelombang serapan maksimum β karoten	30
23	Grafik nilai absorbansi hasil ekstraksi (a) Rasio 1:2 (b) Rasio 1:1 (c) Rasio 2:1	31
24	Kurva standar β -karoten	33
25	Ekstraksi skala besar (a) MBA (b) MCA (c) MAA	35
26	Penampakan hasil <i>re-extraction</i> (a) MBA (b) MCA (c) MAA	36
27	Hasil evaporasi <i>re-extraction</i> (a) karoten (b) heksana	36
28	Kromatogram CPO1	37
29	Kromatogram CPO2	37
30	Kromatogram MBA1	38
31	Kromatogram MBA2	39
32	Kromatogram MC1	39
33	Kromatogram MC2	40
34	Diagram <i>recovery</i> ekstrak MC	42
35	Diagram <i>recovery</i> ekstrak MBA	42
36	Kurva standar asam askorbat	45
37	Penampakan NADES terpilih	46

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Crude Palm Oil (CPO) tidak hanya berperan sebagai komoditas utama dalam industri pangan dan energi, tetapi juga sebagai sumber senyawa minor bernilai tinggi, salah satunya karotenoid. Senyawa ini, khususnya β -karoten, dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan serta potensi aplikasi luas dalam industri pangan fungsional, kosmetik, hingga farmasi. Kandungan karotenoid dalam CPO dilaporkan berada sekitar 500 ppm, dengan dominasi α - dan β -karoten, sehingga memberikan peluang pemanfaatan sebagai produk bernilai tambah apabila dapat dipisahkan secara selektif (Japir *et al.* 2017; Vidoca *et al.* 2020; Nabu *et al.* 2021). Meskipun demikian, pemanfaatan karotenoid dari CPO masih menghadapi berbagai kendala, terutama pada tahap ekstraksi. Metode konvensional umumnya menggunakan pelarut organik seperti heksan yang efektif dalam melarutkan senyawa non polar, termasuk β -karoten. Namun, dalam sistem ekstraksi yang kompleks seperti CPO, penggunaan pelarut tunggal seringkali belum mampu memberikan selektivitas yang optimal terhadap senyawa target, sehingga diperlukan pendekatan sistem pelarut yang lebih terarah. Hal ini menunjukkan bahwa pengembangan sistem pelarut alternatif yang lebih selektif dan berkelanjutan masih menjadi kebutuhan penting.

Dalam beberapa tahun terakhir, *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) mulai dikembangkan sebagai pelarut hijau yang menawarkan fleksibilitas dalam desain serta karakteristik yang dapat disesuaikan dengan sifat senyawa target. Kombinasi komponen seperti *menthol*, *thymol*, dan *camphor* memungkinkan terbentuknya NADES dengan sifat hidrofobik, yang secara teoritis sesuai untuk mengekstraksi senyawa nonpolar seperti β -karoten. Namun, performa NADES tidak hanya ditentukan oleh jenis komponennya, tetapi juga oleh *rasio hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD), serta kondisi operasi seperti suhu dan waktu ekstraksi (Lazzarini *et al.* 2022). Sejumlah penelitian telah menunjukkan potensi NADES dalam ekstraksi senyawa bioaktif, tetapi sebagian besar masih berfokus pada peningkatan hasil ekstraksi tanpa mengkaji secara mendalam mekanisme yang mendasarinya. Padahal, ketidaksesuaian polaritas antara NADES dan senyawa target dapat menyebabkan distribusi yang tidak optimal, terutama untuk senyawa seperti β -karoten yang bersifat sangat nonpolar. Selain itu, interaksi kompleks dalam sistem multikomponen, termasuk keberadaan pelarut tambahan seperti heksan atau etanol, dapat mempengaruhi selektivitas dan efisiensi ekstraksi secara keseluruhan. Berdasarkan permasalahan tersebut, diperlukan kajian yang lebih mendalam mengenai pengaruh komposisi NADES dan kondisi operasi terhadap distribusi β -karoten dalam sistem ekstraksi CPO. Pendekatan yang digunakan tidak hanya mengevaluasi performa ekstraksi, tetapi juga mengaitkannya dengan karakteristik sistem untuk mengidentifikasi faktor dominan yang mengontrol proses. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan desain pelarut berbasis NADES yang lebih efektif dan berkelanjutan untuk pemanfaatan senyawa bernilai tambah dari CPO.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka permasalahan dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh komposisi NADES (jenis HBA-HBD dan rasio molar) terhadap distribusi β -karoten dalam sistem ekstraksi CPO?
2. Bagaimana pengaruh kondisi operasi, khususnya waktu ekstraksi, terhadap efisiensi perpindahan β -karoten antar fase?
3. Faktor dominan apa yang mempengaruhi keberhasilan atau keterbatasan sistem NADES dalam mengekstraksi β -karoten dari CPO?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disusun, tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menganalisis pengaruh komposisi *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES), khususnya jenis *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD) serta rasio molarnya, terhadap distribusi β -karoten dalam sistem ekstraksi CPO.
2. Mengevaluasi pengaruh kondisi operasi, khususnya waktu ekstraksi, terhadap efisiensi perpindahan β -karoten antar fase dalam sistem ekstraksi.
3. Mengidentifikasi faktor dominan yang mempengaruhi keberhasilan atau keterbatasan sistem NADES dalam mengekstraksi β -karoten dari CPO.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan kontribusi pada pengembangan metode ekstraksi β -karoten berbasis NADES serta pemahaman terkait efisiensi dan distribusi ekstraksi dalam sistem cair-cair.
2. Menjadi dasar pertimbangan dalam optimasi proses ekstraksi β -karoten dari CPO yang lebih efisien dan selektif.
3. Memberikan informasi mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan dan keterbatasan penggunaan NADES dalam ekstraksi β -karoten dari CPO.

1.5 Ruang Lingkup

Fokus utama ruang lingkup penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini berfokus pada proses ekstraksi β -karoten dari *Crude Palm Oil* (CPO) menggunakan sistem pelarut berbasis *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES).
2. Variasi yang dikaji dalam penelitian ini meliputi komposisi NADES (jenis *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD) serta rasio molar) dan kondisi operasi berupa waktu ekstraksi.
3. Proses ekstraksi dilakukan dalam sistem cair-cair dengan menggunakan heksan sebagai pelarut awal, serta penambahan etanol sebagai *co-solvent* untuk mendukung proses ekstraksi.
4. Evaluasi hasil ekstraksi dilakukan melalui pengukuran konsentrasi β -karoten menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

5. Ekstrak β -karoten yang diperoleh selanjutnya dianalisis lebih lanjut menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk mengidentifikasi dan mengkonfirmasi kandungan senyawa.
6. Karakteristik ekstrak dievaluasi melalui perhitungan *recovery* β -karoten, analisis bilangan penyabunan, dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Crude Palm Oil* (CPO)

Crude Palm Oil (CPO) merupakan minyak nabati yang diperoleh dari mesokarp buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) melalui proses ekstraksi mekanis tanpa proses pemurnian lanjutan. CPO menjadi salah satu komoditas minyak nabati terpenting di dunia karena memiliki produktivitas yang tinggi dibandingkan tanaman penghasil minyak lainnya serta memiliki aplikasi yang luas pada industri pangan, oleokimia, kosmetik, dan energi. Indonesia dan Malaysia merupakan produsen utama minyak sawit dunia, sehingga pemanfaatan komponen bernilai tambah dari CPO menjadi salah satu peluang strategis dalam pengembangan industri berbasis kelapa sawit (Japir *et al.* 2017). Secara komposisi, CPO tersusun terutama oleh trigliserida yang mencapai sekitar 90-95% dari total kandungan minyak. Selain fraksi utama tersebut, CPO juga mengandung berbagai senyawa minor seperti karotenoid, tokoferol, tokotrienol, fitosterol, fosfolipid, dan senyawa fenolik dalam jumlah yang lebih kecil. Meskipun jumlahnya relatif rendah, senyawa minor tersebut memiliki peran penting terhadap stabilitas oksidatif, karakteristik warna, serta nilai fungsional minyak sawit. Oleh karena itu, CPO tidak hanya berfungsi sebagai sumber lipid, tetapi juga sebagai sumber senyawa bioaktif yang berpotensi dimanfaatkan pada berbagai sektor industri bernilai tinggi (Ng dan Choo 2016; Sundalian *et al.* 2021).

Salah satu karakteristik khas CPO adalah warna jingga kemerahan yang berasal dari kandungan karotenoid alaminya. Karotenoid merupakan kelompok pigmen lipofilik yang berfungsi sebagai antioksidan alami dan berkontribusi terhadap warna khas minyak sawit mentah. Kandungan total karotenoid pada CPO umumnya berada pada kisaran 500 ppm tergantung varietas tanaman, tingkat kematangan buah, serta kondisi proses pengolahan yang digunakan. CPO bahkan dikenal sebagai salah satu sumber karotenoid alami terkaya dibandingkan beberapa sumber nabati lainnya (Ng dan Choo 2016). Fraksi karotenoid pada CPO didominasi oleh α -karoten dan β -karoten yang secara bersama-sama menyumbang lebih dari 80% total karotenoid minyak sawit. β -karoten merupakan komponen dominan dengan proporsi sekitar 50-60%, sedangkan α -karoten berkisar 30-40% dari total karotenoid. Keberadaan kedua senyawa tersebut tidak hanya berperan dalam pembentukan warna minyak, tetapi juga berkontribusi terhadap aktivitas biologis dan nilai nutrisi CPO sebagai sumber provitamin A alami (Kurniawan *et al.* 2023).

2.2 β -Karoten

β -Karoten merupakan salah satu komponen karotenoid utama yang terkandung dalam *Crude Palm Oil* (CPO) dan berkontribusi terhadap warna jingga kemerahan khas minyak sawit mentah. Senyawa ini termasuk golongan tetraterpenoid dengan rumus molekul $C_{40}H_{56}$ yang tersusun atas delapan unit isoprena membentuk rantai hidrokarbon panjang dengan sebelas ikatan rangkap terkonjugasi. Keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi tersebut tidak hanya bertanggung jawab terhadap karakteristik warna β -karoten, tetapi juga menentukan sifat fisikokimia dan aktivitas biologisnya (Ng *et al.* 2016). Karakteristik penting β -karoten yang berkaitan erat dengan proses ekstraksi adalah sifatnya yang sangat

lipofilik dan nonpolar. Struktur molekul β -karoten hampir seluruhnya tersusun atas atom karbon dan hidrogen tanpa gugus fungsi polar, sehingga kelarutannya dalam air sangat rendah. Sebaliknya, β -karoten memiliki afinitas yang tinggi terhadap pelarut nonpolar seperti heksana, petroleum eter, dan berbagai pelarut organik hidrofobik lainnya. Kondisi ini menyebabkan distribusi β -karoten dalam suatu sistem ekstraksi sangat dipengaruhi oleh kesesuaian polaritas antara senyawa target dan pelarut yang digunakan. Prinsip tersebut menjadi dasar dalam pengembangan sistem ekstraksi berbasis *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES), khususnya NADES hidrofobik yang dirancang untuk meningkatkan afinitas terhadap senyawa lipofilik seperti β -karoten. Meskipun memiliki nilai ekonomi dan fungsional yang tinggi, β -karoten tergolong senyawa yang relatif tidak stabil. Stabilitas β -karoten dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, terutama cahaya, suhu, dan oksigen. Paparan cahaya dapat memicu reaksi fotooksidasi yang menyebabkan kerusakan struktur poliensa, sedangkan peningkatan suhu dapat mempercepat proses isomerisasi dari bentuk *all-trans β -carotene* menjadi berbagai bentuk *cis-isomer* yang umumnya memiliki aktivitas biologis lebih rendah (Lavelli dan Sereikaite 2022). Selain itu, kontak dengan oksigen dapat menginisiasi reaksi autoooksidasi yang mengakibatkan penurunan kadar β -karoten serta terbentuknya senyawa hasil degradasi. Oleh karena itu, pengendalian kondisi operasi selama proses ekstraksi menjadi faktor penting untuk mempertahankan stabilitas dan mencegah kehilangan β -karoten akibat degradasi termal maupun oksidatif.

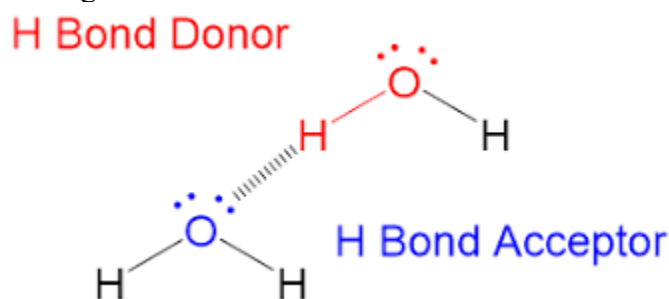
2.3 *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES)

Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) merupakan kelompok pelarut eutektik yang terbentuk melalui pencampuran dua atau lebih senyawa alami yang berperan sebagai *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD) pada rasio tertentu. Interaksi ikatan hidrogen yang kuat antara kedua komponen tersebut menyebabkan terjadinya penurunan titik leleh campuran secara signifikan dibandingkan titik leleh masing-masing komponen penyusunnya, sehingga menghasilkan sistem cair yang stabil pada suhu ruang. Konsep NADES berkembang dari *Deep Eutectic Solvent* (DES) dan banyak mendapat perhatian karena menawarkan alternatif pelarut yang lebih berkelanjutan untuk berbagai proses ekstraksi senyawa bioaktif (Dai *et al.* 2013). Salah satu keunggulan utama NADES adalah fleksibilitas dalam desain pelarut. Berbagai kombinasi HBA dan HBD dapat menghasilkan karakteristik fisikokimia yang berbeda-beda, seperti polaritas, viskositas, densitas, serta kemampuan melarutkan senyawa target. Oleh karena itu, sifat suatu NADES tidak hanya ditentukan oleh jenis komponen penyusunnya, tetapi juga oleh rasio molar yang digunakan. Perbedaan karakteristik tersebut memungkinkan NADES dirancang secara spesifik sesuai dengan sifat senyawa yang akan diekstraksi (Paiva *et al.* 2014).

Dalam sistem NADES, HBA berperan sebagai penerima proton, sedangkan HBD berfungsi sebagai donor proton dalam pembentukan jaringan ikatan hidrogen. Interaksi antara kedua komponen tersebut menghasilkan struktur supramolekul yang memberikan sifat unik pada pelarut yang terbentuk. Variasi jenis maupun rasio HBA dan HBD dapat memengaruhi kekuatan interaksi intermolekuler sehingga berdampak pada kemampuan pelarut dalam berinteraksi dengan senyawa target selama proses ekstraksi. Karakteristik yang paling sering dikaitkan dengan performa ekstraksi NADES adalah polaritas dan viskositas. Polaritas menentukan

tingkat afinitas antara pelarut dan senyawa target berdasarkan prinsip *like dissolves like*, di mana senyawa cenderung lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki karakteristik polaritas serupa (Vanda *et al.* 2018). Selain polaritas, viskositas juga mempengaruhi laju perpindahan massa selama proses ekstraksi. NADES umumnya memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan pelarut organik konvensional akibat kuatnya interaksi ikatan hidrogen antar komponen penyusunnya. Viskositas yang tinggi dapat memperlambat proses difusi senyawa target menuju fase pelarut sehingga berpotensi mempengaruhi efisiensi ekstraksi (Zhang *et al.* 2012).

Selain sifat fisikokimia tersebut, NADES juga dikenal memiliki keunggulan dari aspek keberlanjutan. Sebagian besar komponen penyusun NADES berasal dari senyawa alami yang bersifat *biodegradable*, memiliki volatilitas rendah, dan relatif aman dibandingkan banyak pelarut organik konvensional. Karakteristik ini menjadikan NADES sebagai salah satu *green solvent* yang berpotensi digunakan dalam ekstraksi berbagai senyawa bioaktif (Chemat *et al.* 2012). Berdasarkan karakteristik polaritasnya, NADES dapat dikelompokkan menjadi NADES hidrofilik dan NADES hidrofobik. NADES hidrofilik umumnya tersusun dari senyawa yang memiliki gugus polar sehingga lebih mudah berinteraksi dengan air. Sebaliknya, NADES hidrofobik tersusun dari komponen yang memiliki karakteristik nonpolar sehingga menunjukkan afinitas yang lebih tinggi terhadap senyawa lipofilik. Perbedaan karakteristik tersebut menunjukkan bahwa efektivitas suatu NADES sangat bergantung pada kesesuaian antara sifat pelarut dan senyawa target yang diekstraksi. Dalam penelitian ini, penggunaan NADES dipertimbangkan sebagai sistem pelarut alternatif untuk ekstraksi β -karoten dari CPO. Mengingat β -karoten merupakan senyawa lipofilik dengan karakteristik nonpolar, variasi komposisi NADES berpotensi menghasilkan perbedaan afinitas terhadap senyawa target.



Gambar 1 Struktur ikatan hidrogen antara HBA dan HBD

2.4 Ekstraksi β -Karoten menggunakan NADES

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu senyawa target dari matriks asalnya menggunakan pelarut yang memiliki afinitas terhadap senyawa tersebut. Dalam penelitian ini, ekstraksi β -karoten dari *Crude Palm Oil* (CPO) dilakukan menggunakan sistem ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*) yang memanfaatkan perbedaan kelarutan dan afinitas β -karoten terhadap fase minyak dan fase pelarut. Prinsip dasar ekstraksi cair-cair adalah distribusi senyawa target di antara dua fase yang tidak saling bercampur hingga mencapai kondisi kesetimbangan. Perpindahan senyawa akan berlangsung dari fase dengan konsentrasi lebih tinggi menuju fase dengan afinitas yang lebih besar terhadap senyawa tersebut. Dalam sistem ekstraksi β -karoten dari CPO, senyawa target

awalnya berada dalam fase minyak bersama trigliserida dan komponen minor lainnya. Ketika pelarut ditambahkan dan terjadi kontak antar fase, β -karoten akan terdifusi menuju fase pelarut apabila interaksi antara β -karoten dan pelarut lebih kuat dibandingkan interaksinya dengan matriks minyak. Besarnya perpindahan β -karoten dipengaruhi oleh kesesuaian sifat fisikokimia antara pelarut dan senyawa target, terutama polaritas, kemampuan pelarutan, dan interaksi intermolekuler yang terbentuk selama proses ekstraksi (S. M. M. Mortazavian *et al.* 2014). Penggunaan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) sebagai pelarut ekstraksi menawarkan pendekatan yang berbeda dibandingkan pelarut organik konvensional. Berbeda dengan pelarut tunggal, NADES merupakan sistem pelarut yang sifat fisikokimianya dapat dirancang melalui pemilihan komponen penyusun dan rasio molarnya (Dai *et al.* 2013).

Fleksibilitas tersebut memungkinkan terbentuknya lingkungan pelarut yang lebih sesuai dengan karakteristik senyawa target sehingga berpotensi meningkatkan efisiensi ekstraksi. Dalam ekstraksi β -karoten yang bersifat lipofilik, kemampuan NADES untuk berinteraksi dengan senyawa nonpolar menjadi faktor penting yang menentukan keberhasilan proses pemisahan. Salah satu faktor yang mempengaruhi performa ekstraksi menggunakan NADES adalah jenis komponen penyusun yang digunakan sebagai *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD). Kombinasi HBA dan HBD yang berbeda dapat menghasilkan karakteristik pelarut yang berbeda pula, termasuk polaritas, viskositas, dan kemampuan membentuk interaksi dengan senyawa target. Perbedaan karakteristik tersebut menyebabkan afinitas pelarut terhadap β -karoten juga dapat berbeda. Selain jenis komponen penyusun, rasio molar antara HBA dan HBD juga berpengaruh terhadap karakteristik fisikokimia NADES yang terbentuk. Perubahan rasio molar dapat mengubah kekuatan interaksi ikatan hidrogen, polaritas, maupun viskositas sistem pelarut. Akibatnya, kemampuan pelarut dalam melarutkan dan mengekstraksi β -karoten dapat mengalami perubahan.

Koh *et al.* (2024) menunjukkan bahwa rasio molar tertentu mampu menghasilkan kondisi yang lebih optimal untuk ekstraksi karena memberikan keseimbangan antara kemampuan pelarutan dan mobilitas molekul selama proses perpindahan massa. Faktor lain yang turut menentukan keberhasilan ekstraksi adalah waktu ekstraksi. Proses perpindahan β -karoten dari fase minyak menuju fase pelarut memerlukan waktu untuk mencapai kondisi kesetimbangan. Seiring bertambahnya waktu, laju perpindahan massa akan menurun hingga mendekati kondisi kesetimbangan. Namun, waktu ekstraksi yang terlalu lama tidak selalu menghasilkan peningkatan jumlah β -karoten yang terekstraksi. Senyawa β -karoten merupakan senyawa yang bersifat nonpolar dan relatif sensitif terhadap degradasi, keberhasilan ekstraksi tidak hanya ditentukan oleh satu faktor tunggal, melainkan oleh kombinasi karakteristik pelarut dan kondisi operasi yang digunakan.

2.5 Analisis β -Karoten dan Aktivitas Antioksidan

Karakterisasi hasil ekstraksi β -karoten diperlukan untuk mengevaluasi keberhasilan proses ekstraksi serta potensi fungsional ekstrak yang diperoleh. Dalam penelitian ini, analisis dilakukan melalui pengukuran konsentrasi β -karoten menggunakan spektrofotometri UV-Vis, identifikasi senyawa menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), serta pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Kombinasi ketiga metode tersebut

memberikan informasi mengenai kadar, keberadaan, dan aktivitas biologis ekstrak hasil ekstraksi. Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk analisis β -karoten karena sederhana, cepat, dan memiliki sensitivitas yang baik. Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan molekul β -karoten dalam menyerap energi cahaya pada daerah ultraviolet dan cahaya tampak akibat keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada strukturnya. Ketika cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan melalui larutan sampel, sebagian energi akan diserap oleh molekul β -karoten sehingga menghasilkan nilai absorbansi yang sebanding dengan konsentrasinya sesuai hukum Lambert-Beer. β -Karoten diketahui memiliki serapan maksimum pada daerah sekitar 450 nm sehingga panjang gelombang tersebut banyak digunakan untuk analisis kuantitatif kadar β -karoten dalam berbagai matriks pangan dan minyak nabati (Nwosu *et al.* 2011).

Meskipun spektrofotometri UV-Vis mampu memberikan informasi mengenai konsentrasi β -karoten, metode ini memiliki keterbatasan dalam membedakan β -karoten dari senyawa lain yang memiliki karakteristik serapan serupa. Oleh karena itu, identifikasi senyawa dilakukan menggunakan HPLC. HPLC merupakan teknik pemisahan yang memanfaatkan perbedaan interaksi senyawa dengan fase diam dan fase gerak sehingga memungkinkan pemisahan komponen dalam campuran yang kompleks (Saini dan Keum 2018). Identifikasi β -karoten dilakukan berdasarkan waktu retensi (*retention time*) dan profil kromatogram yang dibandingkan dengan standar β -karoten. Metode ini memiliki selektivitas dan sensitivitas yang tinggi sehingga banyak digunakan untuk analisis karotenoid dalam minyak sawit dan bahan pangan lainnya. Selain analisis kadar dan identifikasi senyawa, karakterisasi ekstrak juga dilakukan melalui pengujian aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak dalam meredam radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada sistem biologis. Salah satu metode yang umum digunakan adalah metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), yaitu metode berbasis radikal bebas stabil yang memiliki warna ungu dan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Ketika senyawa antioksidan bereaksi dengan radikal DPPH, terjadi proses transfer elektron atau atom hidrogen yang menyebabkan radikal DPPH tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. Reaksi tersebut ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat serta penurunan nilai absorbansi yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Kedare dan Singh 2011). Dalam penelitian ini, pengujian DPPH digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak hasil ekstraksi β -karoten. Aktivitas antioksidan yang diperoleh mencerminkan kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas dan dapat dipengaruhi oleh kandungan β -karoten maupun senyawa antioksidan lain yang masih terdapat dalam ekstrak. Kombinasi analisis UV-Vis, HPLC, dan DPPH diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai kualitas ekstrak yang dihasilkan, baik dari aspek kadar β -karoten, identitas senyawa, maupun potensi aktivitas biologisnya

2.6 Evaluasi Hasil Ekstraksi β -Karoten

Keberhasilan proses ekstraksi β -karoten tidak hanya ditentukan oleh kadar β -karoten yang diperoleh, tetapi juga oleh efisiensi proses pemisahan serta tingkat kemurnian ekstrak yang dihasilkan. Oleh karena itu, evaluasi hasil ekstraksi

dilakukan melalui dua parameter utama, yaitu *recovery* β -karoten dan bilangan penyabunan. *Recovery* digunakan untuk menggambarkan jumlah β -karoten yang berhasil diperoleh kembali setelah proses ekstraksi, sedangkan bilangan penyabunan digunakan untuk mengevaluasi keberadaan komponen tersabunkan yang masih terdapat dalam ekstrak.

2.6.1 *Recovery* β -karoten

Recovery merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi efisiensi suatu proses ekstraksi berdasarkan jumlah senyawa target yang berhasil diperoleh kembali setelah melalui seluruh tahapan pemisahan. Dalam proses ekstraksi β -karoten, *recovery* menggambarkan persentase massa β -karoten yang berhasil diperoleh pada ekstrak akhir dibandingkan dengan jumlah β -karoten awal yang terkandung dalam bahan baku. Berbeda dengan kadar β -karoten yang hanya menunjukkan konsentrasi senyawa dalam suatu sampel, *recovery* memberikan informasi mengenai keberhasilan keseluruhan proses ekstraksi, mulai dari tahap ekstraksi, pemisahan, hingga pemulihan ekstrak. Nilai *recovery* dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain karakteristik pelarut, afinitas pelarut terhadap senyawa target, kesetimbangan distribusi selama ekstraksi, serta efisiensi pada setiap tahapan proses. Dalam sistem ekstraksi cair-cair, perpindahan β -karoten dari fase minyak menuju fase pelarut berlangsung hingga mencapai kesetimbangan distribusi. Oleh karena itu, tidak seluruh β -karoten dapat berpindah ke fase ekstrak dalam satu kali proses. Selain itu, kehilangan senyawa target dapat terjadi selama proses pemisahan fase, *re-extraction*, perpindahan antarwadah, maupun proses evaporasi sehingga nilai *recovery* yang diperoleh umumnya lebih rendah dari 100% (Wijaya *et al.* 2018). Penelitian yang menggunakan ekstraksi berbasis ini *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES), *recovery* juga dipengaruhi oleh karakteristik fisikokimia pelarut, seperti polaritas, viskositas, dan kekuatan interaksi antara *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD). Karakteristik tersebut menentukan afinitas NADES terhadap β -karoten serta memengaruhi laju perpindahan massa selama proses ekstraksi.

2.6.2 Bilangan Penyabunan

Bilangan penyabunan (*saponification value*) merupakan jumlah miligram kalium hidroksida (KOH) yang diperlukan untuk menyabunkan satu gram sampel minyak atau lemak. Parameter ini digunakan untuk menggambarkan jumlah senyawa tersabunkan, terutama trigliserida, yang terdapat dalam suatu sampel. Semakin tinggi nilai bilangan penyabunan, semakin besar jumlah gugus ester yang dapat bereaksi dengan KOH, sedangkan nilai bilangan penyabunan yang rendah menunjukkan bahwa kandungan trigliserida dalam sampel semakin sedikit (AOAC 2005). Prinsip pengujian bilangan penyabunan dilakukan melalui reaksi penyabunan antara trigliserida dan larutan KOH beralkohol berlebih sehingga menghasilkan gliserol dan garam asam lemak (sabun). Setelah reaksi selesai, sisa KOH yang tidak bereaksi ditentukan menggunakan titrasi balik dengan larutan asam standar. Selisih jumlah KOH sebelum dan sesudah reaksi digunakan untuk menghitung bilangan penyabunan sampel. Nilai yang diperoleh mencerminkan jumlah komponen tersabunkan yang masih terdapat dalam sampel (Ketaren 2012).

Dalam proses ekstraksi β -karoten, analisis bilangan penyabunan digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengevaluasi kemurnian ekstrak yang

dihasilkan. Ekstrak yang memiliki bilangan penyabunan rendah menunjukkan bahwa sebagian besar trigliserida telah berhasil dipisahkan selama proses ekstraksi dan *re-extraction*, sehingga ekstrak didominasi oleh fraksi tak tersabunkan (*unsaponifiable matter*). Fraksi tersebut meliputi karotenoid, tokoferol, tokotrienol, sterol, dan senyawa lipofilik lainnya yang secara alami terdapat dalam minyak sawit. Oleh karena itu, analisis bilangan penyabunan dapat digunakan sebagai indikator tidak langsung untuk menilai keberhasilan proses pemisahan trigliserida dari ekstrak β -karoten.

III METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Proyek ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Juni 2026. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium DIT 1 dan 2, Laboratorium Pengawasan Mutu, dan Ruang Instrumen yang berada di bawah naungan Departemen Teknik Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University. Bahan baku CPO untuk penelitian diperoleh dari PKS Mini IPB Jonggol Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas ukur berkapasitas 100, 250, dan 500 mL, erlenmeyer 500 mL, gelas piala berkapasitas 500 dan 1000 mL, batang pengaduk kaca, sudip, termometer, pH meter, viskometer, timbangan analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, dan *water bath*. Bahan yang digunakan meliputi *menthol* ($C_{10}H_{20}O$), *camphor* ($C_{10}H_{16}O$), *Betaine HCl* ($C_5H_{12}ClNO_2$), *cineol*, gliserin ($C_3H_8O_3$), asam laktat ($C_3H_6O_3$), asam asetat (CH_3COOH), asam propionat (CH_3CH_2COOH), asam butirat ($C_4H_8O_2$), asam format ($HCOOH$), asam sitrat, asam oksalat, glukosa, fruktosa, xilosa, *xylitol*, alkohol 96%, dan akuades yang digunakan sebagai bahan penyusun *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) serta bahan pendukung selama penelitian. Selanjutnya bahan tambahan lain untuk uji antioksidan antara lain reagen DPPH dan metanol PA.

3.3 Tahapan Desain Keteknikan

Proyek ini dilaksanakan menggunakan metode desain keteknikan sebagai pendekatan sistematis untuk merancang solusi dalam desain proses yang disesuaikan dengan kebutuhan kepentingan mitra. Tahapan desain keteknikan terdiri atas lima tahapan utama, yakni eksplorasi kebutuhan (*exploration*), pendefinisian masalah (*define*), ideasi (*ideate*), pengembangan prototipe (*prototype*), serta validasi solusi (*validate*), sebagaimana digambarkan secara konseptual dalam Gambar 2.

3.3.1 Fase Eksplorasi

Fase eksplorasi dilakukan melalui studi literatur secara komprehensif terkait karakteristik β -karoten, kandungan karotenoid dalam CPO, prinsip ekstraksi cair-cair, serta perkembangan penggunaan NADES sebagai pelarut alternatif untuk ekstraksi senyawa bioaktif. Selain itu, dilakukan kajian terhadap berbagai komponen penyusun NADES yang berpotensi digunakan sebagai *hydrogen bond acceptor* (HBA) maupun *hydrogen bond donor* (HBD), baik yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik. Tahap ini juga mencakup identifikasi faktor-faktor yang dilaporkan mempengaruhi performa ekstraksi, seperti jenis komponen penyusun, rasio molar HBA-HBD, dan waktu ekstraksi. Hasil eksplorasi digunakan sebagai dasar dalam menentukan pendekatan penelitian dan alternatif formulasi NADES yang akan dikembangkan.

3.3.2 Fase Pendefinisian Masalah

Tahap pendefinisian masalah bertujuan untuk merumuskan permasalahan utama yang akan diselesaikan melalui penelitian. Berdasarkan hasil studi literatur, diketahui bahwa β -karoten merupakan senyawa bernilai tinggi yang terkandung dalam CPO, namun efisiensi ekstraksinya sangat dipengaruhi oleh karakteristik pelarut yang digunakan. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa NADES memiliki potensi sebagai pelarut alternatif yang dapat dirancang sesuai dengan sifat senyawa target, namun pengaruh kombinasi komponen penyusun dan kondisi operasi terhadap distribusi β -karoten masih perlu dikaji lebih lanjut. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada evaluasi pengaruh jenis komponen penyusun NADES, rasio molar HBA-HBD, dan waktu ekstraksi terhadap kemampuan sistem dalam mengekstraksi β -karoten dari CPO.

3.3.3 Fase Ideasi

Tahap ideasi merupakan proses perancangan alternatif solusi yang dapat digunakan untuk menjawab permasalahan yang telah diidentifikasi. Pada tahap ini dilakukan penyusunan berbagai formulasi NADES berdasarkan kombinasi komponen penyusun yang telah dipilih dari hasil studi literatur. Formulasi yang dirancang terdiri atas beberapa kombinasi HBA dan HBD dengan karakteristik fisikokimia yang berbeda untuk memperoleh variasi sifat pelarut. Selain itu, ditentukan pula variasi rasio molar dan waktu ekstraksi yang akan digunakan dalam proses pengujian. Seluruh alternatif formulasi kemudian diseleksi untuk ditetapkan sebagai rancangan percobaan pada tahap berikutnya.

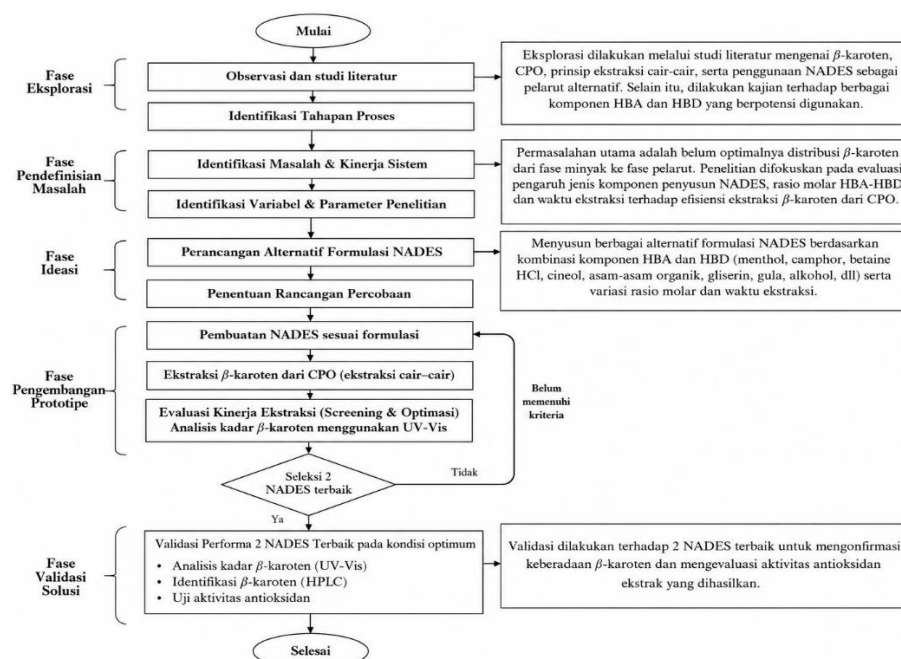
3.3.4 Fase Pengembangan Prototipe

Tahap pengembangan prototipe dilakukan dengan membuat formulasi NADES sesuai rancangan yang telah ditetapkan pada tahap ideasi. NADES yang terbentuk kemudian digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi β -karoten dari CPO menggunakan sistem ekstraksi cair-cair. Setiap formulasi dievaluasi berdasarkan kemampuan ekstraksinya melalui pengukuran kadar β -karoten menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Tahap ini bertujuan untuk memperoleh data performa masing-masing formulasi sehingga dapat dilakukan proses *screening* dan pemilihan formulasi yang memberikan hasil ekstraksi terbaik. Selain itu, pengaruh rasio molar dan waktu ekstraksi terhadap efisiensi ekstraksi juga dianalisis untuk menentukan kondisi operasi yang paling sesuai.

3.3.5 Fase Validasi

Tahap validasi dilakukan terhadap dua formulasi NADES terbaik yang diperoleh dari hasil tahap pengembangan prototipe. Kedua formulasi tersebut digunakan kembali pada kondisi ekstraksi optimum yang telah ditentukan untuk memastikan konsistensi performa ekstraksi yang dihasilkan. Ekstrak yang diperoleh kemudian dikarakterisasi lebih lanjut menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk mengonfirmasi keberadaan β -karoten serta dianalisis aktivitas antioksidannya untuk mengevaluasi kualitas fungsional ekstrak. Keberhasilan tahap validasi ditentukan berdasarkan kemampuan formulasi NADES terpilih dalam menghasilkan ekstrak dengan kandungan β -karoten yang tinggi serta aktivitas

antioksidan yang baik, sehingga dapat menunjukkan potensi penggunaan NADES sebagai sistem pelarut alternatif untuk ekstraksi β -karoten dari CPO.



Gambar 2 Tahapan desain keteknikan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan NADES

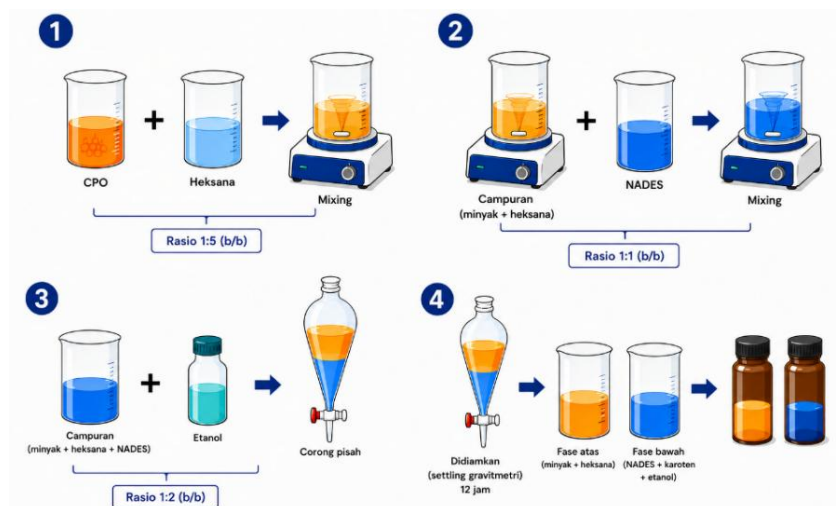
Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) dibuat dengan mencampurkan komponen *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD) sesuai dengan formulasi dan rasio molar yang telah ditentukan pada rancangan percobaan. Komponen penyusun ditimbang menggunakan timbangan analitik sesuai kebutuhan, kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala dan diaduk menggunakan magnetic stirrer. Campuran dipanaskan pada suhu 70-90 °C sambil diaduk hingga seluruh komponen larut dan membentuk fase cair yang homogen. Proses pemanasan dan pengadukan dilakukan untuk mempercepat pembentukan interaksi ikatan hidrogen antara HBA dan HBD sehingga terbentuk sistem eutektik yang stabil. Setelah diperoleh larutan homogen tanpa adanya endapan atau pemisahan fase, campuran didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Selanjutnya, NADES yang telah terbentuk didiamkan (*aging*) selama 24 jam pada suhu ruang untuk memastikan kestabilan sistem pelarut yang dihasilkan. Setelah proses *aging* selesai, dilakukan pengamatan secara visual terhadap homogenitas, kejernihan, dan keberadaan kristal atau pemisahan fase. NADES yang menunjukkan kondisi homogen dan stabil digunakan sebagai pelarut pada tahap ekstraksi β -karoten dari *Crude Palm Oil* (CPO). Tahapan pembuatan NADES secara skematis disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3 Tahapan pembuatan NADES

3.4.2 Ekstraksi β -Karoten dari CPO menggunakan NADES

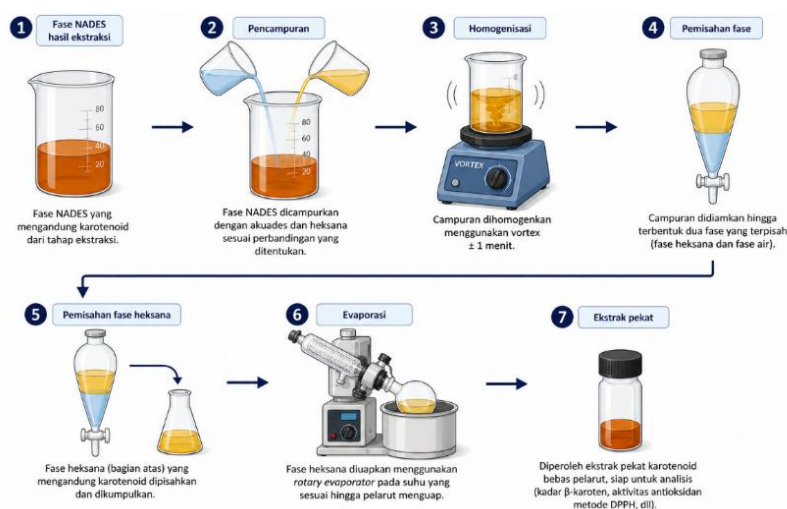
Proses ekstraksi β -karoten dilakukan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan sistem pelarut heksana dan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). Tahap awal dilakukan dengan mencampurkan *Crude Palm Oil* (CPO) dan heksana pada rasio 1:5 (b/b). Campuran kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* hingga diperoleh larutan yang seragam. Penambahan heksana bertujuan untuk melarutkan komponen minyak dan meningkatkan mobilitas β -karoten dalam sistem ekstraksi. Larutan CPO-heksana selanjutnya dicampurkan dengan NADES pada rasio 1:1 (b/b). Campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama waktu ekstraksi sesuai perlakuan yang telah ditentukan dalam rancangan percobaan. Selama proses pengadukan berlangsung, β -karoten akan terdistribusi antara fase heksana yang mengandung CPO dan fase NADES sesuai afinitasnya terhadap masing-masing pelarut. Setelah proses ekstraksi selesai, campuran NADES dan fase CPO-heksana ditambahkan etanol dengan perbandingan campuran NADES:etanol sebesar 1:2 (b/b) (Manurung *et al.* 2025). Penambahan etanol dilakukan untuk membantu proses pemisahan fase dan meningkatkan kejelasan batas antarfasa selama proses pengendapan. Campuran kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan didiamkan selama 12 jam pada suhu ruang hingga terbentuk dua fase yang terpisah secara sempurna. Setelah proses *settling* selesai, fase atas dan fase bawah dipisahkan secara hati-hati dan ditampung pada wadah yang berbeda. Masing-masing fase selanjutnya disimpan dalam tempat tertutup dan terlindungi dari cahaya matahari dengan suhu ruang, sebelum dilakukan analisis kadar β -karoten menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan analisis lanjutan lainnya. Tahapan ekstraksi β -karoten dari CPO menggunakan NADES secara skematis disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4 Tahapan ekstraksi CPO dengan NADES

3.4.3 *Re-extraction* β -Karoten dari CPO menggunakan Heksana dan Air

Fase NADES hasil ekstraksi yang mengandung karotenoid selanjutnya dilakukan proses *re-extraction* untuk memisahkan β -karoten dari matriks NADES. Proses ini dilakukan dengan menambahkan akuades dan heksana ke dalam fase NADES sesuai perbandingan yang telah ditentukan. Campuran kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 60 menit hingga terbentuk sistem yang homogen (Manurung *et al.* 2025). Setelah proses homogenisasi, campuran didiamkan hingga terbentuk dua fase yang terpisah, yaitu fase heksana pada bagian atas dan fase air/NADES pada bagian bawah. Fase heksana yang mengandung karotenoid kemudian dipisahkan menggunakan corong pisah dan dikumpulkan dalam wadah terpisah. Fase heksana selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu yang disesuaikan dengan titik didih pelarut hingga seluruh heksana terpisah dari sistem. Proses evaporasi menghasilkan ekstrak pekat karotenoid yang selanjutnya digunakan untuk analisis lanjutan, meliputi penentuan kadar β -karoten menggunakan HPLC dan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

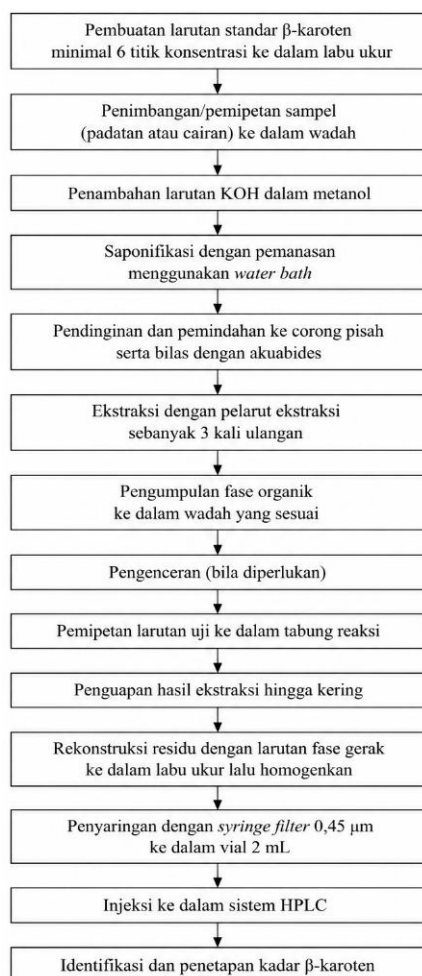
Gambar 5 Tahapan *re-extraction* CPO dengan heksana dan air

3.4.4 Analisis Kadar β -Karoten menggunakan UV-Vis

Analisis kadar β -karoten dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis berdasarkan kemampuan β -karoten dalam menyerap cahaya pada daerah panjang gelombang tampak. Pengukuran dilakukan untuk menentukan konsentrasi β -karoten hasil ekstraksi sehingga dapat digunakan sebagai parameter dalam mengevaluasi efektivitas masing-masing formulasi NADES. Sebelum pengukuran sampel, terlebih dahulu dibuat kurva standar β -karoten menggunakan larutan standar dengan beberapa variasi konsentrasi. Larutan standar kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum β -karoten. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menyusun persamaan regresi linear antara konsentrasi dan absorbansi sebagai dasar perhitungan kadar β -karoten pada sampel. Sampel hasil ekstraksi yang berada pada fase NADES selanjutnya dipersiapkan sesuai kebutuhan analisis dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tertentu. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dikonversi menjadi konsentrasi β -karoten menggunakan persamaan kurva standar yang telah dibuat sebelumnya. Kadar β -karoten yang diperoleh digunakan sebagai parameter utama dalam mengevaluasi pengaruh jenis komponen penyusun NADES, rasio molar HBA-HBD, dan waktu ekstraksi terhadap performa sistem ekstraksi (Saini dan Keum 2018).

3.4.5 Identifikasi β -Karoten menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Identifikasi dan penetapan kadar β -karoten dilakukan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) di Laboratorium PT. Saraswanti Indo Genetech. Analisis dilakukan mengacu pada AOAC 938.04 (*Carotenoids in Macaroni Products*). Tahapan analisis meliputi pembuatan larutan standar β -karoten, preparasi sampel melalui proses saponifikasi dan ekstraksi, pemekatan ekstrak, rekonstruksi residu menggunakan fase gerak, penyaringan sampel, hingga analisis menggunakan instrumen HPLC-PDA. Diagram alir identifikasi β -karoten menggunakan HPLC disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6 Diagram alir identifikasi β -karoten menggunakan HPLC

3.4.6 Pengujian Bilangan Penyabunan

Pengujian bilangan penyabunan dilakukan untuk mengevaluasi keberadaan komponen tersabunkan (*saponifiable matter*), terutama trigliserida, yang masih terdapat pada ekstrak hasil evaporasi. Metode yang digunakan mengacu pada AOAC Official Method 920.160 dan ISO 3657 dengan prinsip titrasi balik (*back titration*). Dalam metode ini, sampel direaksikan dengan larutan KOH alkoholik berlebih di bawah kondisi refluks sehingga komponen trigliserida mengalami reaksi saponifikasi membentuk gliserol dan garam kalium asam lemak (sabun). KOH yang tidak bereaksi kemudian ditentukan melalui titrasi menggunakan larutan HCl standar. Selisih volume HCl antara blanko dan sampel digunakan untuk menghitung bilangan penyabunan. Sebanyak $\pm 2,0$ g sampel ekstrak hasil evaporasi ditimbang ke dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan 25,0 mL larutan KOH alkoholik 0,5 M. Campuran direfluks selama 60 menit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah itu ditambahkan 2-3 tetes indikator fenoltalein (PP) dan dilakukan titrasi menggunakan larutan HCl 0,5 M hingga warna merah muda tepat hilang. Volume HCl yang digunakan dicatat sebagai volume sampel (V_s). Sebagai pembanding, dilakukan pengujian terhadap CPO awal sebagai kontrol positif dan blanko yang berisi KOH alkoholik tanpa penambahan sampel dengan prosedur yang sama. Volume HCl blanko dicatat sebagai V_b .

$$SV = \frac{56,1 \times M \times (V_b V_s)}{m}$$

Keterangan:

SV = bilangan penyabunan (mg KOH/g)

M = molaritas HCl (M)

V_b = volume HCl blanko (mL)

V_s = volume HCl sampel (mL)

m = massa sampel (g)

3.4.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak hasil ekstraksi β-karoten menggunakan NADES diuji dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk mereduksi radikal bebas DPPH yang ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat. Penurunan intensitas warna tersebut diukur sebagai penurunan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Larutan DPPH disiapkan dengan melarutkan DPPH dalam metanol hingga diperoleh konsentrasi yang sesuai. Selanjutnya, sejumlah larutan ekstrak hasil ekstraksi β-karoten dicampurkan dengan larutan DPPH pada perbandingan volume tertentu dan dihomogenkan menggunakan vortex. Campuran kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu ruang selama 30 menit untuk memberikan waktu yang cukup bagi reaksi antara antioksidan dan radikal DPPH berlangsung. Setelah proses inkubasi selesai, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai kontrol digunakan larutan DPPH tanpa penambahan sampel, sedangkan blanko disiapkan sesuai dengan komposisi pelarut yang digunakan (Manurung *et al.* 2025). Pengujian dilakukan sebanyak dua kali ulangan untuk setiap sampel. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persen inhibisi (% inhibisi) yang dihitung menggunakan Persamaan (X).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan:

% Inhibisi = persentase kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas DPPH

A kontrol = absorbansi larutan DPPH tanpa penambahan sampel

A sampel = absorbansi larutan DPPH setelah penambahan sampel

Semakin tinggi nilai persen inhibisi menunjukkan semakin besar kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas DPPH, sehingga mengindikasikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.

3.4.8 Perhitungan *Recovery Ekstrak* (Wijaya *et al.* 2018)

Recovery β-karoten dihitung untuk mengetahui persentase β-karoten yang berhasil diperoleh kembali pada ekstrak akhir setelah melalui tahapan ekstraksi, *re-extraction*, dan evaporasi. Perhitungan dilakukan dengan membandingkan massa β-karoten yang terkandung dalam ekstrak hasil evaporasi terhadap massa β-karoten awal yang terdapat dalam CPO. Kadar β-karoten pada CPO maupun

ekstrak ditentukan menggunakan analisis HPLC. Massa β -karoten dihitung dengan mengalikan kadar β -karoten hasil HPLC (mg/kg) dengan massa sampel (kg). Selanjutnya, nilai *recovery* dihitung menggunakan persamaan yang dimodifikasi dari Wijaya *et al.* (2018).

Persamaan massa β -karoten

$$m_{\beta\text{-karoten}} = C_{\beta\text{-karoten}} \times m_{\text{sampel}}$$

Keterangan:

- $m_{\beta\text{-karoten}}$ = massa β -karoten (mg)
- $C_{\beta\text{-karoten}}$ = kadar β -karoten hasil HPLC (mg/kg)
- m_{sampel} = massa sampel (kg)

Persamaan *recovery*

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{m_{\beta\text{-karoten ekstrak}}}{m_{\beta\text{-karoten awal}}} \times 100$$

Keterangan:

- $m_{\beta\text{-karoten ekstrak}}$ = massa β -karoten pada ekstrak hasil evaporasi (mg)
- $m_{\beta\text{-karoten awal}}$ = massa β -karoten awal pada CPO (mg)

3.5 Karakterisasi CPO

3.5.1 Kadar Air

Kadar air ditentukan berdasarkan metode pengeringan (*oven drying method*) sesuai SNI 2901:2021. Sampel CPO ditimbang dalam cawan yang telah diketahui bobotnya, kemudian dipanaskan pada suhu tertentu hingga mencapai bobot konstan. Selisih massa sebelum dan sesudah pengeringan digunakan untuk menghitung kadar air dalam sampel.

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Berat awal (g)} - \text{Berat akhir (g)}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100\%$$

3.5.2 Kadar Asam Lemak Bebas

Kadar asam lemak bebas dianalisis sesuai SNI 2901:2021 menggunakan metode titrasi alkalimetri dengan larutan natrium hidroksida (NaOH) standar. Sampel ditimbang sebanyak ± 5 gram dalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan isopropanol alkohol netral (IPA) sebanyak 50 mL dan dipanaskan hingga mulai mendidih kemudian ditambahkan 3-4 tetes indikator PP. Titrasi dilakukan dengan NaOH 0,1N hingga titik akhir titrasi berwarna merah bata dan dicatat volume penitiran yang didapatkan.

$$\text{Asam Lemak Bebas (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times 25,6}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100\%$$

3.5.3 Bilangan Yodium

Sebanyak 0,25 g sampel CPO ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan menggunakan 10 mL kloroform. Selanjutnya ditambahkan 25 mL pereaksi Hanus dan campuran dibiarkan bereaksi selama 30 menit dalam kondisi gelap sambil sesekali dikocok. Setelah waktu reaksi selesai, ditambahkan 10 mL larutan kalium iodida (KI) 15% dan campuran dikocok

hingga homogen. Sebanyak 100 mL akuades yang telah dididihkan dan didinginkan kemudian ditambahkan ke dalam campuran. Iodium bebas yang tersisa dititrasi menggunakan larutan natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 N hingga larutan berwarna kuning pucat. Selanjutnya ditambahkan beberapa tetes indikator pati 1%, kemudian titrasi dilanjutkan hingga warna biru tepat menghilang. Blanko dibuat menggunakan prosedur yang sama dengan SNI 2901:2021 tanpa penambahan sampel.

$$\text{Bilangan Yodium} = \frac{(a - b) \times N \times 12,69}{G}$$

Keterangan:

a = volume larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ untuk blanko (mL)

b = volume larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ untuk sampel (mL)

N = normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

G = berat sampel (g)

3.5.4 Deterioration of Bleachability Index (DOBI)

Sebanyak $\pm 0,1500$ g sampel CPO ditimbang menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Sampel kemudian dilarutkan menggunakan iso-oktan hingga mencapai tanda batas dan dihomogenkan hingga larutan tercampur sempurna. Larutan sampel selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet untuk dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai blanko digunakan iso-oktan murni yang ditempatkan pada kuvet terpisah. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 269 nm dan 446 nm. Sebelum pengukuran sampel, instrumen dikalibrasi menggunakan larutan blanko. Setiap sampel dianalisis sebanyak dua hingga tiga kali ulangan untuk memastikan ketelitian dan konsistensi hasil pengukuran. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung nilai DOBI sesuai SNI 2901:2021 menggunakan persamaan:

$$\text{DOBI} = \frac{A_{446}}{A_{269}}$$

Keterangan:

A_{446} = absorbansi pada panjang gelombang 446 nm

A_{269} = absorbansi pada panjang gelombang 269 nm

Absorbansi pada panjang gelombang 446 nm merepresentasikan kandungan karotenoid yang terdapat dalam CPO, sedangkan absorbansi pada panjang gelombang 269 nm menunjukkan keberadaan senyawa hasil oksidasi, seperti peroksida dan aldehida.

3.5.5 Kadar Total Karotenoid (Nokkaew *et al.* 2019)

Analisis kadar total karotenoid dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang diadaptasi dari Nokkaew *et al.* (2019). Pengukuran kadar total karotenoid dilakukan untuk mengetahui kandungan awal senyawa karotenoid dalam CPO yang digunakan sebagai bahan baku ekstraksi. Sebanyak 0,1 g sampel CPO ditimbang menggunakan neraca analitik, kemudian dilarutkan dalam 25 mL heksana hingga homogen. Larutan sampel selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet kuarsa dengan panjang lintasan optik 1 cm. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 446 nm dengan heksana sebagai larutan blanko.

$$\text{Karotenoid (ppm)} = \frac{A_{446} \times V \times 100}{383 \times W}$$

Keterangan:

A_{446} = absorbansi sampel pada panjang gelombang 446 nm

V = volume heksana yang digunakan (mL)

W = berat sampel CPO (g)

383 = koefisien ekstingsi spesifik karotenoid dalam heksana



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik *Crude Palm Oil* (CPO)

Karakterisasi awal *Crude Palm Oil* (CPO) dilakukan untuk mengetahui mutu bahan baku yang digunakan dalam penelitian ekstraksi β -karoten menggunakan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). Parameter yang dianalisis meliputi karakteristik organoleptik, kadar air dan kotoran, asam lemak bebas (ALB), bilangan yodium, *Deterioration of Bleachability Index* (DOBI), serta kadar total karotenoid. Analisis kadar air dan kotoran, asam lemak bebas, bilangan yodium, serta DOBI mengacu pada SNI 2901:2021 tentang Minyak Sawit Mentah (*Crude Palm Oil*). Analisis kadar total karotenoid diadaptasi melalui Nokkaew *et al.* (2019). Karakterisasi ini bertujuan untuk mengevaluasi kesesuaian mutu CPO sebagai bahan baku penelitian serta memberikan gambaran mengenai kondisi awal minyak sebelum proses ekstraksi β -karoten dilakukan. Hasil karakterisasi CPO disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil karakterisasi CPO

No	Kriteria Uji	Satuan	Hasil Uji
1	Keadaan		
1.1	Warna	-	jingga kemerah-merahan
1.2	Bau	-	normal
2	Kadar air dan kotoran	fraksi massa, %	$0,249 \pm 0,012$
3	Asam lemak bebas (sebagai asam palmitat)	fraksi massa, %	$2,851 \pm 0,337$
4	Bilangan yodium	g Yodium/100 g	50
5	<i>Deterioration of Bleachability Index</i> (DOBI)	-	$4,145 \pm 0,166$
6	Kadar total karotenoid	Ppm	451,982

Berdasarkan hasil pengamatan organoleptik, CPO yang digunakan memiliki warna jingga kemerah-merahan dan bau normal. Warna jingga kemerah-merahan merupakan karakteristik khas minyak sawit mentah yang disebabkan oleh tingginya kandungan pigmen karotenoid, terutama α -karoten dan β -karoten. Keberadaan pigmen tersebut menunjukkan bahwa CPO masih mengandung senyawa minor yang berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber β -karoten dalam penelitian ini. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar air dan kotoran CPO sebesar $0,249 \pm 0,012\%$. Nilai tersebut masih memenuhi persyaratan mutu CPO berdasarkan SNI 2901:2021 yang menetapkan batas maksimum kadar air dan kotoran sebesar $0,50\%$. Kandungan air yang rendah juga penting untuk meminimalkan terjadinya reaksi hidrolisis trigliserida yang dapat meningkatkan pembentukan asam lemak bebas serta mempercepat degradasi senyawa karotenoid.

Kadar asam lemak bebas yang diperoleh sebesar $2,851 \pm 0,337\%$ sebagai asam palmitat. Nilai tersebut masih berada di bawah batas maksimum SNI

2901:2021 yaitu sebesar 5,0%, sehingga menunjukkan bahwa CPO masih memenuhi standar mutu yang dipersyaratkan. Asam lemak bebas terbentuk akibat hidrolisis trigliserida selama proses panen, pengangkutan, maupun penyimpanan. Semakin tinggi kadar asam lemak bebas, semakin rendah kualitas minyak yang dihasilkan (Nizam *et al.* 2020). Bilangan yodium yang diperoleh sebesar 50 g I₂/100 g minyak. Nilai ini berada dalam rentang standar CPO menurut SNI 2901:2021, yaitu 50-55 g I₂/100 g minyak. Nilai yang diperoleh menunjukkan bahwa komposisi asam lemak tidak jenuh dalam CPO masih berada pada karakteristik normal minyak sawit mentah. Keberadaan ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh berkontribusi terhadap sifat kimia minyak, namun juga dapat meningkatkan kerentanan terhadap reaksi oksidasi. Nilai *Deterioration of Bleachability Index* (DOBI) yang diperoleh sebesar $4,145 \pm 0,166$. Menurut klasifikasi mutu CPO yang umum digunakan dalam industri minyak sawit, nilai DOBI di atas 3 menunjukkan kualitas CPO yang baik hingga premium, sedangkan nilai di bawah 2,3 menunjukkan kualitas rendah (Wunwisa *et al.* 2019). Nilai DOBI sebesar 4,145 menunjukkan bahwa CPO yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas yang sangat baik dan masih mempertahankan kandungan karotenoid yang tinggi dengan tingkat oksidasi yang relatif rendah. Nilai tersebut juga mengindikasikan bahwa minyak masih memiliki stabilitas yang baik serta berpotensi menghasilkan proses pemucatan (*bleaching*) yang lebih efektif apabila digunakan dalam proses pengolahan lanjutan. Hasil ini sejalan dengan kadar total karotenoid yang diperoleh sebesar 451,892 ppm.

4.2 Seleksi Awal Formulasi NADES

4.2.1 Dasar Pemilihan Formulasi

Seleksi awal formulasi *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) pada iterasi pertama, dilakukan untuk mengidentifikasi kombinasi pelarut yang berpotensi digunakan dalam ekstraksi β -karoten dari *Crude Palm Oil* (CPO). Tahap ini merupakan proses *screening* awal yang bertujuan mengevaluasi karakteristik fisik NADES yang terbentuk serta kesesuaiannya untuk mengekstraksi senyawa karotenoid yang bersifat lipofilik. Pemilihan jenis NADES didasarkan pada beberapa penelitian terdahulu yang melaporkan penggunaan NADES dalam ekstraksi senyawa bioaktif, khususnya formulasi berbasis *Choline Chloride* (ChCl) dan *Menthol* sebagai *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA). Formulasi berbasis ChCl dipilih dengan mempertimbangkan penelitian Koh *et al.* (2024) dan Rizki *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa kombinasi ChCl dengan senyawa golongan gula, poliol, maupun asam organik mampu membentuk NADES yang stabil dan banyak digunakan sebagai pelarut hijau untuk ekstraksi senyawa bioaktif. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan kombinasi *ChCl:Glycerin*, *ChCl:Fructose*, dan *ChCl:Oxalic Acid* sebagai representasi NADES hidrofilik. Selain NADES hidrofilik, penelitian ini juga mengeksplorasi NADES hidrofobik berbasis *menthol*. Pemilihan formulasi *menthol* didasarkan pada karakter β -karoten yang bersifat nonpolar sehingga diperkirakan memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap pelarut hidrofobik. Kombinasi *menthol* dipilih berdasarkan penelitian Koh *et al.* (2024) yang melaporkan potensinya dalam ekstraksi senyawa lipofilik. Sementara itu, kombinasi *Menthol:Lauric Acid* dan *Menthol:Myristic Acid* diadaptasi dari penelitian Kulinowska *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa asam lemak rantai

sedang hingga panjang dapat membentuk *hydrophobic deep eutectic solvent* dengan karakteristik hidrofobik yang kuat. Penambahan variasi asam lemak dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh panjang rantai karbon terhadap karakteristik fisik NADES dan performanya dalam ekstraksi β -karoten dari CPO.

4.2.2 Karakteristik Fisik NADES

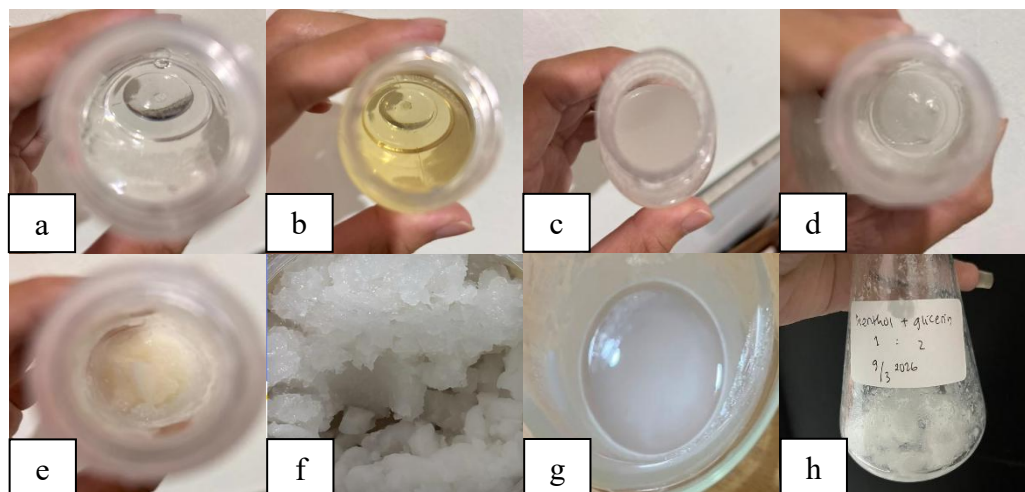
Berdasarkan Tabel 2, formulasi NADES berbasis *choline chloride* (ChCl) menunjukkan karakteristik yang berbeda bergantung pada jenis HBD yang digunakan. Formulasi CG menghasilkan larutan jernih, homogen, dan memiliki viskositas yang relatif tinggi sehingga tampak kental. Karakteristik serupa juga diamati pada CF yang menghasilkan larutan homogen dengan warna kuning pucat dan tekstur kental. Tingginya viskositas pada kedua formulasi tersebut diduga disebabkan oleh terbentuknya jaringan ikatan hidrogen yang kuat antara ChCl dengan gugus hidroksil yang banyak terdapat pada *glycerin* maupun *fructose*. Sebaliknya, formulasi CO menghasilkan campuran berwarna keruh dengan tekstur menyerupai gel dan tidak homogen. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa interaksi antar komponen menghasilkan sistem dengan mobilitas molekul yang rendah sehingga membentuk struktur semi padat yang kurang stabil untuk diaplikasikan sebagai pelarut ekstraksi.

Tabel 2 Hasil pengamatan karakteristik fisik NADES

No	NADES		Kode	Warna	Homogenitas	Kondisi
	HBA	HBD				
1	ChCl	<i>Glycerin</i>	CG	Jernih	Homogen	Kental
2	ChCl	<i>Fructose</i>	CF	Kuning pucat	Homogen	Kental
3	ChCl	<i>Oxalic Acid</i>	CO	Keruh	Tidak homogen	Gel
4	<i>Menthol</i>	<i>Camphor</i>	MC	Jernih	Homogen	Cair
5	<i>Menthol</i>	<i>Lauric Acid</i>	ML	Putih	Semi padat	Kristalisasi
6	<i>Menthol</i>	<i>Myristic Acid</i>	MA	Jernih	Homogen	Cair
7	<i>Menthol</i>	<i>Palmitic Acid</i>	MP	Putih	Tidak homogen	Padat
8	<i>Menthol</i>	<i>Glycerin</i>	MG	Putih	Tidak homogen	Padat

Kelompok NADES berbasis *menthol*, perbedaan karakteristik fisik juga diamati akibat variasi jenis HBD yang digunakan. Formulasi MC menghasilkan larutan jernih, homogen, dan tetap berada dalam fase cair setelah proses *aging*. Karakteristik ini menunjukkan bahwa kombinasi *menthol* dan *camphor* mampu membentuk sistem eutektik yang stabil pada suhu ruang. Formulasi MA juga menghasilkan campuran yang jernih, homogen, dan tetap cair setelah proses *aging*, menunjukkan bahwa asam lemak rantai sedang masih mampu berinteraksi dengan baik dengan *menthol* dalam membentuk NADES hidrofobik. Berbeda dengan MC dan MA, formulasi ML menunjukkan terjadinya kristalisasi sehingga menghasilkan

kondisi semi padat. Sementara itu, formulasi MP dan MG menghasilkan sistem yang tidak homogen dan cenderung membentuk fase padat setelah proses *aging*. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa kombinasi komponen yang digunakan belum mampu menghasilkan penurunan titik leleh yang cukup besar untuk mempertahankan fase cair pada suhu ruang. Terbentuknya kristal maupun fase padat mengindikasikan bahwa interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk belum cukup untuk menghasilkan sistem eutektik yang stabil. Secara umum, hasil pengamatan menunjukkan bahwa formulasi CG, CF, MC, dan MA berhasil membentuk sistem yang homogen dan tetap berada dalam fase cair setelah proses *aging*, sedangkan formulasi CO menghasilkan sistem menyerupai gel, ML mengalami kristalisasi, serta MP dan MG membentuk fase padat. Karakteristik fisik tersebut memberikan indikasi awal mengenai keberhasilan pembentukan NADES, namun belum dapat digunakan sebagai satu-satunya dasar dalam menentukan kesesuaian pelarut untuk ekstraksi β -karoten dari CPO. Selain stabilitas fisik, kemampuan NADES dalam membentuk sistem dua fase yang baik, memfasilitasi perpindahan massa, serta memiliki afinitas terhadap senyawa target juga menjadi faktor penting yang menentukan keberhasilan ekstraksi.



Gambar 7 Penampakan NADES (a) CG (b) CF (c) MC (d) CO (e) MA (f) MP (g) ML (h) MG

4.2.3 Hasil *Screening* Awal Ekstraksi

Berdasarkan hasil *screening* awal ekstraksi yang disajikan pada Tabel 3, terlihat bahwa karakteristik pelarut memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kemampuan NADES dalam mengekstraksi β -karoten dari CPO. Evaluasi dilakukan berdasarkan penampakan visual fase hasil ekstraksi, kemudahan pemisahan fase, serta indikasi perpindahan karotenoid yang ditunjukkan oleh perubahan warna pada fase ekstrak. Formulasi CG dan CF menunjukkan hasil ekstraksi yang kurang optimal. Kedua formulasi tersebut menunjukkan fase bawah yang terbentuk setelah proses ekstraksi tampak relatif jernih sehingga mengindikasikan bahwa perpindahan pigmen karotenoid dari fase minyak ke fase NADES berlangsung dalam jumlah yang rendah. Hasil ini diduga disebabkan oleh sifat kedua NADES yang sangat polar. Afinitas β -karoten terhadap NADES hidrofilik berbasis ChCl menjadi relatif rendah sehingga distribusi β -karoten ke dalam fase pelarut tidak berlangsung secara efektif.

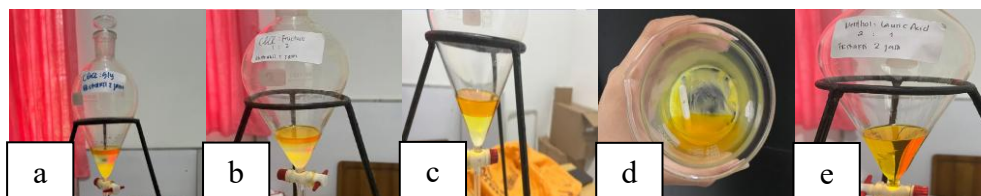
Formulasi CO menunjukkan kendala yang berbeda meskipun sistem ini masih dapat terbentuk sebagai NADES, viskositas yang sangat tinggi menyebabkan proses pencampuran dan perpindahan massa menjadi tidak optimal. Tingginya viskositas dapat menurunkan mobilitas molekul dan memperlambat difusi β -karoten dari fase minyak menuju fase pelarut. Selain itu, terbentuknya struktur menyerupai gel selama proses sintesis menyebabkan kontak antarfase menjadi terbatas. Kondisi tersebut mengakibatkan formulasi CO kurang sesuai untuk diaplikasikan pada sistem ekstraksi cair-cair yang memerlukan perpindahan massa secara efisien. Berbeda dengan formulasi berbasis ChCl, kombinasi MC menunjukkan performa ekstraksi yang paling baik pada tahap *screening* awal. Setelah proses ekstraksi, terbentuk dua fase yang terpisah dengan jelas dan fase ekstrak menunjukkan perubahan warna yang mengindikasikan adanya perpindahan senyawa karotenoid dari fase minyak ke fase NADES. Keberhasilan formulasi ini diduga berkaitan dengan sifat hidrofobik yang dimiliki oleh *menthol* dan *camphor*. Sebagai *hydrophobic deep eutectic solvent* (HDES), kombinasi tersebut memiliki polaritas yang lebih mendekati karakteristik β -karoten sehingga meningkatkan afinitas pelarut terhadap senyawa target. Selain itu, kondisi fisik MC yang tetap cair dan homogen setelah proses aging memungkinkan terjadinya kontak antarfase yang lebih baik selama ekstraksi berlangsung.

Tabel 3 Hasil *screening* awal ekstraksi

No	HBA	HBD	Sifat Pelarut	Rasio dan Waktu Ekstraksi	Hasil Ekstraksi
1	ChCl	<i>Glycerin</i>	Polar	1:2 60 menit	Fase bawah terlalu jernih
2	ChCl	<i>Fructose</i>	Polar		Fase bawah terlalu jernih
3	ChCl	<i>Oxalic Acid</i>	Polar (asam)		Viskositas terlalu tinggi
4	<i>Menthol</i>	<i>Camphor</i>	Nonpolar (<i>hydrophobic DES</i>)		Cocok untuk ekstraksi minyak
5	<i>Menthol</i>	<i>Lauric Acid</i>	Nonpolar (<i>hydrophobic DES</i>)		Tidak terjadi pemisahan fase

Formulasi ML menunjukkan proses ekstraksi tidak menghasilkan pemisahan fase yang jelas. Ketidakmampuan sistem membentuk dua fase yang stabil menunjukkan bahwa distribusi komponen dalam sistem ekstraksi tidak berlangsung secara optimal. Dalam ekstraksi cair-cair, pembentukan dua fase yang terpisah merupakan faktor penting karena menentukan terjadinya perpindahan dan pemisahan senyawa target berdasarkan perbedaan afinitas terhadap masing-masing fase. Tidak terbentuknya pemisahan fase pada formulasi ML menyebabkan proses pemisahan ekstrak menjadi sulit dilakukan sehingga formulasi ini tidak dipilih untuk tahap pengembangan selanjutnya. Secara keseluruhan, hasil *screening* awal menunjukkan bahwa sifat polaritas dan karakteristik fisik NADES berperan penting dalam menentukan keberhasilan

ekstraksi β -karoten dari CPO. Formulasi berbasis ChCl cenderung kurang efektif karena memiliki karakter yang terlalu hidrofilik, sedangkan tingginya viskositas pada CO menghambat perpindahan massa selama ekstraksi. Di antara seluruh formulasi yang diuji, *Menthol:Camphor* menunjukkan performa terbaik karena mampu membentuk sistem dua fase yang stabil, memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap β -karoten, serta menghasilkan kondisi ekstraksi yang lebih sesuai untuk senyawa lipofilik. Oleh karena itu, formulasi MC dipilih sebagai dasar pengembangan formulasi NADES pada tahap penelitian berikutnya.



Gambar 8 Penampakan hasil ekstraksi (a) CG (b) CF (c) MC (d) CO (e) ML

4.3 Pengembangan Formulasi NADES

Berdasarkan hasil iterasi pertama formulasi NADES, diketahui bahwa sistem berbasis *menthol* menunjukkan performa ekstraksi yang lebih baik dibandingkan formulasi berbasis *choline chloride*. Formulasi CG dan CF menghasilkan fase ekstrak yang relatif jernih, sedangkan CO memiliki viskositas yang terlalu tinggi sehingga menghambat proses perpindahan massa selama ekstraksi. Sebaliknya, formulasi MC mampu membentuk sistem dua fase yang stabil dan menunjukkan indikasi perpindahan karotenoid yang lebih baik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut dengan karakter hidrofobik memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap β -karoten dibandingkan NADES yang bersifat hidrofilik. Temuan iterasi pertama ini mengindikasikan bahwa pendekatan pengembangan formulasi perlu difokuskan pada NADES yang memiliki karakter hidrofobik agar afinitas terhadap β -karoten dapat ditingkatkan.

Pendekatan formulasi pada iterasi kedua dilakukan melalui dua pendekatan. Pendekatan pertama menggunakan *menthol* sebagai HBA yang dikombinasikan dengan berbagai jenis HBD, yaitu *camphor*, asam format, asam asetat, asam propionat, asam butirat, asam laktat, dan cineol. Pendekatan kedua dilakukan dengan mengevaluasi penggunaan *Betaine* HCl sebagai alternatif HBA yang dikombinasikan dengan beberapa HBD. *Betaine* merupakan senyawa alami yang memiliki kemampuan pembentukan ikatan hidrogen yang kuat, stabilitas tinggi, serta biodegradabilitas yang baik sehingga banyak dilaporkan sebagai komponen penyusun NADES (Mulia *et al.* 2018). Awalnya, *Betaine*-HCl sempat dicobakan dengan beberapa HBD yang sama seperti formulasi berbasis *menthol*, termasuk *camphor*. Namun, kombinasi tersebut tidak mampu menghasilkan sistem NADES yang stabil karena perbedaan polaritas yang terlalu besar antara komponen penyusunnya. Akibatnya, campuran tidak dapat membentuk satu fase homogen dan tidak memenuhi karakteristik sebagai NADES.

Tabel 4 Pengembangan formulasi NADES

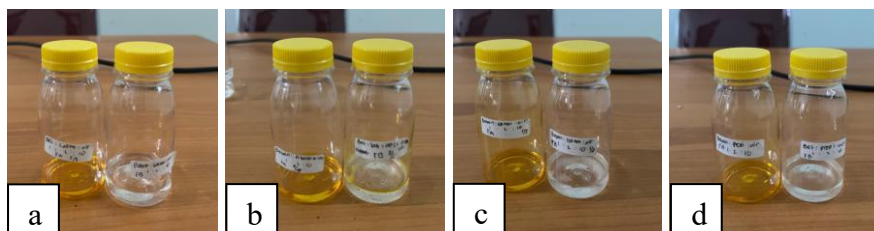
No	Kode	HBA	HBD	Komponen Tambahan	Rasio Molar	Suhu dan Waktu
1	MC	<i>Menthol</i>	Camphor			
2	MLA	<i>Menthol</i>	Asam Laktat			
3	MPA	<i>Menthol</i>	Asam Propionat			
4	MBA	<i>Menthol</i>	Asam Butirat		1:1 1:2 2:1	
5	MAA	<i>Menthol</i>	Asam Asetat			
6	MFA	<i>Menthol</i>	Asam Format			40 °C 60 menit
7	MCI	<i>Menthol</i>	Cineol			
8	BFA	<i>Betaine-HCl</i>	Asam Format	Air		
9	BLA	<i>Betaine-HCl</i>	Asam Laktat	Air	1:1:8 1:2:8	
10	BPA	<i>Betaine-HCl</i>	Asam Propionat	Air	2:1:8	
11	BBA	<i>Betaine-HCl</i>	Asam Butirat	Air		

Pengembangan formulasi *Betaine-HCl* kemudian difokuskan pada penggunaan HBD berupa asam organik, yaitu asam format, asam laktat, asam propionat, dan asam butirat. Selama proses sintesis, formulasi *Betaine-HCl* tanpa penambahan air menghasilkan sistem dengan viskositas yang sangat tinggi dan cenderung sulit homogen. Oleh karena itu, ditambahkan air sebagai komponen ketiga (*ternary NADES*) untuk menurunkan viskositas dan meningkatkan mobilitas molekul dalam sistem. Penambahan air dalam jumlah terbatas telah dilaporkan mampu memperbaiki karakteristik fisik NADES tanpa merusak jaringan ikatan hidrogen yang terbentuk, sehingga menghasilkan pelarut yang lebih mudah diaplikasikan dalam proses ekstraksi. Tahapan iterasi kedua, dilakukan variasi rasio air terhadap sistem *Betaine-HCl*, yaitu 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, dan 1:10. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa rasio 1:8 diperoleh sistem yang homogen, stabil, dan tetap mempertahankan karakteristik NADES yang diinginkan. Penambahan air lebih lanjut hingga rasio 1:10 tidak memberikan perbaikan karakteristik yang signifikan dibandingkan rasio 1:8, sehingga rasio 1:8 dipilih sebagai rasio minimum air yang mampu menghasilkan sistem *Betaine-HCl* yang homogen dan stabil untuk digunakan pada tahap ekstraksi β -karoten berikutnya.

4.3.1 Evaluasi Formulasi Berbasis *Betaine-HCl*

Evaluasi awal dilakukan secara visual dengan mengamati warna dan pemisahan fase setelah proses ekstraksi. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh formulasi berbasis *Betaine-HCl* menghasilkan pemisahan fase yang cukup jelas, namun fase bawah yang merupakan fase NADES tampak relatif jernih dan

tidak menunjukkan warna kuning hingga jingga yang umumnya mengindikasikan keberadaan karotenoid dalam jumlah signifikan. Gambar 9 menunjukkan hasil ekstraksi menggunakan formulasi berbasis *Betaine*-HCl. Fase atas yang berwarna kuning-oranye merupakan fase minyak yang masih mengandung sebagian besar pigmen karotenoid, sedangkan fase bawah yang merupakan fase NADES terlihat relatif bening. Kondisi ini mengindikasikan bahwa perpindahan β -karoten dari fase minyak menuju fase NADES berlangsung dalam jumlah yang sangat rendah. Hasil tersebut diduga berkaitan dengan karakteristik sistem *Betaine*-HCl yang masih cenderung polar meskipun telah dimodifikasi dengan penambahan asam organik dan air. Selain faktor polaritas, keberadaan air dalam sistem juga berpotensi meningkatkan karakter hidrofilik pelarut sehingga kemampuan NADES dalam melarutkan senyawa lipofilik menjadi semakin berkurang. Meskipun penambahan air diperlukan untuk memperbaiki karakteristik fisik dan menurunkan viskositas sistem, peningkatan kandungan air dapat mengurangi afinitas pelarut terhadap senyawa nonpolar seperti β -karoten. Berdasarkan hasil evaluasi visual tersebut, formulasi berbasis *Betaine*-HCl tidak dilanjutkan ke tahap analisis kadar β -karoten menggunakan spektrofotometer UV-Vis.



Gambar 9 Penampakan hasil ekstraksi (a) BFA (b) BLA (c) BPA (d) BBA

4.4 Seleksi Formulasi Berbasis *Menthol*

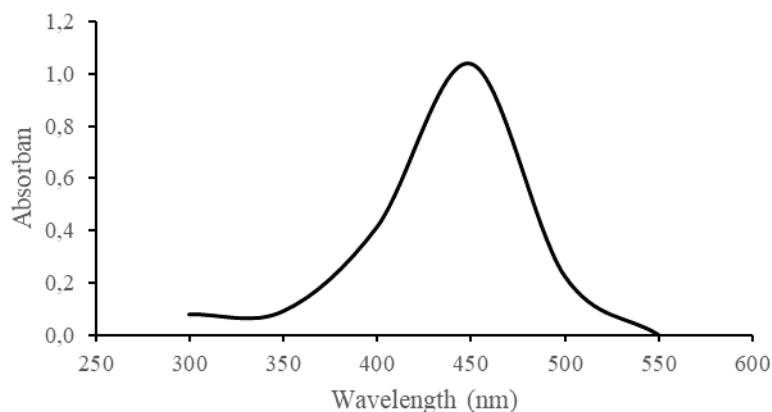
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum β -Karoten

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dilakukan sebagai tahap awal sebelum analisis kuantitatif β -karoten menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran pada λ_{maks} bertujuan memperoleh sensitivitas analisis yang optimal karena pada panjang gelombang tersebut senyawa target memberikan absorbansi tertinggi sehingga perubahan konsentrasi dapat terdeteksi dengan lebih baik. Selain itu, pengukuran pada λ_{maks} juga dapat meminimalkan kesalahan analisis yang disebabkan oleh pergeseran panjang gelombang maupun gangguan dari senyawa lain yang memiliki serapan pada daerah spektrum yang berbeda. Penentuan λ_{maks} dilakukan menggunakan larutan standar β -karoten konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut heksana pada rentang panjang gelombang 300-550 nm. Hasil pemindaian spektrum menunjukkan bahwa absorbansi β -karoten meningkat secara bertahap hingga mencapai nilai maksimum pada panjang gelombang 450 nm dengan absorbansi sebesar 1,040, kemudian mengalami penurunan pada panjang gelombang yang lebih tinggi. Data hasil pengukuran absorbansi pada berbagai panjang gelombang disajikan pada Tabel 5, sedangkan profil spektrum serapan β -karoten ditunjukkan pada Gambar 10.

Tabel 5 Profil spektrum serapan β -karoten

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
300	0,078
350	0,090
400	0,413
450	1,040
500	0,226
550	0,000

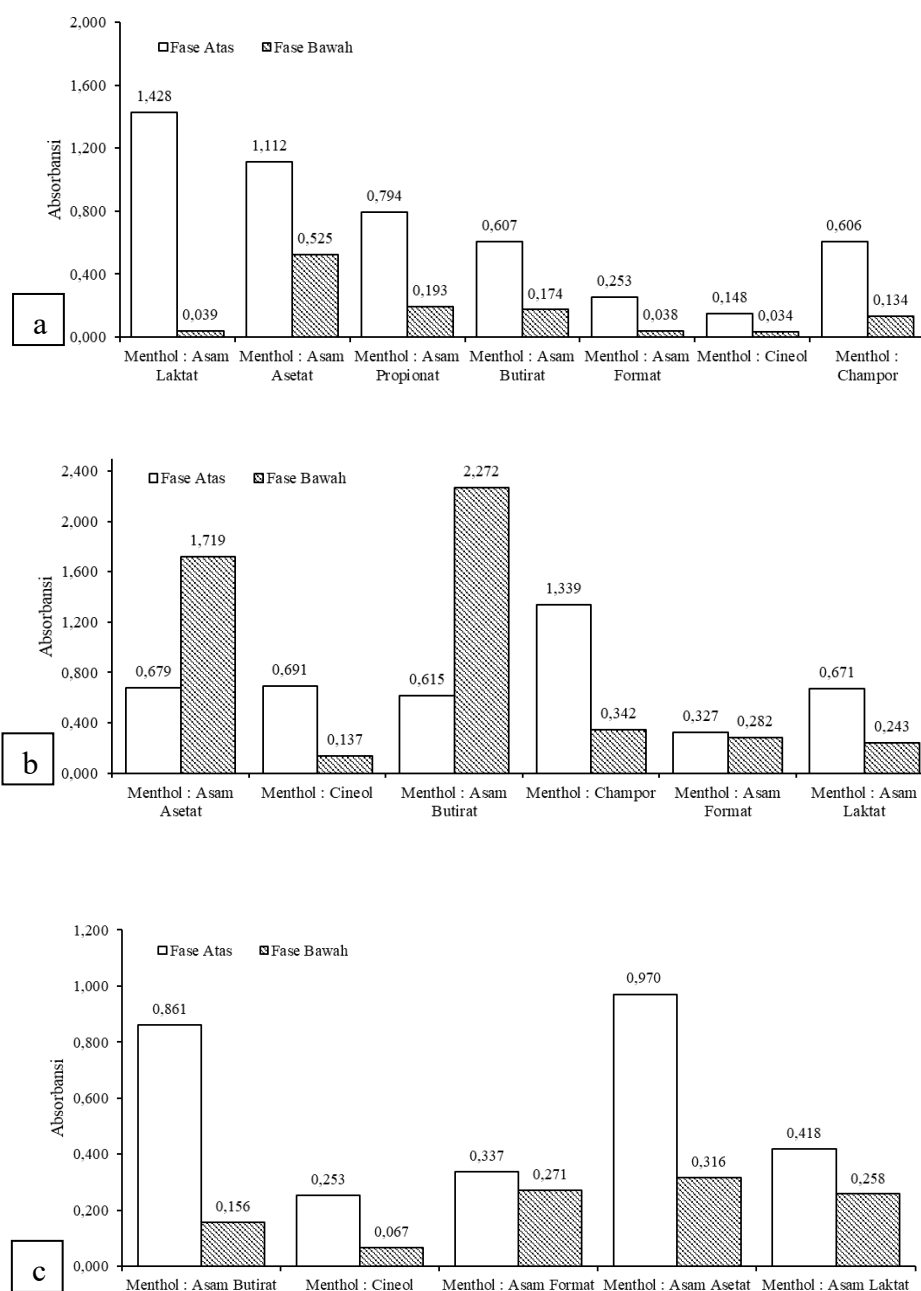
Berdasarkan Gambar 10, β -karoten menunjukkan puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 450 nm. Hasil ini sesuai dengan karakteristik β -karoten sebagai senyawa karotenoid yang memiliki sistem ikatan rangkap terkonjugasi panjang sehingga mampu menyerap radiasi pada daerah cahaya tampak, khususnya pada rentang 400-500 nm. Serapan maksimum yang diperoleh pada penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Sari dan Mayasari (2018) yang melaporkan bahwa β -karoten memiliki puncak serapan pada kisaran 450 nm dalam pelarut nonpolar seperti heksana atau isooktana.



Gambar 10 Kurva panjang gelombang serapan maksimum β karoten

4.4.2 Screening Awal Formulasi NADES Berbasis *Menthol*

Screening dilakukan melalui pengukuran absorbansi fase atas dan fase bawah hasil ekstraksi pada panjang gelombang 450 nm. Dalam tahap ini, absorbansi digunakan sebagai parameter awal (*baseline*) untuk mengevaluasi distribusi pigmen karotenoid antara fase minyak dan fase NADES. Analisis dilakukan terhadap fase atas dan fase bawah secara terpisah untuk melihat kecenderungan perpindahan pigmen selama proses ekstraksi. Hasil pengukuran absorbansi pada berbagai formulasi NADES berbasis *menthol* disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik nilai absorbansi hasil ekstraksi (a) Rasio 1:2 (b) Rasio 1:1 (c) Rasio 2:1

Rasio molar 1:1 menunjukkan formulasi MBA menghasilkan absorbansi fase bawah tertinggi sebesar 2,272 dengan absorbansi fase atas sebesar 0,615. Formulasi MAA juga menunjukkan absorbansi fase bawah yang relatif tinggi yaitu sebesar 1,719 dengan absorbansi fase atas sebesar 0,679. Tingginya absorbansi pada fase bawah disertai absorbansi fase atas yang relatif lebih rendah mengindikasikan adanya perpindahan pigmen yang menyerap pada panjang gelombang 450 nm dari fase minyak menuju fase NADES. Sebaliknya, formulasi MCI dan MFA menunjukkan absorbansi yang relatif rendah baik pada fase atas maupun fase bawah. Rasio 1:1 menunjukkan absorbansi fase bawah MCI dan MFA masing-

masing hanya sebesar 0,137 dan 0,282. Pola serupa juga diamati pada rasio 1:2 dan 2:1, di mana kedua formulasi tersebut menghasilkan absorbansi fase bawah yang rendah. Hasil ini menunjukkan bahwa rendahnya absorbansi fase atas tidak selalu menunjukkan efektivitas ekstraksi yang lebih tinggi, karena fase bawah juga tidak menunjukkan peningkatan absorbansi yang signifikan sebagai indikasi akumulasi pigmen karotenoid. Formulasi MC, absorbansi fase bawah yang diperoleh tidak setinggi formulasi MBA maupun MAA. Namun demikian, formulasi ini menghasilkan sistem dua fase yang stabil dengan pemisahan fase yang jelas setelah proses ekstraksi. Secara umum, hasil *screening* menunjukkan bahwa jenis HBD memberikan pengaruh yang besar terhadap distribusi pigmen karotenoid dalam sistem ekstraksi. Formulasi berbasis asam karboksilat, khususnya asam asetat dan asam butirat, menunjukkan indikasi perpindahan pigmen yang lebih baik dibandingkan formulasi berbasis *cineol* maupun asam format. Berdasarkan kombinasi hasil absorbansi, kestabilan sistem ekstraksi, kemudahan pemisahan fase, serta indikasi perpindahan pigmen ke fase NADES, dipilih tiga formulasi terbaik yaitu MBA (1:1), MAA (1:1), dan MC (1:1) untuk dilanjutkan pada tahap optimasi waktu ekstraksi menggunakan variasi waktu 90 dan 120 menit.

4.5 Variasi Waktu Ekstraksi terhadap Konsentrasi β -Karoten

4.5.1 Kurva Kalibrasi β karoten

Hubungan antara konsentrasi β -karoten dan absorbansi kemudian diplot untuk memperoleh persamaan regresi linear yang digunakan dalam perhitungan konsentrasi sampel.

Tabel 6 Data absorbansi kurva standar

Konsentrasi β -karoten ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
0	0
10	0,5831
20	1,0962
30	1,6251
40	2,1314
50	2,4850

Persamaan regresi tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi β -karoten ekuivalen pada sampel hasil ekstraksi berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh. Konsentrasi sampel dihitung menggunakan persamaan:

$$x = \frac{y}{0,052}$$

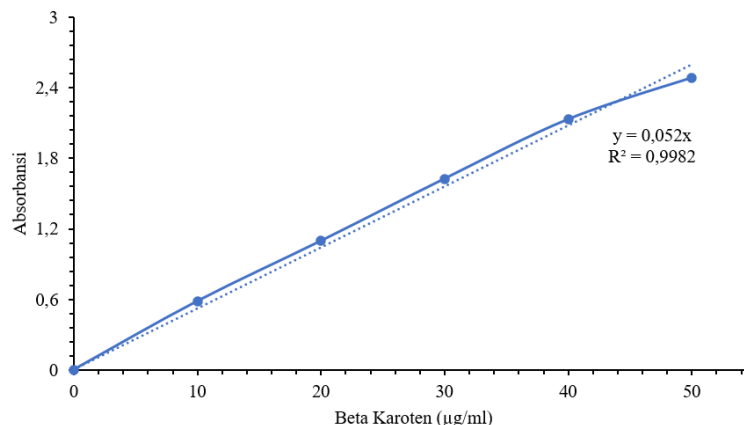
dengan:

x = konsentrasi β -karoten ($\mu\text{g/mL}$)

y = absorbansi sampel pada panjang gelombang 450 nm

Kurva kalibrasi ini selanjutnya digunakan untuk menentukan konsentrasi karotenoid pada fase atas hasil ekstraksi menggunakan berbagai formulasi NADES berbasis *menthol*. Analisis difokuskan pada fase atas karena fase tersebut tersusun atas campuran minyak dan heksana yang memiliki matriks

lebih serupa dengan larutan standar β -karoten dibandingkan fase bawah yang mengandung NADES. Kesamaan matriks ini diharapkan dapat meminimalkan gangguan pengukuran dan menghasilkan estimasi konsentrasi yang lebih representatif.



Gambar 12 Kurva standar β -karoten

Meskipun demikian, perlu diperhatikan bahwa pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm tidak bersifat spesifik terhadap β -karoten. Instrumen UV-Vis mengukur absorbansi berdasarkan interaksi cahaya dengan kromofor yang memiliki karakteristik serapan pada panjang gelombang tertentu, sehingga senyawa karotenoid lain yang memiliki sistem ikatan rangkap terkonjugasi, seperti α -karoten, γ -karoten, maupun pigmen karotenoid lainnya, berpotensi memberikan kontribusi terhadap nilai absorbansi yang terukur. Oleh karena itu, nilai yang diperoleh pada penelitian ini lebih tepat dinyatakan sebagai karotenoid ekuivalen β -karoten, yaitu konsentrasi senyawa yang dihitung berdasarkan kurva standar β -karoten, dan bukan kadar β -karoten spesifik. Analisis UV-Vis pada penelitian ini digunakan sebagai metode *screening* untuk mengevaluasi distribusi relatif karotenoid selama proses ekstraksi. Konfirmasi keberadaan serta kuantifikasi β -karoten secara spesifik selanjutnya dilakukan menggunakan analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), yang memiliki kemampuan pemisahan dan identifikasi senyawa secara lebih selektif dibandingkan metode spektrofotometri UV-Vis.

4.5.2 Pengaruh Waktu Ekstraksi

Pengaruh waktu ekstraksi terhadap distribusi karotenoid dievaluasi menggunakan tiga formulasi NADES terpilih, yaitu MBA, MAA, dan MC dengan rasio molar 1:1. Konsentrasi karotenoid pada fase atas dihitung berdasarkan kurva standar β -karoten sehingga dinyatakan sebagai karotenoid ekuivalen β -karoten. Fase atas dipilih sebagai objek analisis karena tersusun atas campuran minyak dan heksana yang memiliki karakteristik serupa dengan larutan standar β -karoten. Penurunan konsentrasi karotenoid pada fase atas digunakan sebagai indikator berkurangnya karotenoid yang masih tertahan pada fase minyak setelah proses ekstraksi. Formulasi MBA menunjukkan konsentrasi karotenoid pada fase atas mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu

ekstraksi, yaitu dari $253,255 \pm 6,894 \mu\text{g/mL}$ pada 60 menit menjadi $199,655 \pm 8,435 \mu\text{g/mL}$ pada 90 menit dan mencapai $106,585 \pm 1,124 \mu\text{g/mL}$ pada 120 menit. Penurunan yang konsisten ini menunjukkan bahwa peningkatan waktu kontak antara fase minyak dan NADES meningkatkan distribusi karotenoid dari fase minyak ke fase ekstrak. Waktu ekstraksi 120 menit dipilih sebagai kondisi optimum untuk formulasi MBA karena menghasilkan konsentrasi karotenoid terendah pada fase atas. Formulasi MAA menghasilkan konsentrasi karotenoid pada fase atas terendah sebesar $157,995 \pm 1,549 \mu\text{g/mL}$ pada waktu ekstraksi 60 menit. Perpanjangan waktu ekstraksi hingga 90 menit menyebabkan konsentrasi karotenoid pada fase atas meningkat menjadi $297,405 \pm 2,114 \mu\text{g/mL}$, kemudian menurun menjadi $197,565 \pm 11,109 \mu\text{g/mL}$ pada 120 menit. Pola tersebut menunjukkan bahwa peningkatan waktu ekstraksi tidak selalu meningkatkan efisiensi distribusi karotenoid ke fase NADES. Konsentrasi karotenoid yang lebih rendah pada fase atas pada 60 menit mengindikasikan bahwa jumlah karotenoid yang tertinggal pada fase minyak paling sedikit dibandingkan waktu ekstraksi lainnya. Waktu ekstraksi 60 menit ditetapkan sebagai kondisi optimum untuk formulasi MAA.

Tabel 7 Konsentrasi karotenoid fase atas pada variasi waktu ekstraksi

NADES	Rasio HBA:HBD	Waktu (menit)	Abs 1	Abs 2	β -Karoten ($\mu\text{g/mL}$)*
MBA	1:1	60	1,312	1,361	253,255 $\pm$ 6,894
		90	1,097	1,037	199,655 $\pm$ 8,435
		120	0,595	0,603	106,585 $\pm$ 1,124
MAA		60	0,863	0,852	157,995 $\pm$ 1,549
		90	1,566	1,551	297,405 $\pm$ 2,114
		120	1,017	1,096	197,565 $\pm$ 11,109
MC		60	1,093	1,165	211,990 $\pm$ 10,126
		90	0,183	0,125	77,745 $\pm$ 8,153
		120	0,839	0,952	165,550 $\pm$ 15,896

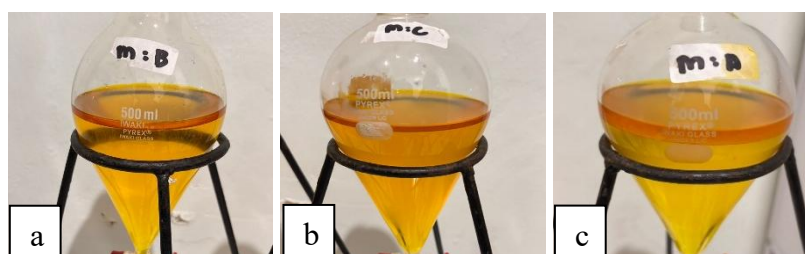
*Konsentrasi karotenoid sebagai ekuivalen β -karoten ($\mu\text{g/mL}$)

Formulasi MC menunjukkan penurunan konsentrasi karotenoid yang paling signifikan dibandingkan formulasi lainnya. Konsentrasi karotenoid pada fase atas menurun dari $211,990 \pm 10,126 \mu\text{g/mL}$ pada 60 menit menjadi $77,745 \pm 8,153 \mu\text{g/mL}$ pada 90 menit. Nilai tersebut merupakan konsentrasi terendah yang diperoleh dari seluruh perlakuan yang diuji. Ketika waktu ekstraksi diperpanjang menjadi 120 menit, konsentrasi meningkat kembali menjadi $165,550 \pm 15,896 \mu\text{g/mL}$. Hasil ini menunjukkan bahwa distribusi karotenoid dari fase minyak menuju fase NADES berlangsung paling efektif pada waktu ekstraksi 90 menit. Rendahnya konsentrasi karotenoid yang tersisa pada fase atas mengindikasikan bahwa formulasi MC memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap karotenoid dibandingkan formulasi lainnya. Waktu ekstraksi optimum untuk formulasi MC ditetapkan pada 90 menit. Secara keseluruhan, waktu ekstraksi optimum berbeda untuk setiap formulasi NADES. Formulasi MBA mencapai kondisi optimum pada 120 menit, sedangkan formulasi MAA pada 60 menit dan MC mencapai kondisi optimum pada 90 menit. Di antara seluruh

perlakuan yang diuji, formulasi MC (1:1) selama 90 menit menghasilkan konsentrasi karotenoid fase atas terendah yaitu $77,745 \pm 8,153 \mu\text{g/mL}$, yang menunjukkan kemampuan distribusi karotenoid dari fase minyak ke fase NADES paling baik dibandingkan formulasi lainnya.

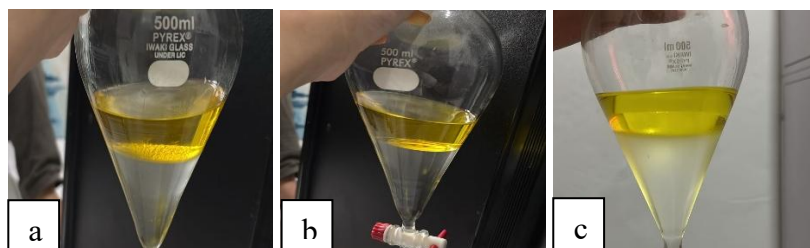
4.6 *Re-extraction* dan Evaporasi Fase NADES

Setelah diperoleh kondisi optimum pada masing-masing formulasi NADES, yaitu MBA pada waktu ekstraksi 120 menit, MAA pada 60 menit, dan MC pada 90 menit, dilakukan ekstraksi ulang (*re-extraction*) terhadap fase NADES untuk memperoleh ekstrak karotenoid yang lebih terkonsentrasi. Tahap ini diperlukan karena β -karoten yang telah berpindah ke dalam fase NADES masih berada dalam campuran pelarut sehingga diperlukan proses pemisahan lebih lanjut sebelum dilakukan analisis lanjutan menggunakan HPLC maupun pengujian aktivitas antioksidan. Selain itu, proses *re-extraction* bertujuan meningkatkan *recovery* karotenoid dengan memindahkan kembali senyawa target dari fase NADES ke dalam pelarut organik yang lebih mudah dipisahkan dan diuapkan. Gambar 13 menunjukkan proses ekstraksi skala besar menggunakan formulasi MBA, MC, dan MAA pada kondisi optimum masing-masing. Secara visual, ketiga formulasi menghasilkan fase NADES berwarna jingga hingga kuning-oranye yang mengindikasikan adanya pigmen karotenoid yang terlarut dalam fase ekstrak. Intensitas warna yang terbentuk menunjukkan bahwa senyawa karotenoid berhasil berpindah dari fase minyak menuju fase NADES selama proses ekstraksi. Warna yang relatif lebih pekat pada formulasi MC dan MBA dibandingkan MAA mengindikasikan adanya perbedaan kemampuan masing-masing NADES dalam mengekstraksi dan mempertahankan pigmen karotenoid.



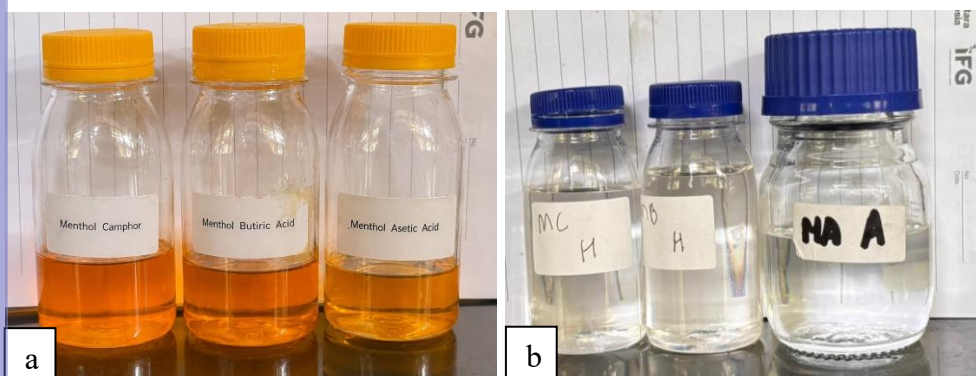
Gambar 13 Ekstraksi skala besar (a) MBA (b) MCA (c) MAA

Tahap selanjutnya adalah *re-extraction* menggunakan campuran heksan dan air. Heksan dipilih karena merupakan pelarut nonpolar yang memiliki afinitas tinggi terhadap β -karoten, sedangkan penambahan air bertujuan menurunkan stabilitas sistem NADES sehingga mempermudah perpindahan karotenoid menuju fase heksan (Manurung *et al.* 2015). Proses ini membentuk dua fase utama, yaitu fase heksan pada bagian atas dan fase air/NADES pada bagian bawah. Sebagaimana terlihat pada Gambar 14, fase heksan menunjukkan warna kuning hingga jingga, sedangkan fase bawah tampak lebih pucat. Perubahan distribusi warna tersebut menunjukkan bahwa pigmen karotenoid telah berpindah dari fase NADES ke fase heksan. Hasil ini menunjukkan bahwa proses *re-extraction* berlangsung dengan baik dan memungkinkan pemisahan karotenoid dari matriks NADES sebelum tahap pemekatan.



Gambar 14 Penampakan hasil *re-extraction* (a) MBA (b) MCA (c) MAA

Fase heksan yang diperoleh selanjutnya dipisahkan dan diuapkan menggunakan proses evaporasi untuk menghilangkan pelarut. Setelah heksan menguap, diperoleh ekstrak pekat yang didominasi oleh pigmen karotenoid. Hasil evaporasi ditunjukkan pada Gambar 15. Perbedaan intensitas warna ekstrak terlihat cukup jelas antar formulasi, ekstrak hasil formulasi MC menghasilkan warna jingga yang paling pekat, diikuti oleh MBA yang juga menunjukkan warna jingga yang relatif intens. Sementara itu, ekstrak dari formulasi MAA memiliki warna kuning yang lebih terang dibandingkan kedua formulasi lainnya. Perbedaan warna ekstrak yang diperoleh diduga berkaitan dengan jumlah pigmen karotenoid yang berhasil *recovery* selama proses *re-extraction*. Karotenoid, khususnya β -karoten, dikenal sebagai pigmen yang memberikan warna kuning hingga jingga pada minyak sawit dan berbagai bahan alami lainnya. Semakin tinggi konsentrasi karotenoid yang terakumulasi dalam ekstrak, umumnya semakin intens warna jingga yang dihasilkan. Berdasarkan hasil pengamatan visual setelah proses evaporasi, formulasi MC dan MBA menghasilkan ekstrak dengan warna yang lebih pekat dibandingkan formulasi MAA. Hasil tersebut sejalan dengan kecenderungan data spektrofotometri sebelumnya yang menunjukkan bahwa kedua formulasi tersebut memiliki kemampuan yang baik dalam memindahkan β -karoten ke fase ekstrak. Oleh karena itu, formulasi MC dan MBA dipilih untuk tahap identifikasi lebih lanjut menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) guna mengonfirmasi keberadaan β -karoten dalam ekstrak yang dihasilkan.



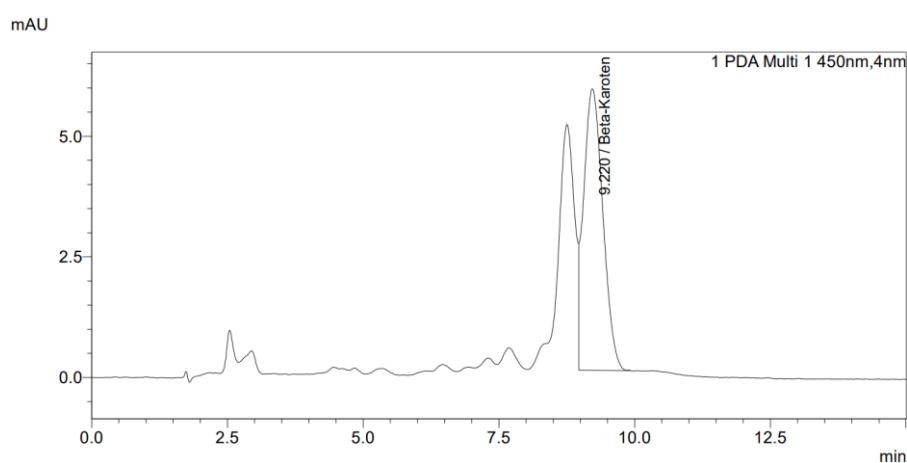
Gambar 15 Hasil evaporasi *re-extraction* (a) karoten (b) heksana

4.7 Identifikasi β -Karoten menggunakan HPLC

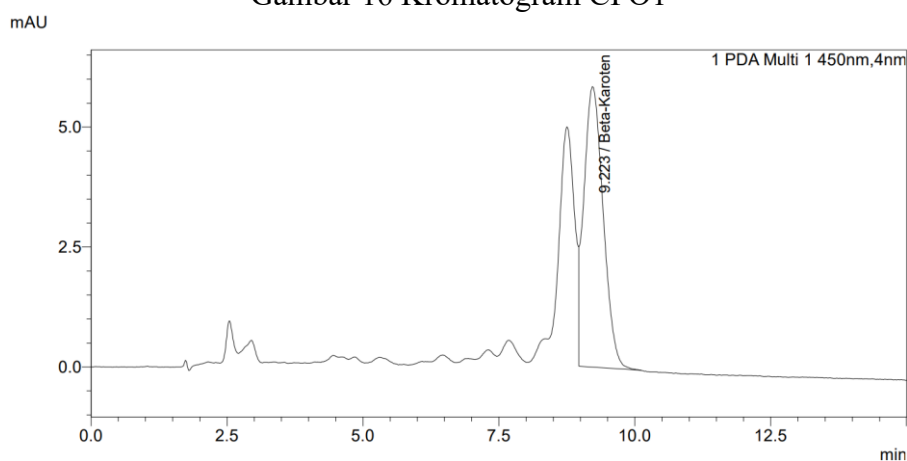
4.7.1 Kromatogram *Crude Palm Oil*

Analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dilakukan terhadap sampel *Crude Palm Oil* (CPO) untuk mengidentifikasi keberadaan β -karoten sebagai senyawa target dalam penelitian ini. Hasil kromatogram pada

panjang gelombang 450 nm menunjukkan adanya puncak dominan pada waktu retensi sekitar 8,93 menit pada kedua pengulangan analisis (Gambar 16). Kesamaan waktu retensi antara CPO1 dan CPO2 menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki reproduktibilitas yang baik serta mampu mendeteksi senyawa target secara konsisten. Puncak dominan yang terdeteksi pada waktu retensi sekitar 8,93 menit diidentifikasi sebagai β -karoten. Identifikasi tersebut didasarkan pada kesesuaian waktu retensi serta panjang gelombang deteksi yang digunakan, yaitu 450 nm. Panjang gelombang tersebut merupakan daerah serapan maksimum β -karoten yang berasal dari sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya. Oleh karena itu, puncak yang muncul pada waktu retensi tersebut dapat digunakan sebagai acuan dalam identifikasi β -karoten pada sampel hasil ekstraksi.



Gambar 16 Kromatogram CPO1



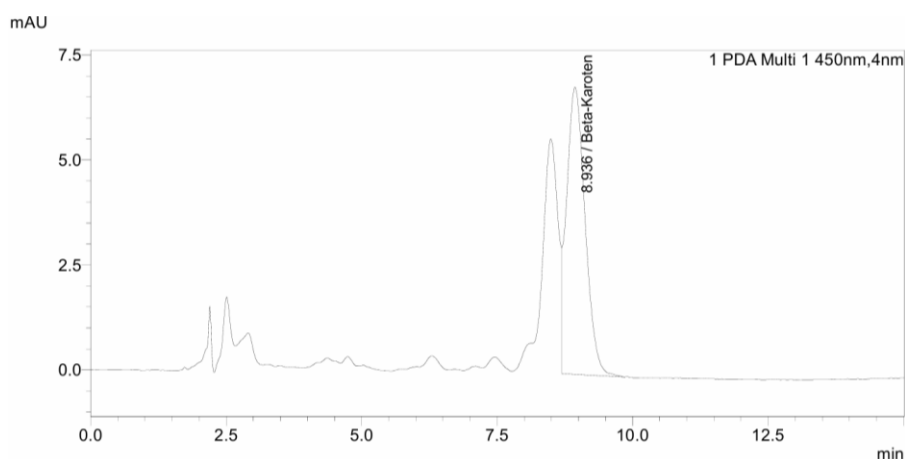
Gambar 17 Kromatogram CPO2

Selain puncak utama β -karoten, kromatogram juga menunjukkan beberapa puncak minor dengan intensitas relatif rendah pada waktu retensi yang lebih pendek. Puncak-puncak tersebut diduga berasal dari komponen minor yang secara alami terdapat dalam CPO, seperti karotenoid lain, tokoferol, tokotrienol, sterol, maupun senyawa lipofilik lainnya. Namun demikian, intensitas puncak β -karoten yang lebih tinggi dibandingkan puncak lainnya menunjukkan bahwa senyawa tersebut merupakan salah satu komponen karotenoid dominan yang berhasil terdeteksi pada CPO. Hasil kuantifikasi menggunakan HPLC

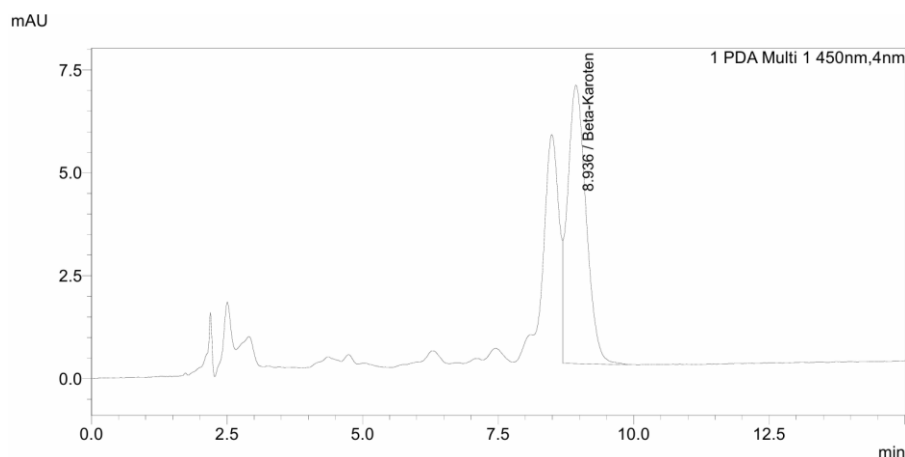
menunjukkan bahwa kadar β -karoten pada CPO sebesar 92,04 mg/kg pada pengulangan pertama dan 92,48 mg/kg pada pengulangan kedua, dengan rata-rata $92,26 \pm 0,31$ mg/kg. Nilai tersebut menunjukkan variasi yang sangat kecil antar pengulangan, sehingga mengindikasikan presisi analisis yang baik. Kadar β -karoten yang terdeteksi pada CPO selanjutnya digunakan sebagai dasar perhitungan *recovery* β -karoten setelah proses ekstraksi, *re-extraction*, dan evaporasi. Keberadaan puncak β -karoten pada CPO menjadi bukti bahwa bahan baku yang digunakan masih mengandung senyawa karotenoid yang dapat dipisahkan menggunakan sistem ekstraksi berbasis NADES. Selain itu, waktu retensi β -karoten pada CPO digunakan sebagai referensi untuk mengonfirmasi identitas puncak β -karoten pada ekstrak hasil ekstraksi.

4.7.2 Kromatogram Sampel Hasil Ekstraksi

Analisis HPLC dilakukan untuk mengonfirmasi keberadaan β -karoten pada ekstrak hasil *re-extraction* menggunakan NADES MBA dan MC. Identifikasi dilakukan berdasarkan kesesuaian waktu retensi (*retention time*, RT) dan karakteristik spektrum UV yang diperoleh dari setiap puncak kromatogram. Hasil analisis menunjukkan bahwa seluruh sampel menghasilkan puncak utama pada rentang waktu retensi 8,933-8,936 menit. Nilai RT yang relatif konstan antara simplo dan duplo mengindikasikan bahwa senyawa yang terdeteksi memiliki karakteristik interaksi yang sama terhadap fase diam dan fase gerak sistem HPLC. Konsistensi waktu retensi tersebut menunjukkan reproduktibilitas analisis yang baik sekaligus mengindikasikan bahwa puncak yang diamati berasal dari komponen yang sama, yaitu β -karoten. Selain kesesuaian waktu retensi, identifikasi β -karoten diperkuat oleh spektrum UV yang menunjukkan panjang gelombang maksimum pada kisaran 452-453 nm. Karakteristik tersebut sesuai dengan sifat β -karoten sebagai senyawa karotenoid yang memiliki sistem ikatan rangkap terkonjugasi panjang sehingga mampu menyerap cahaya secara maksimum pada daerah tampak sekitar 450 nm. Kehadiran puncak pada RT yang konsisten serta λ_{max} yang sesuai menunjukkan bahwa proses ekstraksi dan *re-extraction* berhasil mempertahankan keberadaan β -karoten dalam ekstrak akhir.

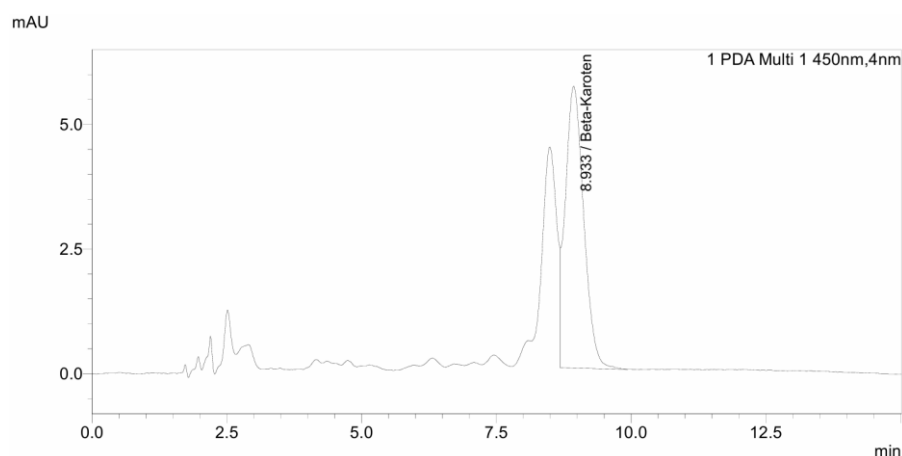


Gambar 18 Kromatogram MBA1

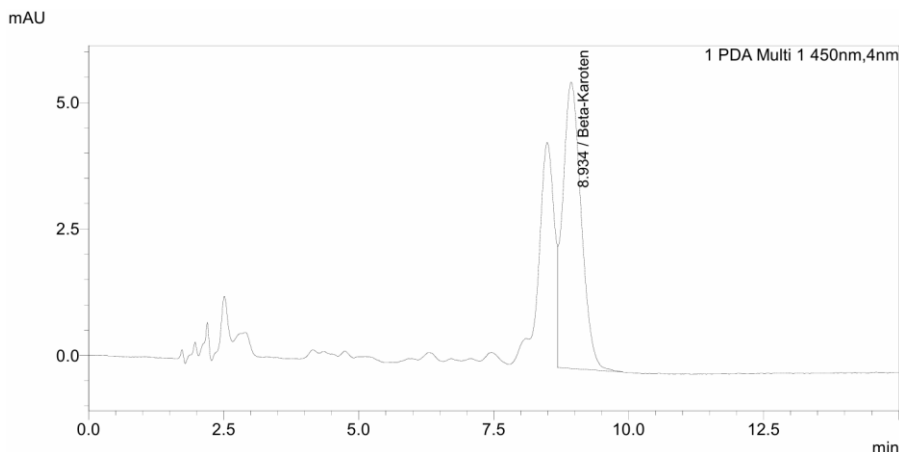


Gambar 19 Kromatogram MBA2

Perbedaan utama antara kedua formulasi terlihat pada nilai luas area kromatogram. Sampel MBA menghasilkan luas area rata-rata sebesar 160.878,33, sedangkan MC sebesar 134.077,95. Dalam analisis HPLC, luas area berbanding lurus dengan jumlah senyawa yang mencapai detektor. Oleh karena itu, area yang lebih besar pada MBA mengindikasikan bahwa konsentrasi β -karoten dalam sampel yang diinjeksikan lebih tinggi dibandingkan MC. Namun demikian, luas area tidak dapat digunakan secara langsung untuk menilai efisiensi proses ekstraksi secara keseluruhan. Luas area hanya merepresentasikan jumlah β -karoten dalam *aliquot* sampel yang dianalisis, sedangkan keberhasilan proses ekstraksi harus dievaluasi berdasarkan massa β -karoten yang berhasil diperoleh kembali (*recovered*) dari bahan baku awal. Oleh sebab itu, interpretasi luas area perlu dikombinasikan dengan data kadar β -karoten dan massa ekstrak yang dihasilkan untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai performa masing-masing formulasi NADES. Secara keseluruhan, hasil kromatografi menunjukkan bahwa kedua formulasi NADES mampu mengekstraksi β -karoten dari CPO dan menghasilkan puncak β -karoten yang teridentifikasi dengan baik. Keceragaman waktu retensi menunjukkan keandalan metode analisis, sedangkan perbedaan luas area mengindikasikan adanya perbedaan jumlah β -karoten yang terkandung dalam ekstrak hasil masing-masing formulasi.



Gambar 20 Kromatogram MC1



Gambar 21 Kromatogram MC2

4.7.3 Perbandingan Kadar β -Karoten Hasil HPLC

Berdasarkan hasil analisis HPLC, ekstrak hasil formulasi MBA menghasilkan kadar β -karoten sebesar $9,99 \pm 0,05$ mg/kg, lebih tinggi dibandingkan formulasi MC yang menghasilkan kadar β -karoten sebesar $8,37 \pm 0,01$ mg/kg. Perbedaan tersebut sejalan dengan nilai luas area kromatogram yang menunjukkan area rata-rata MBA lebih besar dibandingkan MC, yaitu masing-masing sebesar 160.878,33 dan 134.077,95. Luas area berbanding lurus dengan jumlah senyawa yang terdeteksi oleh detektor, hasil ini mengindikasikan bahwa konsentrasi β -karoten dalam ekstrak MBA lebih tinggi dibandingkan MC. Tingginya kadar β -karoten pada MBA diduga berkaitan dengan karakteristik *butiric acid* sebagai HBD yang mampu membentuk sistem eutektik hidrofobik dengan *menthol* serta meningkatkan afinitas pelarut terhadap senyawa karotenoid yang bersifat nonpolar. Interaksi tersebut memungkinkan β -karoten terlarut dalam jumlah yang lebih besar selama proses ekstraksi sehingga menghasilkan konsentrasi yang lebih tinggi pada ekstrak akhir. Meskipun demikian, selisih kadar β -karoten antara MBA dan MC relatif kecil, yaitu sekitar 1,62 mg/kg. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua formulasi memiliki kemampuan ekstraksi yang sebanding dalam mengekstraksi β -karoten dari CPO. Temuan tersebut juga konsisten dengan hasil seleksi formulasi sebelumnya, di mana baik MBA maupun MC menunjukkan performa ekstraksi yang lebih baik dibandingkan formulasi NADES lainnya sehingga dipilih untuk tahap optimasi dan analisis lanjutan.

Tabel 8 Profil HPLC ekstrak

Sampel	RT (menit)	Luas Area	β -Karoten (mg/kg)
MBA1	8,936	161.581,42	10,02
MBA2	8,936	160.175,23	9,95
MC1	8,933	134.024,81	8,36
MC2	8,934	134.131,09	8,37
MBA	8,936	160.878,33	$9,99 \pm 0,05$
MC	8,934	134.077,95	$8,37 \pm 0,01$

Selain itu, nilai standar deviasi yang rendah pada kedua formulasi menunjukkan reproduktibilitas analisis yang baik. Variasi kadar antara simplo dan duplo sangat kecil, yaitu hanya 0,05 mg/kg pada MBA dan 0,01 mg/kg pada MC, yang mengindikasikan kestabilan sistem analisis HPLC serta homogenitas sampel yang diuji. Menariknya, hasil HPLC menunjukkan kadar β -karoten yang lebih rendah dibandingkan estimasi karotenoid berdasarkan analisis spektrofotometri UV-Vis pada tahap *screening* awal. Perbedaan tersebut dapat terjadi karena pengukuran UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm tidak hanya mendeteksi β -karoten, tetapi juga senyawa karotenoid lain yang memiliki karakteristik serapan serupa. Sebaliknya, HPLC mampu memisahkan dan mengkuantifikasi β -karoten secara spesifik berdasarkan waktu retensi dan karakteristik spektrumnya. Oleh karena itu, hasil HPLC dianggap lebih representatif untuk menggambarkan kadar β -karoten aktual dalam ekstrak.

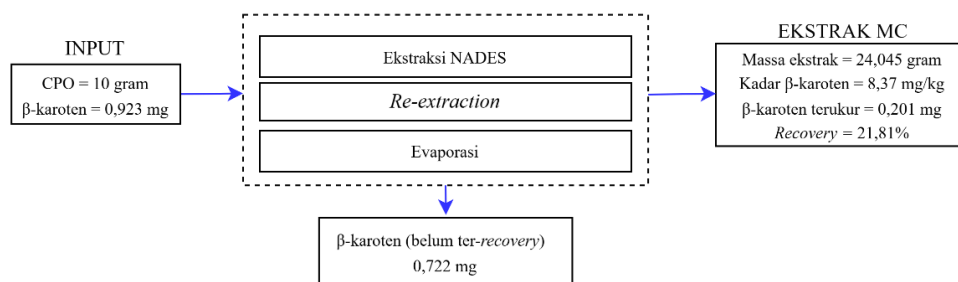
4.8 Recovery Hasil β -Karoten

Recovery β -karoten dihitung untuk mengevaluasi jumlah β -karoten yang berhasil diperoleh kembali setelah melalui tahapan ekstraksi, *re-extraction*, dan evaporasi. Perhitungan dilakukan dengan membandingkan massa β -karoten yang terukur pada ekstrak akhir terhadap massa β -karoten awal yang terdapat dalam CPO. Berdasarkan hasil analisis HPLC, kadar β -karoten pada ekstrak MBA dan MC masing-masing sebesar $9,99 \pm 0,045$ mg/kg dan $8,37 \pm 0,007$ mg/kg, dengan nilai *recovery* berturut-turut sebesar 20,18% dan 21,80%. Meskipun ekstrak MBA memiliki kadar β -karoten yang lebih tinggi dibandingkan MC, nilai *recovery* MC sedikit lebih besar karena massa ekstrak yang diperoleh setelah proses evaporasi lebih tinggi, yaitu 24,045 g dibandingkan 18,645 g pada MBA. Kondisi ini menunjukkan bahwa keberhasilan proses tidak hanya ditentukan oleh konsentrasi β -karoten dalam ekstrak, tetapi juga oleh jumlah ekstrak yang berhasil *direcovery* pada tahap akhir proses.

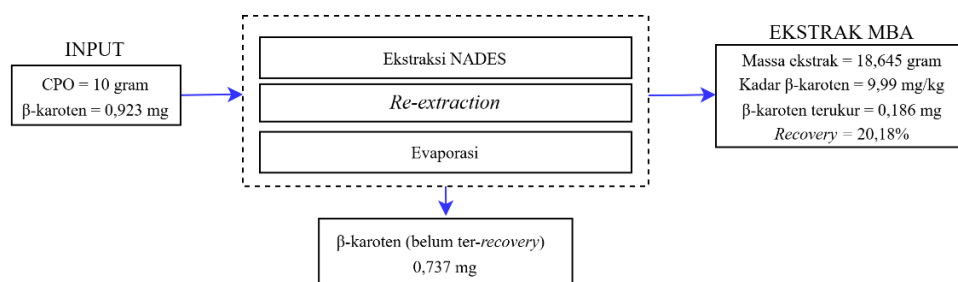
Tabel 9 Kadar β -karoten dan *recovery* ekstrak

Sampel	Kadar β -karoten (mg/kg)	Berat ekstrak (g)	<i>Recovery</i> (%)
MBA	$9,99 \pm 0,045$	18,645	20,18
MC	$8,37 \pm 0,007$	24,045	21,80

Diagram *recovery* β -karoten pada Gambar 22 dan Gambar 23, menunjukkan bahwa dari total β -karoten awal sebesar 0,923 mg dalam 10 g CPO, β -karoten yang berhasil terukur pada ekstrak MC dan MBA masing-masing sebesar 0,201 mg dan 0,186 mg. Sementara itu, fraksi β -karoten yang belum *ter-recovery* masing-masing sebesar 0,722 mg pada MC dan 0,737 mg pada MBA. Fraksi tersebut tidak dapat langsung diasumsikan sebagai β -karoten yang hilang, melainkan merepresentasikan β -karoten yang masih terdistribusi pada fase lain selama proses, seperti fase minyak, fase NADES, fase air, maupun yang tertinggal pada permukaan peralatan proses. Nilai *recovery* yang relatif rendah mengindikasikan bahwa proses ekstraksi dan *re-extraction* belum mampu memindahkan seluruh β -karoten dari sistem awal ke ekstrak akhir. Hal ini sejalan dengan karakteristik β -karoten yang sangat hidrofobik dan memiliki kecenderungan tetap berada pada fase nonpolar.



Gambar 22 Diagram *recovery* ekstrak MC



Gambar 23 Diagram *recovery* ekstrak MBA

Selain itu, proses perpindahan massa dalam sistem multikomponen seperti CPO-NADES-heksana sangat dipengaruhi oleh kesetimbangan distribusi senyawa, sehingga sebagian β -karoten masih dapat tertahan pada fase asal meskipun proses ekstraksi telah berlangsung. Temuan ini menunjukkan bahwa tahapan *re-extraction* memegang peranan penting dalam menentukan jumlah β -karoten yang dapat *direcovery* dari sistem ekstraksi berbasis NADES. Secara keseluruhan, formulasi MC memberikan performa terbaik dengan *recovery* tertinggi sebesar 21,80%, sedangkan MBA menghasilkan kadar β -karoten ekstrak yang sedikit lebih tinggi namun dengan *recovery* yang lebih rendah. Hasil ini mengonfirmasi bahwa formulasi *Menthol: Camphor* merupakan sistem NADES yang paling efektif dalam penelitian ini untuk memperoleh β -karoten dari CPO, baik ditinjau dari hasil seleksi formulasi, optimasi waktu ekstraksi, maupun *recovery* β -karoten setelah proses *re-extraction*.

4.9 Analisis Komponen Tersabunkan pada Ekstrak β -Karoten

Analisis bilangan penyabunan dilakukan untuk mengevaluasi keberadaan senyawa tersabunkan yang masih terdapat pada ekstrak hasil evaporasi. Bilangan penyabunan didefinisikan sebagai jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan satu gram sampel. Semakin tinggi nilai bilangan penyabunan, semakin banyak gugus ester atau trigliserida yang terdapat dalam sampel. Sebaliknya, nilai bilangan penyabunan yang rendah mengindikasikan rendahnya kandungan trigliserida dan tingginya proporsi komponen tak tersabunkan (*unsaponifiable matter*) (Ofori *et al.* 2023). Hasil pengujian menunjukkan bahwa CPO memiliki bilangan penyabunan sebesar $198,10 \pm 2,77$ mg KOH/g, yang masih berada pada kisaran karakteristik minyak sawit. Nilai ini jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak hasil evaporasi, yaitu $67,46 \pm 1,09$ mg KOH/g untuk MBA

dan $23,78 \pm 0,49$ mg KOH/g untuk MC. Apabila dibandingkan dengan CPO, nilai bilangan penyabunan ekstrak MBA hanya sekitar 34%, sedangkan ekstrak MC hanya sekitar 12% dari nilai awal CPO. Penurunan yang signifikan tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar komponen tersabunkan, terutama trigliserida, telah berhasil dipisahkan selama proses ekstraksi menggunakan NADES, diikuti proses *re-extraction* menggunakan heksana dan tahap evaporasi.

Tabel 10 Hasil bilangan penyabunan sampel

Kelompok Sampel	Sampel	Bilangan Penyabunan (mg KOH/g)
Kontrol Positif	CPO	$198,10 \pm 2,77$
Ekstrak β -karoten	MBA	$67,46 \pm 1,09$
Ekstrak β -karoten	MC	$23,78 \pm 0,49$

Perbedaan bilangan penyabunan antara ekstrak MBA dan MC menunjukkan bahwa komposisi NADES tidak hanya memengaruhi kemampuan ekstraksi β -karoten, tetapi juga memengaruhi komposisi kimia ekstrak akhir. Ekstrak yang diperoleh menggunakan formulasi MC memiliki bilangan penyabunan paling rendah, sehingga mengindikasikan bahwa kandungan komponen yang masih bereaksi dengan KOH jauh lebih sedikit dibandingkan ekstrak MBA. Ekstrak MC diduga memiliki tingkat kemurnian yang lebih tinggi terhadap fraksi tidak tersabunkan dibandingkan ekstrak MBA. Sebaliknya, nilai bilangan penyabunan MBA yang masih relatif lebih tinggi menunjukkan bahwa masih terdapat komponen yang dapat bereaksi dengan KOH di dalam ekstrak. Salah satu faktor yang diduga berkontribusi terhadap perbedaan tersebut adalah sifat kimia penyusun NADES. Formulasi MBA menggunakan *butyric acid* sebagai *hydrogen bond donor* (HBD), sedangkan formulasi MC menggunakan *camphor* yang merupakan senyawa golongan keton. Berbeda dengan *camphor* yang bersifat netral dan tidak bereaksi dengan KOH melalui reaksi netralisasi, *butyric acid* merupakan asam karboksilat yang masih dapat bereaksi dengan basa kuat seperti KOH. Oleh karena itu, apabila masih terdapat residu *butyric acid* yang terbawa selama proses ekstraksi maupun setelah tahap evaporasi, senyawa tersebut berpotensi meningkatkan konsumsi KOH pada saat analisis sehingga menghasilkan nilai bilangan penyabunan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak MC. Meskipun demikian, penelitian ini belum secara langsung mengidentifikasi keberadaan residu penyusun NADES di dalam ekstrak, sehingga dugaan tersebut masih memerlukan konfirmasi melalui analisis komposisi yang lebih spesifik, seperti FTIR, GC-MS, atau NMR.

4.10 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Karotenoid dengan Metode DPPH

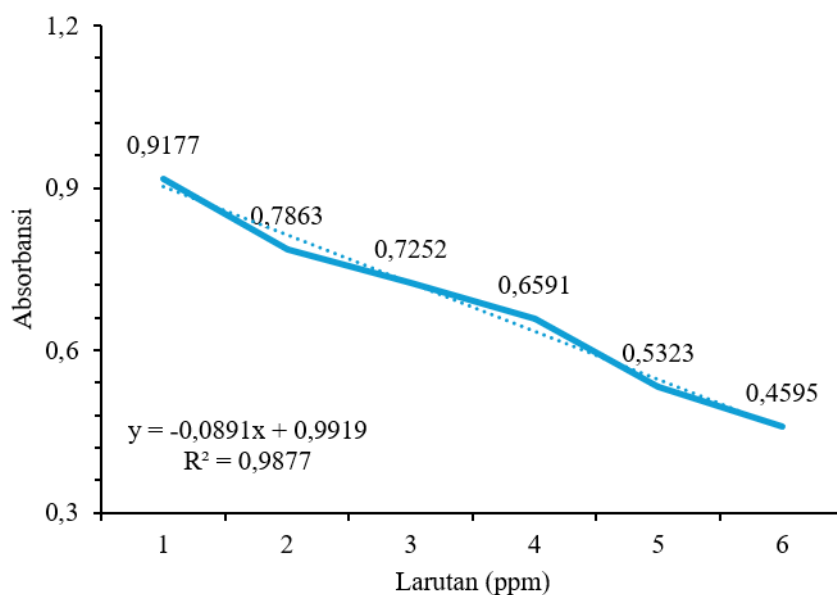
Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak yang diperoleh menggunakan NADES MC menghasilkan persen inhibisi sebesar $42,07 \pm 0,18\%$, sedangkan ekstrak yang diperoleh menggunakan MBA menghasilkan persen inhibisi sebesar $37,26 \pm 6,86\%$. Nilai standar deviasi yang relatif rendah pada sistem MC menunjukkan bahwa hasil pengujian memiliki tingkat reproduktibilitas yang lebih baik dibandingkan MBA, yang ditunjukkan oleh variasi antar ulangan yang lebih besar. Berdasarkan hasil tersebut, formulasi MC menghasilkan ekstrak dengan kemampuan penangkapan radikal bebas yang lebih tinggi dibandingkan MBA. Sebagai kontrol positif digunakan larutan standar asam askorbat yang menunjukkan

hubungan linear antara konsentrasi dan persen inhibisi dengan persamaan regresi $y = -0,0891x + 0,9919$ dan nilai koefisien determinasi ($R^2 = 0,9877$). Berdasarkan kurva standar tersebut, larutan asam askorbat pada konsentrasi 8 ppm menghasilkan persen inhibisi sebesar 41,61%, yang sangat mendekati persen inhibisi ekstrak MC sebesar 42,07%. Kesamaan nilai inhibisi tersebut menunjukkan bahwa ekstrak hasil ekstraksi memiliki kemampuan menangkap radikal bebas yang baik pada kondisi pengujian. Namun demikian, perbandingan tersebut dilakukan berdasarkan persen inhibisi dan tidak dimaksudkan untuk menyatakan kesetaraan aktivitas berdasarkan konsentrasi, mengingat sampel yang diuji merupakan ekstrak kompleks yang mengandung berbagai komponen bioaktif, sedangkan asam askorbat merupakan senyawa murni dengan konsentrasi yang diketahui secara pasti.

Tabel 11 Hasil pengujian aktivitas antioksidan sampel

Sampel	% Inhibisi
MC	42,07 ± 0,18
MBA	37,26 ± 6,86

Hasil analisis menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) menunjukkan bahwa ekstrak MC mengandung β -karoten sebesar 8,37 mg/kg, sedangkan ekstrak MBA mengandung β -karoten sebesar 9,99 mg/kg. Data tersebut mengonfirmasi bahwa kedua ekstrak mengandung β -karoten sebagai salah satu komponen bioaktif utama. Menariknya, meskipun ekstrak MBA memiliki kadar β -karoten sedikit lebih tinggi dibandingkan ekstrak MC, aktivitas antioksidan yang dihasilkan justru lebih rendah. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak tidak hanya dipengaruhi oleh kadar β -karoten, tetapi juga oleh komposisi senyawa bioaktif lain yang ikut terekstrak selama proses ekstraksi. *Crude Palm Oil* (CPO) diketahui mengandung berbagai senyawa antioksidan alami seperti α -karoten, tokoferol, tokotrienol, fitosterol, *squalene*, serta senyawa minor lipofilik lainnya yang masih mungkin terbawa ke dalam ekstrak (Zou *et al.* 2012). Oleh karena itu, aktivitas antioksidan yang diukur melalui metode DPPH pada penelitian ini merepresentasikan aktivitas antioksidan ekstrak secara keseluruhan, bukan aktivitas β -karoten sebagai senyawa tunggal.



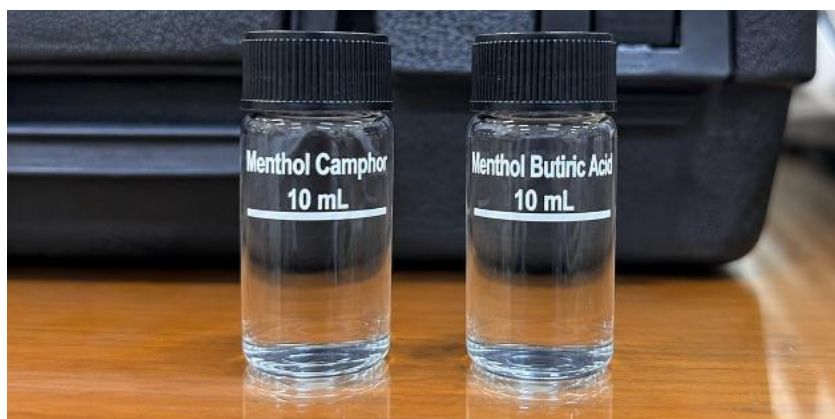
Gambar 24 Kurva standar asam askorbat
S

Selain komposisi senyawa yang terekstrak, karakteristik fisikokimia NADES juga diduga berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa formulasi MC memiliki sifat fisikokimia yang lebih mendukung proses ekstraksi dibandingkan MBA, terutama ditinjau dari *recovery* β -karoten, karakteristik optik, serta performa ekstraksi pada tahap optimasi. Perbedaan sifat tersebut diperkirakan memengaruhi selektivitas pelarut dalam mengekstraksi senyawa-senyawa bioaktif dari matriks CPO. Dengan demikian, formulasi MC tidak hanya mampu memisahkan β -karoten, tetapi juga diduga lebih efektif mempertahankan atau mengekstraksi senyawa antioksidan minor lain yang berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak. Interpretasi hasil DPPH pada penelitian ini juga perlu mempertimbangkan mekanisme kerja β -karoten sebagai antioksidan. Berbeda dengan asam askorbat yang bekerja terutama melalui mekanisme transfer elektron dan donor atom hidrogen, β -karoten merupakan antioksidan lipofilik yang secara alami lebih dominan bekerja melalui mekanisme *physical quenching* terhadap oksigen singlet serta penangkapan radikal peroksil (Terao 2023). Oleh karena itu, metode DPPH tidak secara spesifik mengukur aktivitas β -karoten, melainkan mengevaluasi kemampuan total ekstrak dalam mereduksi radikal DPPH. Pengujian DPPH dalam penelitian ini digunakan sebagai metode skrining aktivitas antioksidan ekstrak, sedangkan keberadaan β -karoten dikonfirmasi secara spesifik melalui analisis HPLC.

4.11 Karakteristik NADES Terpilih

Karakterisasi fisikokimia dilakukan terhadap dua formulasi NADES terpilih, yaitu MC dan MBA. Parameter yang diamati meliputi pH, densitas, viskositas, kekeruhan, dan indeks bias sebagaimana disajikan pada Tabel 12. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kedua NADES memiliki densitas yang relatif serupa, yaitu sekitar 897 kg/m³, serta kekeruhan 0 NTU yang mengindikasikan sistem pelarut jernih dan homogen. Perbedaan utama terletak pada nilai pH, viskositas, dan indeks

bias. Formulasi MBA memiliki pH lebih rendah (2,64) dibandingkan MC (3,62) akibat keberadaan gugus karboksilat pada asam butirat. Selain itu, MBA menunjukkan viskositas yang lebih rendah (0,00134 Pa.s) dibandingkan MC (0,00284 Pa.s), yang secara teoritis dapat meningkatkan mobilitas molekul dan perpindahan massa selama proses ekstraksi. Di sisi lain, MC memiliki indeks bias yang lebih tinggi (1,4614) dibandingkan MBA (1,4313), yang mengindikasikan kerapatan optik dan interaksi antarmolekul yang lebih kuat dalam sistem pelarut. Karakteristik tersebut diduga berkontribusi terhadap performa ekstraksi MC yang lebih baik dibandingkan MBA pada tahap optimasi sebelumnya. Secara keseluruhan, kedua NADES menunjukkan karakteristik fisik yang mendukung proses ekstraksi β -karoten, namun formulasi MC memberikan kombinasi sifat fisikokimia yang lebih sesuai untuk ekstraksi senyawa karotenoid dari CPO.



Gambar 25 Penampakan NADES terpilih

Tabel 12 Karakterisasi NADES terpilih

Parameter	MC	MBA
Suhu pengukuran (°C)	28,5	27,9
pH	3,62	2,64
Densitas (kg/m ³)	897	897,5
Viskositas (Pa.s)	0,00284 ± 0,000015	0,00134 ± 0,000035
Kekeruhan (NTU)	0	0
Indeks bias	1,4614	1,4313

V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa komposisi NADES memengaruhi distribusi β -karoten dalam sistem ekstraksi CPO. Formulasi NADES berbasis menthol menghasilkan performa ekstraksi yang lebih baik dibandingkan formulasi berbasis ChCl maupun *Betaine*-HCl. Hasil seleksi menunjukkan bahwa kombinasi MBA, dan MC dengan rasio molar 1:1 merupakan formulasi yang memberikan distribusi β -karoten lebih baik dan membentuk sistem ekstraksi yang stabil sehingga dipilih untuk tahap optimasi. Kondisi operasi berupa waktu ekstraksi juga memengaruhi distribusi β -karoten dalam sistem ekstraksi berbasis NADES. Setiap formulasi menunjukkan waktu optimum yang berbeda, yaitu 120 menit untuk MBA, 60 menit untuk MAA, dan 90 menit untuk MC. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa karakteristik masing-masing formulasi NADES berkaitan dengan waktu yang diperlukan untuk mencapai kondisi ekstraksi yang paling baik.

Berdasarkan keseluruhan hasil optimasi dan karakterisasi, faktor yang paling berkaitan dengan keberhasilan sistem ekstraksi pada penelitian ini adalah komposisi penyusun NADES dan kondisi operasi berupa waktu ekstraksi. Kedua faktor tersebut memengaruhi distribusi β -karoten, *recovery* ekstrak, kemurnian ekstrak yang ditunjukkan melalui bilangan penyabunan, serta aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan. Di antara seluruh formulasi yang diuji, MC dengan rasio molar 1:1 dan waktu ekstraksi 90 menit memberikan performa terbaik dengan *recovery* β -karoten sebesar 21,80%, bilangan penyabunan terendah sebesar $23,78 \pm 0,49$ mg KOH/g, serta aktivitas antioksidan sebesar $42,07 \pm 0,18\%$. Analisis HPLC mengonfirmasi keberadaan β -karoten pada ekstrak dengan waktu retensi sekitar 8,93 menit. Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa NADES berbasis *menthol*, khususnya formulasi *Menthol:Camphor*, berpotensi digunakan sebagai pelarut alternatif untuk ekstraksi β -karoten dari CPO karena mampu menghasilkan ekstrak yang mengandung β -karoten dengan *recovery* yang baik, tingkat kemurnian yang lebih tinggi berdasarkan hasil analisis bilangan penyabunan, serta aktivitas antioksidan yang tetap dapat dipertahankan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan optimasi parameter proses ekstraksi yang belum dievaluasi pada penelitian ini, seperti rasio CPO terhadap heksana, rasio NADES terhadap fase minyak, suhu ekstraksi, kecepatan pengadukan, serta jumlah siklus *re-extraction*, sehingga *recovery* β -karoten yang diperoleh dapat ditingkatkan. Selain itu, perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai pengaruh karakteristik penyusun NADES terhadap selektivitas ekstraksi dan tingkat kemurnian ekstrak, termasuk analisis kemungkinan adanya residu komponen NADES yang masih tertinggal pada ekstrak menggunakan metode karakterisasi seperti FTIR, GC-MS, atau NMR. Karakterisasi ekstrak juga perlu dikembangkan dengan mengidentifikasi komponen bioaktif lain yang turut terekstraksi, seperti α -karoten, tokoferol, tokotrienol, fitosterol, dan squalene, sehingga diperoleh informasi yang lebih komprehensif mengenai komposisi ekstrak serta kontribusi masing-masing

senyawa terhadap aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan juga disarankan menggunakan metode lain, seperti ABTS, ORAC, atau metode berbasis *singlet oxygen quenching*, sehingga aktivitas antioksidan ekstrak yang didominasi senyawa karotenoid dapat dievaluasi sesuai dengan mekanisme kerjanya. Selain itu, formulasi NADES terbaik yang diperoleh pada penelitian ini berpotensi dikembangkan lebih lanjut melalui kajian optimasi proses pada skala yang lebih besar sebagai dasar penerapan ekstraksi β -karoten berbasis NADES secara berkelanjutan.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC International. 2005. *Official Method 920.160: Saponification Number (Koettstorfer Number) of Oils and Fats*. In *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International.
- AOAC. 2005. *Official Method 938.04: Carotenoids in Macaroni Products*. In: *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18th Ed. Gaithersburg (US): AOAC International.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2021. *SNI 2901:2021 Tentang Minyak Kelapa Sawit Mentah (Crude Palm Oil)*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Chemat F, Vian MA, Cravotto G. 2012. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences*. 13(7):8615-8627.
- Dai Y, Spronsen JV, Witkamp GJ, Verpoorte R, Choi YH. 2013. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*. 766(1):61-68.
- [ISO] International Organization for Standardization. 2020. *ISO 3657: Animal and vegetable fats and oils-Determination of saponification value*. Geneva, Switzerland: ISO.
- Japir AAW, Salimon J, Derawi D, Bahadi M, Al-Shuja'A S, Yusop MR. 2017. Physicochemical characteristics of high free fatty acid crude palm oil. *OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids*. 24(5): 1-10.
- Kedare SB, Singh RP. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. 48(4):412-422.
- Ketaren S. 2012. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta (ID): UI Press.
- Koh QQ, Chew ZL, Zhao Y, Kua YL, Gan S, Tan KW, Lee TZE, Lau HLN. 2024. Formulation and characterization of natural deep eutectic solvents (NADES) for simultaneous phenolics and carotenes extraction from fresh oil palm leaf. *Food and Bioprocess Technology*. 147:459-473.
- Kurniawan D, Nora A, Sari RP. 2023. Product, process and net present worth analysis of a palm oil-based beta carotene industry. *International Journal of Applied Science and Engineering*. 20(3): 1-10.
- Mulia K, Krisanti EA, Andika G. 2018. Betain and alcohol-based deep eutectic solvents for vitexin extraction from binahong (*Anredera cordifolia*) leaves. *AJChE*. 2(18):1-6.
- Lavelli V, Sereikaite J. 2022. Kinetic study of encapsulated β -carotene degradation in dried systems: a review. *Foods*. 11(3):437.
- Lazzarini C, Casadei E, Valli E, Tura M, Ragni L, Bendini A, Toschi TG. 2022. Sustainable drying and green deep eutectic extraction of carotenoids from tomato pomace. *Foods*. 11(3):405.
- Manurung R, Naria E, Ilmi, Siregar AGA. 2025. Utilizing a deep eutectic solvent in carotene extraction technology with palm methyl ester oil to advance green technology. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*. 11(1):1-7.

- Nabu EBP, Sulaswatty A, Kartohardjono S. 2021. Palm carotene production technologies-A membrane perspective. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng.* 1053(1):012136
- Ng HM, Choo YM. 2016. Improved method for the qualitative analyses of palm oil carotenes using UPLC. *J Chromatogr Sci.* 54(4):633-638.
- Nizam A, K Muthiyah, Md. Apel Mahmud. 2020. Free fatty acid formation in oil palm fruits during storage. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.* 991(1):012009–012009..
- Nokkaew R, Punsuvon V, Inagaki T, Tsuchikawa S. 2019. Determination of carotenoids and DOBI content in crude palm oil by spectroscopy techniques: comparison of Raman and FT-NIR spectroscopy. *International Journal of GEOMATE.* 16(55):92–98.
- Nwosu F, Morris J, Lund VA, Stewart D, Ross HA, McDougall GJ. 2011. Anti-proliferative and potential anti-diabetic effects of phenolic-rich extracts from edible marine algae. *Food Chemistry.* 126(3):1006-1012.
- Ofori H, Bart-Plange A, Addo A, Dzisi KA. 2023. Impact of Different Oil Extraction Techniques on the Physicochemical Properties of Adansonia digitata Seed. *International Journal of Food Science.* 1(1):1-9.
- Paiva A, Craveiro R, Aroso I, Martins M, Reis RL, Duarte ARC. 2014. Natural deep eutectic solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering.* 2(5):1063-1071.
- S. M. M. Mortazavian, Nikkhah HR, Hassani FA, M. Sharif-al-Hosseini, Taheri M, M. Mahlooji. 2014. GGE Biplot and AMMI Analysis of Yield Performance of Barley Genotypes across Different Environments in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology.* 16(3):609-622.
- Saini RK, Keum YS. 2018. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry.* 240:90-103.
- Sari AE, Mayasari E. 2018. Analisa beta karoten pada sayuran lokal di Indonesia. *Jurnal Mitra Kesehatan.* 1(1):16-19.
- Sundalian M, Zainuddin A, Anita. 2022. Analysis of carotenoid composition in oil palm fruits (*Elaeis guineensis* Jacq.) from several varieties: a review. *Biointerface Research in Applied Chemistry.* 12(2):1470-1479.
- Terao J. 2023. Revisiting carotenoids as dietary antioxidants for human health and disease prevention. *Food & Function.* 14(1):1.
- Vanda H, Dai Y, Wilson EG, Verpoorte R, Choi YH. 2018. Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents. *Comptes Rendus Chimie.* 21(6):628-638.
- Vidoca LP, Almeida ES de, Cardoso MF, Otavio L, Valadares LF, Monteiro S. 2020. Extraction of carotene from crude hybrid palm oil using polymeric resin. *Journal of Food Engineering.* 278(1):1-10.
- Wijaya H, Wardayanie NIA, Astuti R., Lahiya RA. 2018. Isolasi senyawa β -karoten dari minyak kelapa sawit mentah (*Elaeis guineensis* Jacq.) dengan metode kromatografi kolom terbuka. *Journal of Agro-based Industry.* 35(2):78-84.
- Wunwisa P, Chaiseri S, Kaewkannetra P. 2019. Determination of deterioration of bleaching index and carotenoids in crude palm oil by fourier transform infrared spectroscopy. *International Journal of GEOMATE.* 16(55):92-98.

- Zhang Q, De Oliveira Vigier K, Royer S, Jérôme F. 2012. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*. 41(21):7108.
- Zou Y, Jiang Y, Yang T, Hu P, Xu X. 2012. Minor constituents of palm oil: characterization, processing, and application. *Elsevier eBooks*. 1(1):471-526.



RIWAYAT HIDUP



@Hak cipta milik penulis

Penulis dilahirkan di Tangerang pada 26 Juni 2004 sebagai anak pertama dari pasangan Almarhum Tagak Jonlenon Pasaribu, S.E. dan Erniwaty Pandiangan. Penulis menyelesaikan pendidikan menengah atas di SMAN 3 Kabupaten Tangerang pada tahun 2022. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswi Program Sarjana (S-1) Program Studi Teknik Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University. Selama menempuh pendidikan di IPB University, penulis aktif mengembangkan kompetensi akademik, kepemimpinan, penelitian, dan profesionalisme melalui berbagai kegiatan organisasi, kepanitiaan, asistensi, kompetisi, serta pengalaman industri. Penulis dipercaya sebagai Wakil Ketua Departemen *Academic and Student Achievement* Himpunan Mahasiswa Teknologi Industri periode 2023-2024, Ketua Divisi Perlombaan *Festival of Agroindustry* 2024, serta terlibat dalam berbagai program pengembangan kepemimpinan dan pengabdian mahasiswa. Penulis juga terpilih sebagai *Bakti Champion Ambassador* PT Bank Central Asia Tbk. dan menjadi *Awardee* Beasiswa Bakti BCA Tahun 2023-2024 serta *Awardee* Beasiswa Bank Indonesia Tahun 2025-2026, sebagai bentuk apresiasi atas prestasi akademik, kepemimpinan, dan kontribusi pengembangan diri. Dalam bidang akademik, penulis aktif sebagai Asisten Dosen mata kuliah Pengembangan Sumber Daya Manusia serta Asisten Praktikum mata kuliah Teknologi Informasi Komputasi, Analisis Bahan Agroindustri, dan Laboratorium Lingkungan di Departemen Teknik Industri Pertanian, IPB University. Melalui peran tersebut, penulis terlibat dalam pendampingan mahasiswa, evaluasi pembelajaran, serta mendukung pelaksanaan kegiatan praktikum dan perkuliahan.

Minat penulis pada bidang penelitian, rekayasa proses, dan agroindustri berkelanjutan diwujudkan melalui keikutsertaan dalam Lomba Riset Sawit Nasional Tingkat Mahasiswa yang diselenggarakan oleh Badan Pengelola Dana Perkebunan. Proposal penelitian yang diajukan berhasil masuk dalam Top 40 Proposal Terbaik dan memperoleh pendanaan penelitian dari Kementerian Keuangan Republik Indonesia. Selama proses tersebut, penulis berkesempatan berdiskusi dan berkolaborasi dengan berbagai pemangku kepentingan di sektor industri kelapa sawit dalam pengembangan inovasi proses yang berkelanjutan, seperti PTPN IV Regional VII Betung, *Indonesia Palm Oil Strategic Studies* (IPOSS), serta Pertamina Patra Niaga dalam pengembangan *Sustainable Aviation Fuel* (SAF) berbasis limbah cair kelapa sawit (POME). Dalam kompetisi tersebut, penulis juga meraih Penghargaan Best Poster Kategori Sosial, Ekonomi, Manajemen, Pasar, Teknologi Informasi, dan Komunikasi atas hasil penelitian yang dipresentasikan. Penulis juga menjadi Finalis *Packstar Student Competition 2025: Sustainable Packaging Design Challenge*, sebuah kompetisi nasional yang berfokus pada pengembangan inovasi kemasan berkelanjutan. Sebagai bentuk penguatan pengalaman profesional, penulis melaksanakan program magang pada Divisi *Quality Assurance* PT Syngenta Indonesia. Selama kegiatan tersebut, penulis terlibat dalam validasi proses *filling* dan *packing*, analisis kapabilitas proses, pengendalian mutu produk, serta evaluasi efisiensi proses produksi sesuai standar industri multi nasional. Pengalaman tersebut memperkaya pemahaman penulis mengenai implementasi pengendalian mutu dan rekayasa proses di dunia industri.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.