



PEMANFAATAN EKSTRAK ENZIM PROTEASE KAPANG *Rhizopus oligosporus*
UNTUK MEMPRODUKSI "VIRGIN COCONUT OIL"
SECARA ENZIMATIS

OLEH

HAFIZAH DWIENA ADHATYA
H 51101052



No. Inventaris	18-3-6
No. KLAS	Fah Mipq
	1 (satu) cy
	H
	598/18-3-6

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2006

PEMANFAATAN EKSTRAK ENZIM PROTEASE KAPANG *Rhizopus oligosporus*
UNTUK MEMPRODUKSI "VIRGIN COCONUT OIL"
SECARA ENZIMATIS

Skripsi untuk melengkapi tugas dan syarat
untuk memperoleh gelar sarjana

Oleh :

HAFIZAH DWIENA ADHATYA

H 51101052

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2006

PEMANFAATAN EKSTRAK ENZIM PROTEASE KAPANG *Rhizopus oligosporus*
UNTUK MEMPRODUKSI "VIRGIN COCONUT OIL"
SECARA ENZIMATIS

Disetujui oleh

Pembimbing Utama



Drs. M. Natsir Djide, M.S.
NIP : 130 785 083

Pembimbing Pertama



Drs. H. Fachruddin Tobo, Apt.
NIP : 130 369 546

Pembimbing Kedua



Dra. Jeanny Wunas, M.S.
NIP : 130 520 423

Pada tanggal : 16 Februari 2006

UCAPAN TERIMA KASIH



Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Sang Khalik, Allah SWT atas limpahan nikmat dan karuniaNya, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Drs. M. Natsir Djide, M.S. sebagai pembimbing utama, Bapak Drs. H. Fachruddin Tobo, Apt. sebagai pembimbing pertama dan Ibu Dra. Jeanny Wunas, M.S. sebagai pembimbing kedua.
2. Ketua Jurusan, Bapak dan Ibu Dosen, serta seluruh staf pegawai dan laboran di Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, khususnya di jurusan Farmasi.
3. Dosen Penanggung Jawab serta laboran pada Laboratorium Biokimia dan Kimia Dasar Jurusan Kimia serta Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA UNHAS
4. Bapak. Drs. Andi Ilham Makhmud, Dipl.Sc. selaku penasihat akademik
5. Ayahanda H.M. Mukhtar, S.E. dan Ibunda Hj. Hurriyatul Hayanie atas segala do'a, kasih sayang, kesabaran, dan kerja kerasnya yang tidak terbatas.
6. Seluruh keluarga besar H.M. Thabrani 'Arief dan H. Anwar. Saudara-saudaraku Mahrita Julia Hapsari & M. Ahsanul Huda, 'Iffah Hayati Savitrie dan Rahmani Azlan.

7. Teman-teman serta kakak-kakak yang ada di Samarinda, Balikpapan, Surabaya, Yogyakarta, Surakarta, Banjarmasin, dan Tanjung Redeb. Terima kasih atas bantuan sangat berharganya.
8. Rekan-rekan kerjaku : Evi Sulastri, M. Idrus, Jemmy Y. Yap dan Yandry R. Bunga untuk kerja samanya selama ini
9. Seluruh rekan-rekan angkatan 2001 dalam kebersamaan yang indah

Serta kepada semua pihak yang tidak dapat disebut satu per satu atas segala bantuan, baik moril maupun materil yang telah diberikan selama proses penelitian, pembuatan dan penyusunan tulisan bahkan selama penulis menuntut ilmu di UNHAS.

Penulis berharap semoga skripsi yang masih jauh dari kesempurnaan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak. Semoga Allah SWT senantiasa meridhoi dan menetapkan langkah-langkah kita di jalanNya. Amin

Makassar, Januari 2006

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian produksi "virgin coconut oil" secara enzimatik dengan memanfaatkan ekstrak enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus* yang diperoleh dari hasil fermentasi kapang tersebut pada substrat padat tepung kedelai. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak enzim protease tersebut dalam menghasilkan "virgin coconut oil" dengan parameter nilai rendamen dan kualitas minyak meliputi analisis sifat fisika, kimia, dan mikrobiologis berdasarkan standar yang ditetapkan oleh "Asian and Pacific Coconut Community (APCC)" mengenai "virgin coconut oil". Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rendamen minyak sebesar 18,37% b/b setelah inkubasi krim santan dengan ekstrak enzim protease dengan aktivitas 28,032 SAPU (kombinasi 10 krim santan:1 ekstrak enzim) selama 8 jam. Pengamatan organoleptis minyak menunjukkan cairan jernih tidak berwarna, bau dan rasa khas minyak kelapa (tidak tengik). Indeks bias 1,4484 dan berat jenisnya 0,9187. Kadar air 0,2% v/v, bilangan penyabunan 263,324 mg KOH/1 g minyak, bilangan asam 0,4093 mg KOH/1 g minyak, bilangan iodum 5,2920 g iod/100 g minyak, dan bilangan peroksida 1,2965 mEq/1 kg minyak. Seluruh karakteristik dan konstanta tersebut sesuai dengan standar kualitas yang ditetapkan oleh "Asian and Pacific Coconut Community (APCC)" mengenai "virgin coconut oil". Hasil analisis mikrobiologisnya, yang meliputi Angka Lempeng Total (ALT) $< 3,0 \times 10^3$ koloni/ml ($1,4 \times 10^3$ koloni/ml) tidak memenuhi standar kontaminasi yang ditetapkan oleh APCC, sedangkan jumlah total koloni kapang dan khamir $1,9 \times 10^2$ koloni/ml merupakan kualitas tersendiri dari "virgin coconut oil" hasil penelitian ini.

ABSTRACT

Protease enzyme was synthesized by filamentous fungi *Rhizopus oligosporus* in solid-substrate fermentation. It had been used to produce virgin coconut oil through enzymatic process. The aim of this research was getting the capacity of this sort protease enzyme in producing virgin coconut oil. The oil production was tested by standard of APCC (Asian and Pacific Coconut Community) which included physical, chemical, microbiological tested, and the oil yield value tests. Based on result of the research, it was determined that protease activity 28,032 SAPU. It was obtained 18,37 % w/w oil yield value after 8 hours coconut milk incubation with extract of protease enzyme which its combination 10:1. This fact was special quality of character for virgin coconut oil produced by this kind of process. The observation with oil organoleptic showed colorless transparent liquid, which has specific taste and aroma of coconut oil (not rancid). It refractive index was 1,4484 and its specific gravity was 0,9187. Its moisture content was 0,2% v/v, saponification value was 263,324 mg KOH / 1g oil, acid value was 0,4093 mh KOH / 1 g oil, iodine value was 5,2920 g iod/100 g oil, and peroxide value was 1,2965 mEq /1 kg oil. These character and constant fulfilled the regulation of virgin coconut oil quality by APCC. Microbial limit showed total bacteria plate count was $< 3,0 \times 10^3$ cfu/ml ($1,4 \times 10^3$ cfu/ml) which did not fulfill the quality standard of microbial contamination by APCC. Yeast and mould count showed $1,9 \times 10^2$ cfu/ml was special quality of character for virgin coconut oil. This fact then became the result of this research.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR SKEMA.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Minyak Kelapa Biasa dan “Virgin Coconut Oil”.....	5
II.2 Sifat Fisika-Kimia Minyak.....	7
II.3 Kerusakan Minyak.....	8
II.4 Sifat Fisika-Kimia “Virgin Coconut Oil”.....	9
II.5 Teknik Pengolahan “Virgin Coconut Oil”.....	10
II.6 Prinsip Pemecahan Emulsi Santan Dengan Teknik Enzimatis....	13
II.7 Enzim	
II.7.1 Enzim Sebagai Katalisator.....	13

II.7.2	Mekanisme Kerja Enzim.....	14
II.7.3	Aktivitas Enzim.....	15
II.7.4	Klasifikasi Enzim.....	16
II.8	Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	
II.8.1	Klasifikasi Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	17
II.8.2	Morfologi Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	17
II.8.3	Karakteristik Metabolisme Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	18
II.8.4	Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kapang dan Pembentukan Produk.....	19
II.8.5	Enzim Protease Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	22
II.8.6	Satuan Aktivitas Enzim Protease Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	23
II.9	Tumbuhan Kelapa	
II.9.1	Asal-Usul Tumbuhan Kelapa.....	24
II.9.2	Klasifikasi Tumbuhan Kelapa.....	25
II.9.3	Morfologi Tumbuhan Kelapa.....	25
II.9.4	Habitat Tumbuhan Kelapa.....	26
II.9.5	Kegunaan Tumbuhan Kelapa.....	26
II.10	Tanaman Kedelai	
II.10.1	Klasifikasi Tanaman Kedelai.....	26
II.10.2	Morfologi Tanaman Kedelai.....	27



BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

III.1.1 Alat yang digunakan.....	30
III.1.2 Bahan yang digunakan.....	31

III.2 Prosedur Kerja

III.2.1 Penyiapan Alat.....	33
III.2.2 Pengambilan Bahan Penelitian.....	33
III.2.3 Pembuatan Santan.....	33
III.2.4 Pemisahan Krim dan Skim Santan.....	34
III.2.5 Pembuatan Medium.....	34
III.2.6 Peremajaan Kapang.....	35
III.2.7 Pembuatan Substrat Medium Produksi Enzim.....	36
III.2.8 Pembuatan Suspensi Kapang.....	36
III.2.9 Perhitungan Jumlah Spora Kapang.....	36
III.2.10 Produksi Enzim.....	37
III.2.11 Ekstraksi Enzim.....	37
III.2.12 Pengujian Aktivitas Ekstrak Enzim Protease Kapang...37	
III.2.13 Pembuatan "Virgin Coconut Oil".....	40
III.2.14 Analisis "Virgin Coconut Oil"	
III.2.14.A Perhitungan Rendamen Produk.....	41
III.2.14.B Analisis Sifat Fisika "Virgin Coconut Oil"...41	
III.2.14.C Analisis Sifat Kimia "Virgin Coconut Oil"...43	

	III.2.14.D Analisis Mikrobiologis	
	“Virgin Coconut Oil”	51
	III.3 Pengumpulan dan Analisis Data.....	53
	III.4 Hasil dan Pembahasan.....	53
	III.5 Kesimpulan.....	53
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	
	IV.1 Hasil Penelitian.....	54
	IV.2 Pembahasan.....	55
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	
	V.1 Kesimpulan.....	68
	V.2 Saran.....	69
	DAFTAR PUSTAKA.....	70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Daging Buah Kelapa pada Berbagai Tingkat Kematangan.....	28
2. Kandungan Gizi Kedelai.....	29
3. Hasil Analisis “Virgin Coconut Oil”.....	54
4. Standar Mutu “Virgin Coconut Oil”	77
5. Hasil Perhitungan Jumlah Spora Suspensi Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	84
6. Nilai Serapan Ekstrak Enzim Protease pada $\lambda = 656 \text{ nm}$	84
7. Volume “Virgin Coconut Oil” dari 500 ml Krim Santan.....	85
8. Hasil Perhitungan ALT dan Jumlah Total Kapang dan Khamir “Virgin Coconut Oil”	86

DAFTAR SKEMA

Skema	Halaman
1. Proses Sintesis dan Ekstraksi Enzim Protease.....	74
2. Skema Kerja Pembuatan "Virgin Coconut Oil".....	75
3. Skema Kerja Analisis "Virgin Coconut Oil".....	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ekstrak Enzim Kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	90
2. “Virgin coconut oil” hasil produksi dengan metode enzimatis menggunakan ekstrak enzim protease kapang <i>Rhizopus oligosporus</i> masa inkubasi 8 jam.....	91
3. “Virgin Coconut Oil”.....	92
4. Buah Kelapa Utuh.....	93
5. Buah Kelapa (dari <i>endocarp</i> sampai <i>endosperm</i>).....	94

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Analisis "Virgin Coconut Oil".....	78
2. Spektrum Serapan larutan standar L-tyrosin 20 ppm.....	88
3. Spektrum Serapan Sampel.....	89
4. Definisi Operasional.....	95

BAB I

PENDAHULUAN

Kelapa (*Cocos nucifera*, Linn.) sangat populer di masyarakat karena memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia. Bagian terpenting dari kelapa adalah daging buahnya (*endosperm*) karena bagian tersebut dapat diolah menjadi berbagai produk seperti kopra, “dessicated coconut”, santan kelapa, dan minyak kelapa. Secara umum, minyak kelapa telah digunakan sebagai minyak makan dan keperluan pangan lainnya selama ribuan tahun dan sampai sekarang masih digunakan oleh masyarakat di daerah tropis. Pemanfaatan minyak kelapa untuk keperluan non-pangan antara lain semakin berkembang dalam produk kosmetika. Di bidang kesehatan, sampai sekarang khasiat kelapa untuk mendukung dan menjaga kesehatan telah semakin diakui (1, 2).

Keunikan dan sifat serba guna minyak kelapa ini didukung oleh komponen trigliserida yang menyusunnya. Kebanyakan minyak tidak mengandung “medium chain triglyceride” (MCT). Tetapi, minyak kelapa unik karena mengandung sumber MCT alami yang paling tinggi. Trigliserida terdiri atas 96% asam lemak. Asam lemak penyusun minyak kelapa terdiri atas 80% asam lemak jenuh (“saturated fatty acid”) dan 20% asam lemak tidak jenuh (“unsaturated fatty acid”), dimana 63,50% asam lemak jenuhnya adalah dari golongan rantai medium (“medium chain saturated fatty acid”) dengan dominasi asam laurat sebanyak 48% (1).

Pengolahan minyak kelapa secara tradisional yang biasa dilakukan di masyarakat dengan memanaskan atau memasak santan dalam jangka waktu lama (2-

3 jam) dengan suhu yang tak terkontrol menghasilkan minyak yang berwarna kecoklatan dengan kadar air dan asam lemak bebas tinggi sehingga daya simpannya tidak tahan lama dan cepat tengik. Sedangkan minyak kelapa biasa atau minyak RBD (“refined, bleached, deodorized”) yang diolah dari kelapa kopra melibatkan proses penyulingan dengan suhu tinggi dan penambahan bahan kimia tertentu bahkan kadang-kadang melalui tahap hidrogenasi dulu sehingga menghasilkan asam lemak trans yang berakibat buruk terhadap kesehatan. Karakteristik tersebut berkebalikan dengan “virgin coconut oil” (vco) dimana hal ini ditentukan oleh bahan baku daging kelapa yang digunakan dan metode produksinya (1, 2).

Kelapa yang digunakan untuk produksi vco dipilih berupa daging buah kelapa tua segar (non-kopra). Daging buah kelapa segar kaya akan lemak dan karbohidrat serta protein dalam jumlah cukup. Sedangkan kandungan lemak dalam daging buah kelapa meningkat dengan semakin bertambahnya umur buah dan mencapai maksimal pada umur 12 bulan. Untuk jenis kelapanya dipilih dari jenis kelapa dalam (kelapa yang tumbuh dengan sendirinya di daerah pesisir dan pegunungan). Tidak disarankan menggunakan jenis kelapa hibrida karena kelapa ini telah melalui proses mutasi gen dan persilangan dengan kondisi dan nutrisi kimia serta pestisida tertentu sehingga dikhawatirkan akan menimbulkan adanya perubahan pada residu kimia dalam buah kelapa (1, 3).

Teknik enzimatis dianggap lebih baik dibanding metode dingin (tanpa pemanasan) lainnya dalam memproduksi “virgin coconut oil” karena tetap mempertahankan kualitas vco (khususnya kestabilan kuantitas asam laurat) selama

penyimpanan berbulan-bulan. Selain itu, waktu inkubasi juga lebih efisien. Pada prinsipnya, metode produksi vco dengan teknik enzimatik dilakukan dengan menggunakan enzim secara langsung yang diekstraksi dari mikroba tertentu untuk memecah protein yang berikatan dengan minyak dan karbohidrat sehingga minyak dapat terpisah dengan baik (1, 4).

Kapang *Rhizopus oligosporus* diketahui dapat mensintesis enzim penghidrolisis beberapa jenis lipid, polisakarida (α -amilase), dan protein (6). Spesies ini adalah salah satu dari spesies yang aman di antara spesies lainnya yang bersifat potensial oportunistik atau potensial patogen dan bahkan memang sengaja dikoleksi biakan murninya untuk kemudian digunakan sebagai inokulum pada kultur starter tempe. Terdapat pula penelitian yang menunjukkan bahwa enzim protease dari kapang ini memiliki aktivitas proteolitik yang tinggi (5, 6, 7).

Pertumbuhan kapang menyerupai sifat pertumbuhannya di alam pada fermentasi menggunakan media padat dengan kelembaban tinggi. Karena itulah, dengan jenis medium ini sering diperoleh enzim-enzim spesifik yang sulit dihasilkan dalam kultur cair (8). Dari hasil penelitian, jenis medium ini berpotensi untuk menghasilkan lebih banyak enzim protease. Secara ekonomis, jenis medium ini mendorong beberapa keuntungan, termasuk diantaranya produktivitas yang lebih tinggi secara volumetrik, penggunaan peralatan yang lebih sederhana, penggunaan substrat yang murah, kecilnya jumlah energi yang dibutuhkan dan rendahnya jumlah limbah (7).



Pada penelitian oleh Haq, I.L., *et al* produksi enzim protease oleh *Rhizopus oligosporus* IHS₃ dengan menggunakan tepung kedelai menghasilkan aktivitas enzim kedua terbaik (4,0 U/ml) setelah tepung biji bunga matahari. Hal ini disebabkan bahan tersebut mampu menyuplai protein, karbohidrat, dan berbagai mineral dalam jumlah yang mencukupi yang dibutuhkan oleh kapang tersebut (7). Selain itu, tepung kedelai mudah didapatkan dan terjangkau harganya.

Berdasarkan uraian tersebut, maka telah diadakan penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus* untuk memproduksi "virgin coconut oil" secara enzimatis. Maksud penelitian ini adalah memanfaatkan enzim protease yang dihasilkan oleh kapang *Rhizopus oligosporus* pada fermentasi substrat padat tepung kedelai untuk memproduksi "virgin coconut oil". Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak enzim protease tersebut dalam menghasilkan "virgin coconut oil" dengan parameter nilai rendamen dan kualitas minyak meliputi analisis sifat fisika, kimia, dan mikrobiologis berdasarkan standar yang ditetapkan oleh "Asian and Pacific Coconut Community (APCC)" tentang "virgin coconut oil".

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Minyak Kelapa Biasa dan “Virgin Coconut Oil” (1)

Minyak kelapa umumnya dibagi ke dalam dua kategori utama yaitu minyak kelapa biasa (“Refined, Bleached, and Deodorized oil” atau “RBD oil”) dan “virgin coconut oil” atau vco. Perbedaan di antara keduanya bergantung pada jenis bahan baku dan jumlah pemrosesan yang dialami minyak tersebut. Hasil minyak yang diperoleh pun tentunya memberikan sifat organoleptis yang berbeda.

Istilah “virgin” digunakan untuk membedakan bahwa minyak yang dihasilkan berbeda dengan minyak kelapa konvensional yang diolah dari bahan baku kelapa segar tanpa melalui proses penyulingan, yang berarti suhu prosesnya lebih rendah dan tanpa penggunaan bahan kimia.

“Virgin coconut oil” hanya dapat diperoleh dari daging buah kelapa tua segar (baru dipetik atau non-kopra). Pada proses pemurnian minyak selanjutnya tidak melibatkan bahan-bahan kimia ataupun pemanasan tinggi, karena itulah, “virgin coconut oil” bukan hanya menghasilkan MCT (“medium chain triglyceride”), tetapi juga dapat mempertahankan keberadaan vitamin E dan enzim-enzim yang terkandung dalam daging buah kelapa sehingga sangat stabil dan memiliki masa pemakaian dalam jangka waktu beberapa tahun serta masih mempertahankan struktur fitokimianya yang

terjadi secara alami dimana kemudian menghasilkan rasa dan bau kelapa yang unik. Apabila beku warnanya putih murni dan jika dalam keadaan cair tidak berwarna atau bening.

Minyak kelapa biasa, yang merupakan minyak komersil, kebanyakan dibuat dari kopra. Minyak inilah yang paling umum digunakan sebagai bahan baku untuk industri kosmetik dan makanan. Pada dasarnya, kopra adalah daging kelapa yang dikeringkan. Proses pengeringan ini dapat melalui metode pengasapan kering, penjemuran pada cahaya matahari, atau pemanasan dalam sebuah "kiln drying" (penjemuran), atau modifikasi metode atau dengan mengkombinasi ketiga metode tersebut. Jika kopra standar digunakan sebagai bahan baku maka minyak kelapa mentah yang didapat tidak baik untuk dikonsumsi dan harus melalui tahapan pemurnian lebih dulu, yaitu dengan jalan penyulingan. Hal ini dikarenakan proses pengeringan kopra yang tidak sehat dimana sebagian besar kopra dikeringkan dengan metode penjemuran langsung di bawah cahaya matahari dengan udara terbuka sehingga daging buah kelapa dapat langsung terkontaminasi oleh serangga dan jamur.

Minyak kelapa standar yang didapatkan dari bahan baku kopra sebelumnya harus melalui tahap pemurnian ("refining"), pemucatan ("bleaching"), dan penghilangan bau ("deodorized"). Karena itulah disebut dengan minyak RBD. Tahap pemurnian dilakukan dengan proses penyulingan. Suhu pemanasan minyak yang tinggi juga bertujuan untuk menghilangkan bau dari minyak. Untuk menghilangkan pengotoran, minyak

terjadi secara alami dimana kemudian menghasilkan rasa dan bau kelapa yang unik. Apabila beku warnanya putih murni dan jika dalam keadaan cair tidak berwarna atau bening.

Minyak kelapa biasa, yang merupakan minyak komersil, kebanyakan dibuat dari kopra. Minyak inilah yang paling umum digunakan sebagai bahan baku untuk industri kosmetik dan makanan. Pada dasarnya, kopra adalah daging kelapa yang dikeringkan. Proses pengeringan ini dapat melalui metode pengasapan kering, penjemuran pada cahaya matahari, atau pemanasan dalam sebuah "kiln drying" (penjemuran), atau modifikasi metode atau dengan mengkombinasi ketiga metode tersebut. Jika kopra standar digunakan sebagai bahan baku maka minyak kelapa mentah yang didapat tidak baik untuk dikonsumsi dan harus melalui tahapan pemurnian lebih dulu, yaitu dengan jalan penyulingan. Hal ini dikarenakan proses pengeringan kopra yang tidak sehat dimana sebagian besar kopra dikeringkan dengan metode penjemuran langsung di bawah cahaya matahari dengan udara terbuka sehingga daging buah kelapa dapat langsung terkontaminasi oleh serangga dan jamur.

Minyak kelapa standar yang didapatkan dari bahan baku kopra sebelumnya harus melalui tahap pemurnian ("refining"), pemucatan ("bleaching"), dan penghilangan bau ("deodorized"). Karena itulah disebut dengan minyak RBD. Tahap pemurnian dilakukan dengan proses penyulingan. Suhu pemanasan minyak yang tinggi juga bertujuan untuk menghilangkan bau dari minyak. Untuk menghilangkan pengotoran, minyak

jenis, indeks bias, titik asap, titik nyala, dan titik api, titik kekeruhan, titik didih, kelarutan, dan kekentalan. Sedangkan tinjauan sifat kimia minyak antara lain bilangan iod, bilangan asam, bilangan peroksida, bilangan penyabunan, bilangan Reichert-Meissl, bilangan Polenske, bilangan Krischner, bilangan Hehner dan bilangan Peroksida.

II.3 Kerusakan Minyak (1, 2, 9)

Kerusakan pada minyak adalah indikasi menurunnya mutu minyak. Hal ini dapat mengakibatkan menurunnya nilai gizi, rasa dan bau alami dari minyak. Umumnya, kerusakan pada minyak berupa ketengikan, yang diartikan sebagai kerusakan atau perubahan bau dan rasa ("flavour") dalam minyak. Tetapi, bau dan rasa yang berubah tidak enak belum tentu menandakan menurunnya mutu minyak, karena ada juga minyak yang tidak berbau tengik tetapi mutunya ternyata menurun.

Sifat dan daya tahan minyak terhadap kerusakan sangat tergantung dari komponen penyusunnya, terutama kandungan asam lemaknya. Minyak yang mengandung asam lemak tidak jenuh cenderung mudah teroksidasi, sedangkan minyak yang mengandung lebih banyak asam lemak jenuhnya lebih mudah terhidrolisis. Asam lemak umumnya bersifat semakin reaktif terhadap oksigen.

Komponen yang terbentuk pada kerusakan minyak atau lemak antara lain campuran aldehid, keton, asam-asam oksidasi dan hidroksi, serta asam lemak

bebas dengan berat molekul rendah. Komponen inilah yang menyebabkan rasa getir dan bau tengik pada minyak yang tidak dikehendaki.

Secara umum, ada tiga penyebab ketengikan pada minyak, yaitu ketengikan oksidatif, ketengikan hidrolisis dan ketengikan disebabkan oleh reaksi enzimatis.

II.4 Sifat Fisika-Kimia "Virgin Coconut Oil" (1)

"Virgin coconut oil" yang dibuat dari kelapa segar berwarna putih murni ketika minyak dipadatkan dan jernih kristal seperti air ketika dicairkan. Salah satu perbedaan utama antara "virgin coconut oil" dan minyak kelapa RBD adalah dalam hal bau ("scent") dan rasa ("taste"). Semua produk "virgin coconut oil" mempertahankan bau dan rasa kelapa segar, sedangkan minyak kelapa yang berasal dari kopra tidak berasa akibat proses pemurnian. Minyak kelapa RBD terasa lunak (hambar), sedangkan "virgin coconut oil" mempunyai rasa dan aroma yang cukup enak karena masih mengandung zat-zat fitonutrien alami dari kelapa. Bau atau aroma ini ditimbulkan oleh senyawa nonil metil keton.

"Virgin coconut oil" selalu memiliki bilangan asam, asam lemak bebas, angka tak tersaponifikasi, dan bilangan peroksida yang rendah dibandingkan dengan minyak kelapa biasa. Sifat kimia tersebut menunjukkan bahwa produk lebih tahan terhadap ketengikan dibandingkan minyak kelapa biasa.

II.5 Teknologi Pengolahan "Virgin Coconut Oil" (1)

Berbagai alternatif teknologi untuk menghasilkan "virgin coconut oil" telah tersedia. Umumnya dengan menggunakan pemanasan minimal (pada suhu rendah). Teknologi pengolahan "virgin coconut oil" yang berkembang di Indonesia saat ini secara garis besar menggunakan prinsip dari kedua metode utama di bawah ini:

1. Penggilingan Basah

Metode ini mengekstraksi minyak kelapa dari daging kelapa segar tanpa proses pengeringan terlebih dahulu. Santan dikeluarkan dengan pemerasan kemudian minyak dipisahkan dari fase air. Metode yang digunakan untuk memisahkan minyak dari air adalah dengan perebusan, pendinginan, dan sentrifugasi menggunakan alat mekanis.

2. Metode Fermentasi (Enzimatis) atau Fermentasi Spontan

Metode ini pun mengekstraksi minyak kelapa dari daging kelapa segar tanpa proses pengeringan terlebih dahulu. Santan dikeluarkan dari kelapa yang baru dipetik difermentasi selama 24-36 jam. Selama waktu tersebut, air terpisahkan dari minyaknya. Selanjutnya, minyak dipanaskan dalam waktu singkat guna menghilangkan kandungan airnya, kemudian disaring.

Dari beberapa proses yang dikembangkan tersebut dapat dibagi lagi dalam 3 proses sebagai berikut :

1. Pemanasan Bertahap

Ini merupakan metode pengembangan dari metode penggilingan basah. Pemisahan minyak dari air dilakukan dengan proses pemanasan bertahap dengan memanaskan krim santan sampai terbentuk "blondho" dalam wajan pada suhu 100-110°C. Minyak yang didapat dipisahkan dari "blondho" dengan penyaringan. Minyak ini kemudian dipanaskan lagi pada suhu yang sama. Terakhir, minyak perlu disaring kembali. Jumlah energi yang digunakan pada metode ini tidak terkendali dengan baik karena pemanasan dilakukan secara bertahap dengan wajan, menggunakan suhu tinggi, serta prosesnya yang panjang.

2. Fermentasi dan Enzimatis (1, 4, 10, 11)

Teknik fermentasi menggunakan sel hidup seperti mikroba penghasil enzim tertentu, sementara teknik enzimatis menggunakan enzim dalam mikroba yang telah "dikeluarkan" sehingga tidak ada lagi sel-sel yang hidup.

Enzim tersebut berfungsi untuk memecah protein yang berikatan dengan minyak dan karbohidrat sehingga minyak dapat terpisah dengan baik. Jenis enzim tersebut antara lain adalah enzim penghidrolisis emulsi pengikat minyak dalam santan atau enzim fermentatif karbohidrat. Karena pada prinsipnya, santan kelapa merupakan bentuk emulsi dari minyak dalam air yang sangat kuat

disebabkan adanya protein dan karbohidrat sebagai penstabil emulsi (emulgator). "Virgin coconut oil" dari santan didapatkan dengan prinsip menghilangkan fungsi protein sebagai emulgator.

Secara prinsip, metode ini adalah pengembangan dari metode fermentasi spontan. Santan yang didapat dibiarkan dahulu sampai terbentuk bagian yang kentalnya, disebut krim santan. Krim ini kemudian ditambahkan dengan enzim pemecah emulsi ataupun dengan ragi (mikroba fermentatif karbohidrat) dan difermentasikan selama 10-14 jam (waktu fermentasi relatif lebih singkat dari fermentasi spontan.)

3. Pemancingan

Prinsip metode ini adalah dengan mengubah bentuk emulsi air-minyak menjadi minyak-minyak dengan cara menambahkan dan mengaduk krim santan dengan "virgin coconut oil" yang sudah jadi dengan perbandingan 3:1 dan didiamkan selama 6-7 jam sampai terbentuk lapisan minyak.

Selain metode-metode di atas, terdapat metode lainnya yang masih jarang dilakukan di Indonesia yaitu dengan proses mekanis. Metode ini pada prinsipnya dilakukan dengan pengeringan cepat buah kelapa segar menggunakan alat pengering. Pemanasan dilakukan pada suhu seminimal mungkin. Selanjutnya minyak diperas keluar secara mekanis.

II.6 Prinsip Pemecahan Emulsi Santan Dengan Teknik Enzimatis (1,10, 11)

Santan kelapa adalah salah satu bentuk emulsi dari minyak dalam air yang sangat kuat karena adanya protein dan karbohidrat sebagai penstabil emulsi (emulgator). Minyak kelapa yang diproses dari bentuk santan didapatkan dengan beberapa cara dalam prinsip penghilangan fungsi protein.

Dengan prinsip enzimatis, enzim tersebut berfungsi untuk memecah protein yang berikatan dengan minyak dan karbohidrat sehingga minyak dapat terpisah dengan baik (enzim penghidrolisis protein), dengan menghidrolisis gugus karbohidrat (polisakarida) sehingga melemahkan kekuatan emulgator yang berlanjut dengan fermentasi lanjutan oleh enzim fermentatif alamiah dalam daging buah kelapa yang akan menghasilkan metabolit asam, ataupun dengan enzim fermentatif karbohidrat yang akan menguraikan karbohidrat dengan prinsip oksidasi anaerobik atau parsial anaerobik menjadi senyawa glukosa (monosakarida) dimana selanjutnya penguraian glukosa lebih lanjut akan menghasilkan alkohol dan asam yang akan menurunkan pH campuran. Dengan turunnya pH, maka protein akan menggumpal dan terjadilah pemecahan emulsi santan. Proses ini ditampakkan dengan terjadinya pemisahan antara fase air, minyak dan protein.

II.7 Enzim

III.7.1 Enzim sebagai Katalisator

Sebagai katalis, enzim memberikan suatu mekanisme reaksi yang lain, yang lebih rendah energi aktivasinya dan dengan demikian

reaksi berlangsung cepat. Enzim bergabung dengan substansinya (substrat) membentuk suatu status transisi yang membutuhkan energi aktivasi lebih kecil untuk berlangsungnya reaksi kimiawi tersebut (12).

Sifat-sifat yang khas dari enzim adalah sebagai berikut (13):

1. Enzim meningkatkan laju reaksi pada kondisi biasa (fisiologis) dari tekanan, suhu, dan pH.
2. Enzim berfungsi dengan selektifitas dan spesifitas yang tinggi terhadap reaktan yang dikerjakan dan jenis reaksi yang dikatalisis, sehingga reaksi bersaing dan reaksi samping tidak teramati.
3. Enzim memberikan peningkatan laju reaksi yang luar biasa dibanding katalis biasa.

II.7.2 Mekanisme Kerja Enzim (12)

Pokok dari teori mekanisme kerja enzim adalah konsep aktivasi substrat yang terjadi setelah pembentukan kompleks enzim substrat (ES). Aktivasi memungkinkan substrat diubah oleh kerja enzim. Terjadinya aktivasi molekul substrat ini disebabkan oleh afinitas kimiawi substrat yang tinggi terhadap daerah-daerah tertentu pada permukaan enzim yang disebut situs aktif. Ketegangan atau distorsi yang dihasilkan pada beberapa ikatan pada molekul substrat membuatnya labil, dan karenanya mengalami perubahan

sebagaimana ditentukan oleh enzim yang bersangkutan. Molekul-molekul yang telah mengalami perubahan tersebut tidak lagi mempunyai afinitas terhadap situs aktif tadi dan karenanya dilepaskan. Enzim kemudian bebas untuk kemudian bergabung lagi dengan substrat berikutnya dan demikianlah proses tersebut berulang.

II.7.3 Aktivitas Enzim

Setiap enzim spesifik untuk reaksi tertentu karena setiap enzim memiliki deret asam amino yang unik yang menyebabkan enzim mempunyai struktur tiga dimensi yang unik pula. Pusat aktif enzim adalah bagian dari enzim yang berinteraksi dengan substrat, jadi setiap substansi yang menghalangi atau mengubah bentuk pusat aktif akan mempengaruhi aktivitas enzim. Beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim antara lain konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, pH, aktivator, inhibitor enzim (13).

Penting untuk membuat batasan mengenai aktivitas enzim. Satuan konsentrasi molar tidak selalu sesuai bagi enzim, karena bobot molekul protein yang bersangkutan mungkin tidak dikenal (14).

“Comission on Enzymes of The International Union of Biochemistry (CEIUB)” menetapkan bahwa 1,0 unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan perubahan



1,0 mikromol substrat per menit pada 25°C pada keadaan pengukuran normal (14).

II.7.4 Klasifikasi Enzim (12)

Terdapat 6 kelas utama enzim pada pembagian menurut IEC ("International Enzymes Comitte") berdasarkan reaksi yang dikatalisisnya :

1. Oksidoreduktase, yaitu enzim yang bertindak sebagai katalis dalam reaksi reduksi atau oksidasi
2. Transferase, yaitu enzim yang ikut serta dalam reaksi pemindahan suatu radikal atau gugus fungsional
3. Hidrolase, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis substrat atau pemecahan substrat dengan bantuan molekul air
4. Liase, yaitu enzim yang aktif dalam pemecahan ikatan C-C dan ikatan C-O tanpa menggunakan molekul air
5. Isomerase, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi perubahan konfigurasi molekul dengan cara pengaturan kembali atom-atom dalam molekul substrat, sehingga menghasilkan molekul baru yang merupakan isomer dari substrat yang bersangkutan.
6. Ligase, yaitu enzim yang mengkatalisis penggabungan dua molekul (pembentukan ikatan disertai pemecahan atau penambahan ATP)

II.8 Kapang *Rhizopus oligosporus*

II.8.1 Klasifikasi *Rhizopus oligosporus* (15)

Regnum	: Plantae
Divisi	: Mycota
Sub divisi	: Eumycotina
Kelas	: Zygomycetes
Bangsa	: Mucorales
Suku	: Mucoraceae
Marga	: <i>Rhizopus</i>
Jenis	: <i>Rhizopus oligosporus</i>

II.8.2 Morfologi *Rhizopus oligosporus* (16)

Koloni *Rhizopus oligosporus* Saito berwarna abu-abu kecoklatan pucat, dengan tinggi koloni sekitar 1 mm atau lebih. Sporangioformya dalam keadaan tunggal atau berkelompok dengan jumlah lebih dari 4 (6), tumbuh sebagai suatu subhialin terhadap hifa berwarna kecoklatan yang berlawanan arah tumbuhnya dengan rhizoid-rhizoid berukuran sangat pendek, dindingnya bertekstur halus atau kasar, dengan panjang lebih dari 1000 μm dan diameternya 10-18 μm . Sporangianya berbentuk bulat, berwarna hitam kecoklatan saat matang, dengan diameter (50) 100-180 μm . Kolumelanya berbentuk bulat sampai *subglobose* dengan apofisis berbentuk corong. Bentuk sporangiosporanya tidak tentu, bulat, elips, dengan panjang 7-10

(24) μm , massanya berwarna coklat, tunggal, subhialin, dindingnya bertekstur halus. Chlamidosporanya berlimpah, membentuk rantai pendek ataupun dalam keadaan tunggal saja, tidak berwarna, mengandung massa granular, terdapat pada hifa, sporangiofor dan sporangia, dengan bentuk bulat, bulat telur, silinder, dengan panjang 7-30 μm atau 12-45 x 7-35 μm . Sporangiosporanya *non-striate*, dengan bentuk tidak tentu atau *subglobose*. Panjang sporangiofor tidak lebih dari 1 mm. Chlamidosporanya berlimpah.

Temperatur optimum 30 – 35°C; minimum 12°C; maksimum 42°C.

Habitat : dikenal dari Jepang, Cina, Indonesia.

Diisolasi dari tempe.

II.8.3 Karakteristik Metabolisme *Rhizopus oligosporus* (5, 7)

Rhizopus oligosporus adalah suatu mikroorganisme yang termasuk dalam kategori "GRAS-organism (generally regarded as safe)". Kapang berfilamen ini berperan dalam mensintesis lebih banyak enzim protease pada pembuatan tempe (kultur media padat dari berbagai jenis kacang-kacangan). Sepanjang proses fermentasi tempe, spesies ini mensintesis berbagai jenis enzim, yang meghidrolisis bahan baku tempe dan mengubah tekstur, rasa, serta aromanya. Dalam proses tersebut juga mengurangi menghilangkan

komponen-komponen anti-nutritif pada produk yang difermentasikan.

Rhizopus oligosporus mensintesis enzim penghidrolisis berbagai jenis lipid, polisakarida dan protein. Fungi ini meningkatkan pencairan parsial ("partial liquefaction") bahan-bahan yang difermentasikan. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa spesies ini memiliki aktivitas proteolitik yang tinggi. Lebih lanjut lagi, kapang berfilamen ini tidak menghasilkan toxin dalam medium fermentasi cair dari ekstrak daging.

II.8.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kapang dan Pembentukan Produk

Kemampuan mikroba untuk tumbuh dan mensintesis produk ditentukan oleh perilaku genetik mikroba tersebut. Pengembangan proses fermentasi yang berhasil sangat tergantung pada strain yang baik dari proses-proses seleksi dan mutasi serta pengetahuan mengenai efek parameter-parameter lingkungan terhadap pertumbuhan sel dan pembentukan produk.

Beberapa parameter yang berpengaruh antara lain :

1. Jenis Medium Kultur

Fermentasi dapat dilakukan dengan metode permukaan dan kultur terendam ("submerged"). Medium kultur permukaan dapat berupa media padat dan semipadat. Sedangkan kultur

terendam dilakukan dalam cairan dengan menggunakan bioreaktor berbentuk labu yang diberi aerasi dengan pengocokan konstan dalam fermentor atau menggunakan "shaker". Fermentasi padat biasanya dilakukan pada suhu ruang yang relatif konstan dan merupakan kultur yang statis walaupun sekali-kali diadakan pengadukan (8).

Pada fermentasi dengan media padat dengan kelembaban tinggi, pertumbuhan kapang menyerupai sifat pertumbuhannya di alam. Karena itulah, dengan jenis medium ini sering diperoleh enzim-enzim spesifik yang sulit dihasilkan dalam kultur cair (8). Dari hasil penelitian, jenis medium ini berpotensi untuk menghasilkan lebih banyak enzim protease. Secara ekonomis, jenis medium ini mendorong beberapa keuntungan, termasuk diantaranya produktivitas yang lebih tinggi secara volumetrik, penggunaan peralatan atau mesin-mesin yang lebih sederhana, penggunaan substrat yang murah, kecilnya jumlah energi yang dibutuhkan dan rendahnya jumlah limbah (7).

Sedangkan dengan fermentasi menggunakan medium semipadat memungkinkan perkembangan spora dan badan buah kapang yang lebih ekstensif (8).

2. Komposisi Nutrien

Sintesa enzim-enzim ekstraselular umumnya dapat diinduksi oleh senyawa-senyawa kimia tertentu. Senyawa-senyawa tersebut antara lain sumber karbon, nitrogen, dan bermacam-macam mineral (17).

Karbon merupakan unsur terpenting yang dibutuhkan bagi pertumbuhan kapang. Tujuan utama pemakaian karbon adalah sebagai bahan pembentuk sel sekaligus sebagai sumber energi (17).

Senyawa yang mengandung unsur nitrogen (protein) adalah senyawa yang berfungsi sebagai pembentuk protoplasma dan dinding sel. Jenis sumber nitrogen mempengaruhi produktivitas enzim. Selama fase pertumbuhan kapang menggunakan senyawa nitrogen dengan cepat dan pada fase inilah enzim mulai terdapat pada media (17).

Garam-garam magnesium dan kalium dibutuhkan untuk mengendapkan senyawa kimia pengganggu. Lithium, natrium, kalium dan rubidium dapat merangsang pembentukan spora pada konsentrasi tertentu (18).

3. Konsentrasi Ion Hidrogen (pH)

Kebanyakan kapang dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas, yaitu pH 2-8,5. Tetapi, biasanya pertumbuhannya akan

lebih baik pada kondisi asam. Batas pH untuk pertumbuhan kapang merupakan gambaran batas pH bagi kegiatan enzim. Perlu atau tidaknya suatu medium diberi larutan penyangga tergantung kepada maksud penggunaannya dan dibatasi oleh kapasitas menyangga yang dimiliki senyawa-senyawa tersebut (18).

4. Suhu

Suhu yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan proses pengendapan protein yang menyebabkan kematian sel. Suhu yang terlalu rendah akan mengurangi aktivitas enzim sehingga pertumbuhan mikroorganisme terganggu. Suhu optimal biasanya suhu dimana aktivitas metabolisme berjalan dengan baik. Untuk pembentukan enzim ekstraselular akan lebih baik pada suhu yang lebih rendah dari suhu optimal pertumbuhan mikroba. Kebanyakan kapang bersifat mesofilik, yaitu tumbuh baik pada suhu kamar. Suhu optimal pertumbuhan untuk kebanyakan kapang adalah sekitar 25-30°C, tetapi beberapa dapat tumbuh pada suhu 35-37°C atau lebih tinggi (12, 18).

II.8.5 Enzim Protease pada *Rhizopus oligosporus* (19, 20, 21)

Berdasarkan IUBMB, enzim hidrolisis protein yang disintesa oleh spesies ini termasuk dalam golongan endopeptidase, lebih spesifik lagi dalam kelas *aspartat proteinase*. Nama lainnya antara

lain *Rhizopus aspartic proteinase*, *Rhizopus acid proteinase*, atau *Rhizopuspepsin*.

Bagian yang aktif dari enzim ini diandalkan pada 2 asam amino aspartat yang bersifat asam dimana gugus-gugus ini mengaktifkan 1 molekul air yang kemudian memotong bagian dalam rantai protein pada peptida spesifik di gugus karbonilnya. Mekanisme hidrolisisnya ini mirip dengan Pepsin A, dimana enzim ini lebih spesifik memutuskan rantai protein pada penyerangan gugus karboksil dari peptida yang mengandung asam amino aromatik seperti fenilalanin dan tyrosin.

II.8.6 Satuan Aktivitas Enzim Protease Kapang *Rhizopus oligosporus*

Satu unit aktivitas protease didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk membebaskan 1 mg tyrosin di bawah kondisi analisis standar yang telah ditetapkan (22). Dalam hal kespesifikannya sebagai protease asam yang diproduksi oleh fungi, enzim ini mempunyai satuan dan cara determinasi aktifitas yang khusus, yaitu SAPU (*Spectrophotometric acid protease unit*). Satu SAPU didefinisikan sebagai besarnya aktivitas enzim yang mampu membebaskan 1 μmol tyrosin per menit di bawah kondisi spesifik, yang ditampilkan sebagai hasil perhitungan dengan melibatkan nilai serapan dan konsentrasi larutan standar dan sampel yang telah bereaksi dengan enzim (23). Atau 1 SAPU didefinisikan sebagai

jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan peningkatan densitas optik sebesar 0,1 pada wilayah panjang gelombang cahaya tampak di bawah kondisi tertentu yang dipersyaratkan (7).

I.9 Tumbuhan Kelapa

II.9.1 Asal Usul Tumbuhan Kelapa (24)

Beberapa pendapat mengatakan bahwa kelapa berasal dari semenanjung Asia Tenggara sementara yang lain berpendapat bahwa tanaman ini berasal dari barat laut Amerika Selatan. Catatan fosil di Selandia Baru menunjukkan suatu tumbuhan kecil seperti kelapa tumbuh di sana semenjak 15 juta tahun dahulu. Fosil yang lebih tua ditemukan di Rajasthan, India. Kelapa telah tersebar di sebagian besar kawasan tropik, terutamanya sepanjang pesisir pantai. Karena buahnya yang ringan dan mengapung, kelapa mudah tersebar oleh arus laut yang mampu membawa buah kelapa pada jarak yang jauh. Kelapa tumbuh subur di tanah berpasir, payau dengan banyak cahaya matahari dan curah hujan yang tetap (75-100 cm setahun), sehingga menyebabkan mudahnya tumbuhan ini ditemukan sebagai koloni-koloni di pinggir pantai. Di Kepulauan Hawaii, kelapa diduga diperkenalkan oleh orang Polynesia dari tanah asal mereka di Pasifik Selatan.

II.9.2 Klasifikasi Tumbuhan Kelapa (25)

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Arecales
Suku	: Arecaceae
Marga	: Cocos
Jenis	: <i>Cocos nucifera</i> , Linn.

II.9.3 Morfologi Tumbuhan Kelapa (25)

Tanaman kelapa merupakan tanaman palma yang tinggi besar dengan batang yang tidak bercabang, menebal dari pangkal dan dapat mencapai tinggi sampai 30 meter atau lebih. Daun waktu muda tunggal, kemudian robek-robek sehingga menjadi majemuk menyirip, tersusun sebagai roset pada ujung batang. Bunga berkelamin tunggal, berumah satu tersusun dalam bunga majemuk campuran yang bagian-bagiannya berupa bulir dan waktu muda seluruh bunga majemuk itu diselubungi oleh suatu daun pelindung yang kaku tebal. Pada tiap bulir terdapat satu bunga betina pada bagian bawah, sedang selanjutnya seluruh tangkai bulir penuh dengan bunga-bunga jantan. Buahnya buah batu dengan biji yang memiliki lembaga yang kecil dan endosperma yang besar.

II.9.4 Habitat Tumbuhan Kelapa (26)

Pohon kelapa tumbuh subur di daerah pantai, mulai dari 0-300 mdpl. Untuk daerah tinggi, pohon kelapa hanya bisa tumbuh di bawah 1000 mdpl. Lebih dari itu umumnya tidak berbuah. Beradaptasi dengan baik di tanah berpasir, rawa, dan daerah sepanjang muara sungai dengan curah hujan 1000-1500 mm per tahun.

II.9.5 Kegunaan Tumbuhan Kelapa (1)

Kelapa sering disebut dengan pohon kehidupan ("tree of life") dan pohon surga ("a heavenly tree") karena semua bagian tanaman ini dapat digunakan untuk kehidupan. Komoditas kelapa selama ini sebagian besar dimanfaatkan untuk kelapa sayur dan minyak makan. Di beberapa tempat telah dikembangkan berbagai produk olahan dari kelapa dan pemanfaatan hasil sampingannya, seperti "dessicated coconut", "nata de coco", serat serabut, dan arang aktif. Di bidang kesehatan, sampai sekarang khasiat kelapa untuk mendukung dan menjaga kesehatan telah semakin diakui.

II.10 Tanaman Kedelai

II.10.1 Klasifikasi Tanaman Kedelai (27)

Divisi : Spermatophyta
 Subdivisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledoneae

- Bangsa : Fabales
Suku : Leguminosae
Anak suku : Papilionaceae
Marga : Glycine
Jenis : *Glycine max*, Merr.

II.10.2 Morfologi Tanaman Kedelai (27, 28)

Tanaman kedelai (*Glycine max*, Merr.) dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah. Jika ditumbuhkan pada pasir kwarsa pertumbuhannya kurang baik. Tetapi hal ini dapat diatasi dengan menambahkan pupuk organik atau kompos dalam jumlah yang cukup banyak.

Tanaman ini tumbuh di musim panas, dengan tinggi 180 cm dan bercabang ke seluruh anak, mempunyai tiga daun pada tiap tangkai. Buahnya berwarna coklat dan berbulu-bulu, tumbuhnya kurang-lebih 7,62 cm dari suatu tangkai yang pendek dan mempunyai 2-4 biji yang berwarna coklat atau hijau. Bunganya kecil berwarna putih atau ungu dan warna bijinya bermacam-macam, yaitu putih dan hitam.

Tabel 1 Komposisi kimia daging buah kelapa pada berbagai tingkat kematangan (1)

Komposisi Kimia (dalam 100g)	Satuan	Buah muda	Buah setengah tua	Buah tua
Kalori	kal.	68,0	180,0	359,0
Protein	g	1,0	4,0	3,4
Lemak	g	0,9	13,0	34,7
Karbohidrat	g	14,0	10,0	14,0
Kalsium	mg	17,0	8,0	21,0
Fosfor	mg	30,0	35,0	21,0
Besi	mg	1,0	1,3	2,0
Thiamin	mg	0,0	0,5	0,1
Asam askorbat	mg	4,0	4,0	2,0
Air	g	83,3	70,0	46,9

Tabel 2. Kandungan Gizi Kedelai (29)

Komposisi	Bahan / 100 g
Kalori (mg)	331
Protein (g)	34,9
Lemak (g)	18,1
Karbohidrat (g)	34,8
Kalsium (mg)	227
Fosfor (mg)	587
Besi (mg)	8,0
Vitamin A (SI)	110
Vitamin B1 (mg)	1,07
Air	7,5

BAB III
PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

III.1.1 Alat-alat yang Digunakan

1. Alat-alat gelas
2. Botol semprot
3. Cawan petri
4. "Colony Counter" (Quebec)
5. Corong pisah
6. Eksikator
7. Hemasitometer (Superior)
8. Inkubator aerob
9. Kompor listrik
10. "Laminar Air Flow"
11. Lampu spiritus
12. Mikroburet
13. Mikropipet (Socorex)
13. Neraca Analitik (Chyo)
14. Ose bulat
15. Otoklaf
16. Oven

17. Penyaring santan
18. Piknometer
19. Pipet volume (Fortuna)
19. Refraktometer
20. Rotary shaker
21. Spoit
22. Sentrifuge
25. Spektrofotometer (HP)
23. Tabung sentrifuge
24. Tangas Air
25. Termometer
26. Vibrator

III.1.2 Bahan-bahan yang Digunakan

1. Air suling
2. Alkohol 70% v/v; 96% v/v
3. Asam asetat glasial p.a. (Merck)
4. Asam klorida p.a (Merck)
5. Asam Trikloro Asetat p.a. (Merck)
6. Aqua brom
7. Biakan murni kapang *Rhizopus oligosporus*
8. Casein p.a. (Merck)

9. Daging buah kelapa tua (*Cocos nucifera*, Linn.)
10. Eter
11. Indikator fenolftalein
12. Iodum (Merck)
13. Kacang kedelai (*Glycine max*, Merr.)
14. Kertas pH universal
15. Kloroform
16. Kalium hidroksida p.a (Merck)
17. Kalium iodida
18. Kanji
19. Larutan Natrium Klorida fisiologis (Otsuka)
20. L-tyrosin p.a (Merck)
21. Medium NA
22. Medium PDA
23. Natrium tiosulfat p.a.
24. Natrium hidroksida
25. Reagen Folin-Ciocalteu (Merck)
26. Toluena
27. Tween 80



III.2 Prosedur Kerja

III.2.1 Penyiapan Alat (30)

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Alat yang terbuat dari gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Untuk alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan pada api, dan alat-alat yang terbuat dari plastik, alat gelas berskala, serta karet disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.2.2 Pengambilan Bahan Penelitian

Bahan penelitian adalah daging buah kelapa tua non-kopra yang tidak dikerik kulitnya dan telah diparut (*Cocos nucifera*, Linn.), yang diperoleh di salah satu kawasan pesisir pantai Kabupaten Selayar. Mikroorganismenya yang digunakan adalah kapang *Rhizopus oligosporus* dalam bentuk biakan murni yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin. Kacang kedelai (*Glycine max*, Merr.) didapatkan dari salah satu toko di kawasan Tamalanrea, Kota Makassar.

III.2.3 Pembuatan Santan (31)

1500 g daging buah kelapa tua non-kopra (*Cocos nucifera*, Linn.) yang tidak dikerik kulitnya dan sudah diparut diperas awal tanpa menggunakan air. Ampasnya kemudian ditambahkan air yang telah dididihkan dan suhunya masih hangat dengan perbandingan 1:1

lalu ampas diperas lagi. Proses ini diulangi sebanyak 2-3 kali. Seluruh hasil perasan kemudian dikumpulkan. Dari proses ini didapatkan ± 4000 ml emulsi santan.

III.2.4 Pemisahan Krim dan Skim Santan (2)

Santan hasil perasan dimasukkan dan didiamkan dalam corong pisah selama 30 menit sampai 2 jam sehingga terbentuk dua lapisan, yaitu krim santan di bagian atas dan skim santan di bagian bawah. Skim dan krim santan kemudian dikeluarkan secara bertahap dan ditampung pada masing-masing wadah terpisah. Dari pemisahan ini diperoleh 1000 ml krim santan.

III.2.5 Pembuatan Medium (32)

A. Medium PDA ("Potato Dextrose Agar")

Komposisi (g/l):

Infus kentang	4,0	g (dari 200 g kentang)
D(+) Glukosa	20,0	g
Agar-agar	15,0	g
Air suling hingga	1000	ml

pH $5,6 \pm 0,1$

Cara Pembuatan :

Semua bahan ditimbang sesuai dengan perhitungan lalu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer kemudian dilarutkan

dalam air suling dan dihomogenkan. Setelah itu diatur pH-nya ($5,6 \pm 0,1$). Medium lalu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

B. Medium NA ("Nutrien Agar")

Komposisi (g/l):

Pepton dari daging	5	g
Ekstrak Daging	3	g
Agar-agar	12	g
Air suling hingga	1000	ml

pH $7,0 \pm 0,2$

Cara Pembuatan :

Semua bahan ditimbang sesuai dengan perhitungan lalu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer kemudian dilarutkan dalam air suling dan dihomogenkan. Setelah itu diatur pH-nya ($7,0 \pm 0,2$). Medium lalu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.2.6 Peremajaan Kapang

Biakan murni kapang *Rhizopus oligosporus* diremajakan dengan cara menginokulasikan secara aseptis 1 ose biakan murni sebelumnya pada medium PDA miring dan diinkubasikan pada suhu kamar terlindung dari cahaya selama 4-7 x 24 jam.

III.2.7 Pembuatan Substrat untuk Medium Produksi Enzim (7)

10 g kacang kedelai yang telah dikupas salutnya dan digiling halus dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Substrat kemudian dibasahkan dengan 15 ml air suling dan disterilkan dalam otoklaf dengan suhu 121°C bertekanan 15 lbs/inci^2 selama 15 menit. Substrat kemudian didinginkan sampai suhu kamar sambil inokulum disiapkan.

III.2.8 Pembuatan Suspensi Kapang (7)

Biakan murni kapang *Rhizopus oligosporus* yang sudah matang ditambahkan air suling steril 10 ml. Dengan jarum ose steril, spora-spora kapang digosok perlahan sampai gumpalan-gumpalan miselia lepas dari medium dan tersuspensi homogen dalam air suling steril. 1 ml suspensi spora digunakan sebagai inokulum pada substrat steril (medium produksi). Sebelumnya, jumlah spora dihitung dengan menggunakan hemasitometer.

III.2.9 Perhitungan Jumlah Spora Kapang (33)

Sebelumnya, lensa-lensa pada permukaan hemasitometer dibersihkan dengan alkohol. Kemudian, hemasitometer ditutup dengan kaca penutupnya. Sebanyak 0,1 ml suspensi kapang diambil dengan pipet mikron dan diletakkan pada bagian V pada kaca penutup hemasitometer. Setiap ruang diusahakan dipenuhi oleh suspensi kapang. Suspensi kapang pada hemasitometer kemudian

diamati di bawah mikroskop. Selanjutnya, jumlah sporanya dalam 80 buah kotak kecil pada bagian berukuran 1 mm^2 dihitung.

Jumlah sel dalam suspensi dihitung sebagai :

$5 \times n \times 10^4 \text{ sel/ml}$, n = jumlah sel pada 5 kotak sedang

III.2.10 Produksi Enzim (7)

1 ml suspensi spora yang telah dihitung, yaitu sebanyak $5,78 \times 10^6 \text{ sel/ml}$, diinokulasikan pada medium produksi enzim. Medium ini kemudian difermentasikan pada suhu kamar selama 3×24 jam.

III.2.11 Ekstraksi Enzim (7)

75 ml air suling steril ditambahkan ke dalam medium fermentasi, kemudian digoyang dengan *rotaryshaker* pada kecepatan 200 rpm secara konstan selama 1 jam. Setelah itu, massa disaring dengan penyaring vakum dan filtratnya dikumpulkan sebagai ekstrak kasar enzim untuk kemudian dilakukan pengujian aktivitas enzim lebih dahulu sebelum diinokulasikan pada medium produksi minyak (krim santan).

III.2.12 Pengujian Aktivitas Ekstrak Enzim Protease (7, 34, 35, 36)

III.2.12.A Pembuatan Larutan Standar L-tyrosin

100.0 mg L-tyrosin ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam labu takar 1000 ml kemudian dilarutkan dengan 60 ml HCl 0,1 N. Setelah larut sempurna, diencerkan dengan air suling sampai batas

tanda tera dan dikocok baik-baik (larutan standar L-tyrosin 100 ppm). Dari larutan ini dibuat larutan dengan konsentrasi 20 ppm dengan pengenceran.

III.2.12.B Penentuan Panjang Gelombang Maksimum L-tyrosin

1,0 ml larutan L-tyrosin 20 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup. Kemudian ditambahkan reagen 5 ml NaOH 0,2 N dan larutan selanjutnya didiamkan selama 10 menit. Setelah itu, 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam campuran dan dikocok selama 15 menit. Setelah warna biru terbentuk, campuran diukur serapannya dengan spektrofotometer cahaya tampak (VIS) pada range panjang gelombang 380-780 nm. Panjang gelombang maksimum larutan standar ditentukan pada nilai serapan maksimum. Blanko dibuat dengan larutan HCl 0,006 N. Didapatkan nilai serapan tertinggi (0,1035) pada 656 nm.

III.2.12.C Pembuatan Substrat Casein 1%

Larutan HCl 1 N dipipet sebanyak 11.5 ml ke dalam 500 ml air suling, kemudian Casein 10,0 g ditimbang dan dimasukkan ke dalamnya lalu diaduk. Campuran ini selanjutnya dipanaskan selama 30 menit

pada suhu didih dan pengadukan terus dilakukan, kemudian didinginkan pada suhu kamar. Selanjutnya 5,356 g Glisin dilarutkan dan pH larutan diatur hingga pH 3,0 dengan penambahan HCl 1N atau NaOH 1N. Larutan ini dipindahkan kedalam labu takar 1000 ml, diencerkan dengan aquadest sampai tanda tera dan dikocok sampai homogen.

III.2.12.D Pembuatan Larutan TCA ("Tri Chloro Acetic Acid") 5%

25,0 g TCA dan 26,350 g Natrium asetat trihidroksil ditimbang dan dilarutkan dalam 300 ml air suling. Selanjutnya 10 ml asam asetat glasial ditambahkan ke dalam campuran tersebut dan diaduk sampai homogen. Larutan ini dipindahkan ke dalam labu takar 500 ml dan diencerkan dengan air suling sampai tanda tera dan dikocok.

III.2.12.E Penentuan Aktivitas Protease Ekstrak Enzim

1,0 ml larutan Casein 1% dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup. Kemudian ditambahkan 1,0 ml ekstrak enzim. Campuran selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam. Setelah itu, reaksi diinaktivasi dengan penambahan 5 ml TCA 5% dan

disentrifuge pada 1000 rpm selama 10 menit. 1,0 ml supernatannya ditambahkan dengan 5 ml NaOH 0,2 N dan selanjutnya didiamkan selama 10 menit. Setelah itu, 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam campuran dan divortex selama 15 menit. Setelah warna biru terbentuk, campuran diukur serapannya dengan spektrofotometer cahaya tampak (VIS) pada panjang gelombang 656 nm dan ditentukan nilai serapannya.

III.2.12.F Perhitungan Aktivitas Enzim Protease

$$\text{Aktivitas (SAPU)} = \frac{\left(\frac{Ax}{Ast} \right) \times Cst \times Vt}{t}$$

Keterangan:

Cst = konsentrasi L-tyrosin standar (μmol)

Ax = serapan larutan sampel

Ast = serapan L-tyrosin standar

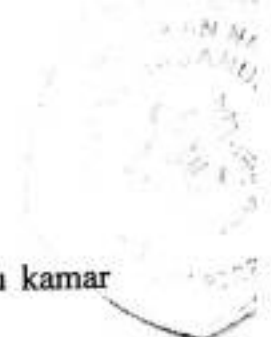
Vt = volume total pengujian (ml)

t = waktu inkubasi (menit)

SAPU = *Spectrophotometric Acid Protease Unit*

III.2.13 Pembuatan "Virgin Coconut Oil"

Sebanyak 1000 ml krim santan diinokulasikan 100 ml ekstrak kasar enzim *Rhizopus oligosporus* (aktivitas enzim protease =



28,032 SAPU) Krim santan lalu difermentasikan pada suhu kamar selama 8 jam sampai terbentuk 3 lapisan dimana minyak sebagai lapisan teratas. Minyak yang diperoleh dipisahkan hati-hati dengan penyedotan menggunakan selang kecil dan pemipetan menggunakan pipet tetes lalu ditampung dalam botol dan dipanaskan pada temperatur 65°C selama 15 menit kemudian disimpan pada suhu kamar.

III.2.14 Analisis "Virgin Coconut Oil"

Analisis terhadap produk meliputi :

III.2.14.A Perhitungan Rendamen Produk

Berat "Virgin Coconut Oil" yang dihasilkan dibandingkan dengan berat daging buah kelapa yang digunakan untuk produksi. Persentase yang dihasilkan adalah persen bobot per bobot (% b/b).

III.2.14.B Analisis Sifat Fisika "Virgin Coconut Oil"

1. Sifat Organoleptis

"Virgin Coconut Oil" dianalisis bentuk, warna, bau dan rasa.

2. Penetapan Berat Jenis (37)

Piknometer 25 ml dibersihkan dan dikeringkan, kemudian diisi dengan air suling yang telah mendidih dan didinginkan pada suhu 20°C –

23°C. Piknometer diisi sedemikian rupa sampai air dalam bobot meluap dan tidak terbentuk gelembung udara. Setelah ditutup dengan penutup yang dilengkapi termometer, piknometer direndam dalam bak air yang bersuhu $25^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ dan dibiarkan pada suhu yang konstan selama 30 menit. Piknometer diangkat dari bak air dan dikeringkan dengan kertas pengisap, kemudian piknometer dengan isinya ditimbang. Bobot air adalah selisih bobot piknometer dengan isinya dikurangi bobot piknometer kosong.

Contoh minyak disaring dengan kertas saring untuk membuang bahan asing dan fraksi air, lalu didinginkan sampai $20^{\circ}\text{C} - 23^{\circ}\text{C}$. Kemudian dimasukkan ke dalam piknometer 25 ml sampai meluap dan diusahakan agar tidak terbentuk gelembung udara. Piknometer ditutup, minyak yang meluap dan menempel di bagian luar piknometer dibersihkan. Kemudian piknometer direndam dalam bak air pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit. Dengan hati-hati piknometer diangkat dari bak air, dibersihkan dan dikeringkan dengan kertas

pengisap. Piknometer beserta isinya ditimbang dan bobot contoh dihitung dari selisih bobot piknometer beserta isinya dikurangi bobot piknometer kosong dibagi selisih bobot piknometer berisi air dikurangi bobot piknometer.

3. Penetapan Indeks Bias (37)

Indeks bias "virgin coconut oil" ditentukan dengan menggunakan refraktometer dengan sinar putih yang telah ditera sehingga dapat menyatakan indeks bias yang menggunakan sinar natrium pada panjang gelombang 589,3 nm pada suhu 20°C.

III.2.14.C Analisis Sifat Kimia "Virgin Coconut Oil"

1. Penetapan Kadar Air (37)

Kadar air "virgin coconut oil" ditentukan dengan metode destilasi toluena yaitu sebanyak 100 ml "virgin coconut oil" yang ditimbang seksama dimasukkan ke dalam labu. Sebanyak 150 ml toluena P dimasukkan ke dalam labu, alat dihubungkan. Toluena P dituangkan ke dalam tabung penerima E melalui alat pendingin. Labu dipanaskan dengan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, lalu disuling dengan

kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian besar air tersuling. Kemudian kecepatan penyulingan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluen. Penyulingan kemudian dilanjutkan selama 5 menit. Selanjutnya, tabung penerima dibiarkan mendingin hingga suhu kamar. Jika ada tetesan air yang melekat pada dinding tabung penerima, maka digosok dengan karet yang diikat pada sebuah kawat tembaga dan dibasahi dengan toluen hingga tetesan air turun. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca. Kadar air dihitung dalam % v/v.

2. Penetapan Bilangan Asam (37)

10 g minyak ditimbang seksama dalam labu 250 ml, ditambahkan 50 ml campuran etanol (95%) P dan eter P volume sama yang telah dinetralkan dengan NaOH 0,1 M menggunakan indikator 1 ml larutan fenolftalein P. Terbentuk larutan keruh, direfluks hati-hati selama 15 menit.

Setelah dingin dititrasi dengan KOH 0,1 N, sambil terus-menerus dikocok hingga terjadi warna

merah jambu yang mantap selama 15 detik,
bilangan asam dihitung dengan rumus :

$$\frac{a \times 56,11 \times N}{g}$$

a = jumlah ml KOH 0,1 N yang diperlukan untuk
titrasi zat uji

g = bobot dalam gram zat uji

N = N KOH

Pembuatan larutan KOH 0,1 N

5,610 g Kalium Hidroksida P dilarutkan dalam 20 ml air suling, tambahkan etanol (95 %) secukupnya hingga 1000,0 ml, biarkan dalam botol tertutup rapat selama 24 jam. Segera enap tuangkan beningan ke dalam wadah tertutup rapat.

Pembakuan larutan KOH 0,1 N

25,0 ml asam klorida 0,1 N diukur seksama, diencerkan dengan 50 ml air suling. Titrasi dengan kalium hidroksida etanol menggunakan indikator larutan fenolftalein P hingga terjadi warna merah muda pucat yang mantap. Simpan dalam botol tertutup rapat, terlindung dari cahaya.

3. Penetapan Bilangan Iodum (9)

1 g minyak ditimbang ke dalam labu erlenmeyer 200 ml atau 300 ml yang bertutup. Kemudian dilarutkan dengan 10 ml kloroform atau karbon tetraklorida dan ditambahkan 25 ml pereaksi Hanus. Reaksi dibiarkan 1 jam di tempat gelap. Kemudian dititrasikan dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N dengan indikator kanji P, sebelumnya dilakukan penetapan blanko. Bilangan iodum dihitung dengan rumus :

$$\frac{(b-a) \times 0,1269 \times N \times 100}{g}$$

a = jumlah ml natrium tiosulfat 0,1 N yang diperlukan untuk titrasi larutan uji

b = jumlah ml natrium tiosulfat 0,1 N yang diperlukan untuk titrasi larutan blanko

g = bobot zat uji dalam gram

N = N natrium tiosulfat

Pembuatan larutan Natrium tiosulfat 0,1 N

Larutan 26 g natrium tiosulfat P dan 200 mg natrium karbonat P dalam air bebas karbondioksida P segar secukupnya hingga 1000,0 ml

Pembakuan larutan Natrium tiosulfat 0,1 N

210 mg kalium bikromat P ditimbang seksama yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 120°C selama 4 jam, larutkan dalam 100 ml air dalam labu 500 ml bersumbat kaca. Goyangkan hingga larut, angkat tutup, tambahkan dengan cepat 3 g kalium iodida P, 2 g natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P. Sumbat labu, goyangkan hingga tercampur, biarkan di tempat gelap selama 10 menit. Bilasi tutup dan dinding labu sebelah dalam dengan air. Titrasi dengan larutan natrium tiosulfat menggunakan indikator larutan kanji P. Hitung normalitas larutan.

1 ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 4,903 mg kalium bikromat.

Pembuatan pereaksi Hanus

13,2 g iod dilarutkan dalam 1 L asam asetat glasial. Tambahkan sedikit asam asetat glasial ke dalam iod. Jika seluruh iod sudah larut, tambahkan brom secukupnya (biasanya 2 mL).

4. Penetapan Bilangan Penyabunan (37)

2 g minyak ditimbang seksama dalam labu 200 ml, tambahkan 25 ml larutan kalium hidroksida etanol 0,5 N, direfluks di atas tangas air selama 1 jam sambil sering digoyang. Dititrasi selagi panas dengan asam klorida 0,5 N menggunakan indikator 1 ml larutan fenolftalein P. Dilakukan penetapan blanko. Bilangan penyabunan dihitung dengan rumus :

$$\frac{(b-a) \times 56,1 \times N}{g}$$

a = jumlah ml asam klorida 0,5 N yang diperlukan untuk titrasi zat uji

b = jumlah ml asam klorida 0,5 N yang diperlukan untuk titrasi blanko

g = bobot dalam gram zat uji

N = N HCl

Pembuatan larutan asam klorida 0,5 N

36,46 g asam klorida P dilarutkan dalam 1000,0 ml air suling.

Pembakuan larutan asam klorida 0,5 N

0,75 g natrium karbonat anhidrat P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 270°C selama 1 jam ditimbang seksama, larutkan dalam 100 ml air suling. Titrasi dengan asam klorida menggunakan indikator larutan merah metil P. Panaskan larutan hingga mendidih, dinginkan dan lanjutkan titrasi. Panaskan lagi hingga mendidih dan titrasi lagi hingga warna merah jambu pucat tidak hilang dengan pendidihan lagi.

1 ml asam klorida 1 N setara dengan 52,99 mg natrium karbonat anhidrat P

5. Penetapan Bilangan Peroksida (37)

5,0 g minyak dilarutkan dalam 15,0 ml kloroform P, tambahkan 20,0 ml asam asetat glasial P dan 0,5 ml larutan jenuh kalium iodida P, dicampur, dibiarkan di tempat gelap selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 30,0 ml air dan dititrasi dengan natrium tiosulfat 0,01 N menggunakan indikator larutan kanji P. Diperlukan tidak lebih dari 2,5 ml natrium tiosulfat 0,01 N. Bilangan peroksida dihitung dengan rumus :

$$\frac{a \times N \times 1000}{g}$$

a = jumlah ml natrium tiosulfat 0,01 N yang diperlukan untuk titrasi zat uji

g = bobot dalam gram zat uji

N = N natrium tiosulfat

Pembuatan larutan Natrium tiosulfat 0,01 N

Larutan 2,482 g natrium tiosulfat P dan 200 mg natrium karbonat P dalam air bebas karbondioksida P segar secukupnya hingga 1000,0 ml

Pembakuan larutan Natrium tiosulfat 0,01 N

21 mg kalium bikromat P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 120°C selama 4 jam ditimbang seksama, larutkan dalam 100 ml air dalam labu 500 ml bersumbat kaca. Goyangkan hingga larut, angkat tutup, tambahkan dengan cepat 0,3 g kalium iodida P, 0,2 g natrium bikarbonat P dan 0,5 ml asam klorida P. Sumbat labu, goyangkan hingga tercampur, biarkan di tempat gelap selama 10 menit. Bilasi tutup dan dinding labu sebelah dalam dengan air. Titrasi dengan larutan natrium

tiosulfat menggunakan indikator larutan kanji P.

Hitung normalitas larutan.

1 ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 4,903 mg

kalium bikromat

III.2.14.D Analisis Mikrobiologis "Virgin Coconut Oil" (38)

Analisis mikrobiologis terhadap "virgin coconut oil" dilakukan dengan menentukan nilai Angka Lempeng Total dan jumlah total koloni kapang dan khamirnya.

Botol pengencer yang telah berisi 8 mL air suling steril disiapkan. 1 ml "virgin coconut oil" dan 1 ml tween 80 diambil dengan menggunakan spoit yang telah disterilkan dan dimasukkan ke dalam lumpang steril. Ditambahkan 8 ml air suling steril kemudian campuran dihomogenkan (digerus sedemikian rupa hingga terbentuk emulsi stabil) (Pengenceran 10^{-1}). Dari pengenceran 10^{-1} , kemudian sebanyak 1 ml diambil dengan menggunakan spoit steril dan dimasukkan ke botol pengencer kedua, kemudian dikocok hingga homogen (Pengenceran 10^{-2}). Begitu seterusnya dilakukan sampai pengenceran 10^{-4} .

I. Uji Angka Lempeng Total (ALT) Bakteri

Masing-masing dari 3 pengenceran terakhir diambil (pengenceran 10^{-2} , pengenceran 10^{-3} , dan

pengenceran 10^{-4}) sebanyak 1 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara aseptis. Kemudian medium NA dimasukkan secara aseptis pula sebanyak 15 ml, dihomogenkan dengan cara memutar ke kiri dan ke kanan masing-masing sebanyak 3 kali lalu dibiarkan memadat. Medium kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37° , di dalam inkubator aerob. Selanjutnya dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

2. Uji Jumlah Total Kapang dan Khamir

Masing-masing dari 3 pengenceran awal (pengenceran 10^{-1} , pengenceran 10^{-2} , dan pengenceran 10^{-3}) diambil sebanyak 1 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara aseptis. Kemudian medium PDA dimasukkan secara aseptis pula sebanyak 15 ml, dihomogenkan dengan cara memutar ke kiri dan ke kanan masing-masing sebanyak 3 kali lalu dibiarkan memadat. Medium kemudian diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu kamar. Selanjutnya dihitung jumlah koloni kapang dan khamir yang tumbuh.

III.3 Pengumpulan dan Analisis Data

Data hasil analisis dikumpulkan kemudian diolah dan dibandingkan dengan standar mutu yang ditetapkan oleh “Asian and Pacific Coconut Community (APCC)” (39).

III.4 Pembahasan

Pembahasan hasil penelitian dibuat berdasarkan hasil analisis data.

III.5 Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Hasil rendamen, analisis sifat fisika, kimia dan mikrobiologis dari “virgin coconut oil” yang diproduksi dengan cara enzimatis menggunakan ekstrak enzim protease *Rhizopus oligosporus* dengan aktivitas enzim 28,032 SAPU adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Analisis “Virgin Coconut Oil”

Keterangan	Hasil Analisis	Standarisasi APCC
Nilai Rendamen (% b/b)	18,37	-
I. Sifat Fisika		
1. Organoleptis :		
• Bentuk	Cairan jernih	Cairan jernih seperti air
• Warna	Tidak berwarna	Tidak berwarna
• Bau	Khas kelapa, tidak tengik	Khas, tidak tengik, bebas dari bau bahan-bahan pencemar
• Rasa	Khas kelapa	Khas, bebas dari rasa bahan-bahan pencemar
2. Berat Jenis	0,9187	0,915 – 0,920
3. Indeks Bias	1,4484	1,448 – 1,4492

Lanjutan Tabel 3

Keterangan	Hasil Analisis	Standarisasi APCC
II. Sifat Kimia		
1. Kadar Air (% v/v)	0,2	$\leq 0,1 - 0,5$
2. Bilangan Asam (mg KOH/1 g minyak)	0,4093	$\leq 0,5$
3. Bilangan Iodum (g iod/100 g minyak)	5,292	4,1 – 11,0
4. Bilangan Penyabunan (mg KOH/1 g minyak)	263,324	$\geq 250 - 260$
5. Bilangan Peroksida (mEq/ kg minyak)	1,2965	$\leq 3,0$
III. Mikrobiologis		
1. ALT (koloni/ml)	$< 3,0 \times 10^3$ ($1,4 \times 10^3$)	$< 1,0 \times 10^1$
2. Jumlah total kapang dan khamir (koloni/ml)	$1,9 \times 10^2$	Tidak ditentukan ("not determined")

IV.2 Pembahasan

I. Analisis Aktivitas Enzim

Enzim hidrolisis protein yang disintesa oleh kapang *Rhizopus oligosporus* adalah golongan endopeptidase (proteinase), yang menghidrolisis protein dengan memutuskan ikatan-ikatan peptida dalam gugus protein di titik-titik tertentu saja (pada peptida tertentu saja). Lebih spesifik lagi, enzim yang disintesis termasuk dalam kategori *aspartat*

proteinase dimana prinsip mekanisme hidrolisis proteinnya diandalkan pada 2 asam amino aspartat yang bersifat asam dimana gugus-gugus ini mengaktifkan 1 molekul air yang kemudian memotong bagian dalam rantai protein pada peptida spesifik, pada gugus karbonilnya (mekanisme penyerangan oleh gugus nukleofilik). Mekanisme hidrolisis enzim *proteinase Rhizopus oligosporus* mirip dengan Pepsin A, dimana enzim ini lebih spesifik memutuskan rantai protein pada penyerangan gugus karboksil, pada peptida yang mengandung asam amino aromatik seperti fenilalanin dan tyrosin (19, 20, 21). Karena itulah mengapa digunakan larutan L-tyrosin sebagai standar dalam menentukan aktivitas protease ekstrak enzim pada penelitian ini. Semakin banyak L-tyrosin yang dibebaskan, maka semakin besar aktivitas proteasenya (keaktifannya semakin besar).

Casein adalah suatu fosfoprotein yang banyak mengandung gugus asam amino L-tyrosin. Maka dari itulah digunakan substrat ini sebagai sampel yang bereaksi dengan enzim protease dengan tujuan dilepaskannya sejumlah tertentu dari L-tyrosin sehingga dapat terukur secara kuantitatif pada prosedur standar spektrofotometer dalam range panjang gelombang cahaya tampak.

Penjelasan mengenai mekanisme aksi hidrolisis *aspartat proteinase* adalah sebagai berikut (20) :

Serangan nukleofilik dicapai melalui transfer 2 proton yang terjadi secara bersamaan : satu dari molekul air ke arah puncak kedua gugus karboksil enzim dan yang kedua dari bagian puncak gugus karboksil enzim ke arah oksigen gugus karbonil substrat dimana secara bersamaan terjadi pemutusan ikatan CO-NH (ikatan peptida) substrat sehingga terjadi pembebasan asam amino tertentu. Secara umum, katalisis ini berprinsip reaksi asam-basa.

L-tyrosin yang dibebaskan kemudian mengadakan reaksi oksidasi-reduksi dengan reagen Folin-Ciocalteu (asam fosfotungstat-fosfomolibdat) dalam suasana basa, membentuk warna biru kuat, tergantung dari jumlah L-tyrosin yang bereaksi dengan reagen tersebut. Warna biru tersebut adalah hasil reduksi fosfomolibdotungstat menjadi heteropolimolibdenum biru oleh reduktor L-tyrosin (22).

Satu unit aktivitas protease didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk membebaskan 1 mg tyrosin di bawah kondisi analisa standar yang telah ditetapkan (22). Dalam hal kespesifikannya sebagai protease asam yang diproduksi oleh fungi, enzim ini mempunyai satuan dan cara determinasi aktivitas yang khusus, yaitu SAPU (*Spectrophotometric acid protease unit*). 1 SAPU didefinisikan sebagai besarnya aktivitas enzim yang mampu membebaskan 1 μmol tyrosin per menit di bawah kondisi spesifik, yang ditampilkan sebagai hasil perhitungan dengan melibatkan nilai serapan dan konsentrasi larutan

standar dan sampel yang telah bereaksi dengan enzim (23). Atau 1 SAPU didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan peningkatan densitas optik sebesar 0,1 pada 656 nm (pada penelitian ini) di bawah kondisi tertentu yang dipersyaratkan (7).

II. Perhitungan Rendamen

Hasil produksi "virgin coconut oil" dengan metode enzimatik menggunakan ekstrak enzim protease *Rhizopus oligosporus* (1:10 terhadap krim santan) yang diekstraksi dari hasil fermentasi substrat padat tepung kedelai dengan aktivitas protease sebesar 28,032 SAPU menunjukkan jumlah produksi yang potensial, yaitu sebanyak 300 ml (275,61 g) "virgin coconut oil" dari 1000 ml krim santan yang diperoleh dari pemerasan 1500 g daging kelapa tua segar (30% v/v = persen volume per volume dari 300 ml minyak yang dihasilkan, dibandingkan dengan 1000 ml jumlah volume krim santan untuk inkubasi), atau memberikan rendamen sebesar 18,37% b/b (persentase bobot per bobot dari 275,61 g minyak yang diperoleh, dibandingkan dengan 1500 g daging kelapa tua segar yang diperlukan untuk memperoleh 1000 ml krim santan). Dibandingkan dengan hasil penelitian Dwi Suryanto, dkk (10), dimana produksi minyak kelapa fermentasi dilakukan dengan stimulasi starter skim santan dan air kelapa (9:1) berisi kultur diperbanyak dari khamir *Saccharomices cerevisiae*, hanya menghasilkan 40 ml minyak dari 200 ml total media krim santan (20% v/v).



Dengan metode yang digunakan pada penelitian ini memberikan waktu produksi yang relatif lebih singkat dibandingkan produksi dengan menggunakan starter kultur mikroba diperbanyak, yaitu hanya 8 jam. Dibandingkan dengan metode tradisional, metode ini tidak memerlukan energi yang besar untuk pemecahan emulsi santan. Sejak jam ke-3 inkubasi, telah terlihat lapisan tipis nyata dari minyak pada bagian atas blondho, dan jam ke-8 inkubasi minyak telah maksimal diproduksi dimana hal ini ditentukan dari tidak terjadinya penambahan volume minyak lagi. Penelitian ini juga menunjukkan kelebihan ekstrak enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus* yang mampu aktif pada suhu kamar, tidak memerlukan perlakuan suhu khusus inkubasi krim santan. Diketahui bahwa enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus* adalah jenis proteinase asam, karena itulah diduga bahwa pada sebelum jam ke-3 inkubasi medium krim telah mengalami fermentasi spontan yang menghasilkan metabolit asam sehingga menstimulasi kerja enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus*.

Sedangkan tinjauan dugaan bahwa jumlah volume "virgin coconut oil" dipengaruhi oleh sumber varietas kelapa yang digunakan, Andi Nur Alam Syah (1) menyatakan bahwa variasi dari jenis (varietas) kelapa yang digunakan memberikan perbedaan yang tidak terlalu berarti, karena variasi kadar lemak dari berbagai varietas kelapa dalam kisaran sempit, yaitu 68,57-70,64%.

Kelapa yang digunakan pada penelitian ini dipilih dari jenis kelapa dalam, khususnya kelapa yang tumbuh di pesisir pantai. Hal ini didasarkan pada hasil beberapa test laboratorium, bahwa kandungan MCT ("medium chain triglycerida") atau MCFA ("medium chain fatty acid") kelapa pantai, khususnya asam laurat lebih tinggi di banding kelapa yang berasal dari pegunungan atau pedalaman (40). Penelitian ini tidak menggunakan kelapa hibrida karena kelapa ini telah melalui proses mutasi gen dan persilangan dengan kondisi dan nutrisi kimia serta pestisida tertentu sehingga dikhawatirkan akan menimbulkan adanya perubahan pada residu kimia dalam buah kelapa (3).

III. Analisis Fisika

Sifat fisika-kimia minyak merupakan parameter yang digunakan sebagai bahan evaluasi tahapan dari suatu rangkaian pengolahan, baik itu menyangkut bahan baku maupun metode produksi, penanganan serta penyimpanan sehingga menghasilkan produk yang memenuhi kualitas standar atau bahkan lebih tinggi.

1. Pengamatan sifat organoleptis

Pengamatan terhadap sifat organoleptis "virgin coconut oil" yang dihasilkan meliputi pengamatan bentuk, warna, bau dan rasa menunjukkan bahwa "virgin coconut oil" hasil teknik enzimatik ekstrak enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus* berupa cairan jernih tidak berwarna, berbeda dengan warna minyak kelapa tradisional (dengan

metode pemanasan santan pada suhu tak terkontrol) yang berwarna kuning kecoklatan. Warna ini disebabkan oleh suhu pengolahan, disamping juga jenis bahan yang digunakan. Pada pembuatan minyak kelapa tradisional dengan memanaskan santan pada suhu tinggi ($>100^{\circ}\text{C}$), gugus asam amino dari protein dan karbonil pada karbohidrat dari endosperma kelapa akan bereaksi sehingga menghasilkan warna kecoklatan. Pada penelitian ini menghasilkan "virgin coconut oil" berbau khas minyak kelapa yang unik, tidak tengik dan umumnya disukai oleh masyarakat (harum) dan tidak melengket di kulit. Aroma khas ini disebabkan oleh senyawa nonil metil keton yang terekstraksi optimal dengan metode ini. Sifat daya tahan minyak kelapa terhadap ketengikan disebabkan karena kandungan asam lemak jenuh yang tinggi pada trigliseridanya (sekitar 80%) (1).

2. Perhitungan Indeks Bias

Indeks bias "virgin coconut oil" hasil penelitian adalah 1,4484. Konstanta ini memenuhi standar mutu "virgin coconut oil" pada standarisasi APCC. Penentuan konstanta indeks bias ditujukan untuk menentukan kemurnian minyak dan apakah minyak telah melalui proses hidrogenasi atau tidak. Sebab, peningkatan pada konstanta ini menyatakan penambahan pada rantai karbon asam lemak penyusun trigliserida atau gugus rantai asam lemak tak jenuh dalam minyak. Karena itulah, konstanta ini juga berhubungan dengan bilangan iod,

dimana makin tinggi konstanta indeks bias dari standar baku maka makin tinggi bilangan iodnya dikarenakan kenaikan jumlah asam lemak tak jenuhnya yang bereaksi dengan iod bebas. Konstanta ini pun berhubungan dengan bobot molekul suatu minyak. Dengan adanya reaksi penambahan gugus karbon pada rantai asam lemak trigliseridanya, yang merupakan penambahan pada bobot molekul minyak tersebut, maka akan menaikkan konstanta indeks biasnya. Konstanta ini tentunya akan meningkat pada peningkatan suhu minyak.

3. Perhitungan Berat Jenis

Berat jenis "virgin coconut oil" hasil penelitian ini adalah 0,9187. Konstanta ini memenuhi standar mutu "virgin coconut oil" pada standarisasi APCC yaitu $0,915 - 0,921$. Konstanta ini berhubungan dengan kemurnian minyak dan proses yang telah dilalui minyak. Minyak yang mengalami pencampuran dengan bahan lain untuk mengurangi kuantitas minyak aslinya akan memiliki berat jenis yang berbeda. Begitu pula halnya dengan kandungan air pada minyak juga turut mempengaruhi perubahan berat jenis minyak tersebut.

IV. Analisis Sifat Kimia

1. Perhitungan Kadar Air

Kadar air "virgin coconut oil" hasil penelitian ini adalah 0,2% v/v. Konstanta ini memenuhi standar yang ditetapkan oleh APCC untuk "virgin coconut oil" yaitu $\leq 0,1-0,5\%$ v/v. Penentuan kadar air pada

minyak kelapa sangat penting untuk mengetahui mutu dari minyak kelapa tersebut. Kadar air yang rendah mencegah penurunan kualitas minyak karena enzim hidrolisis yang menyebabkan ketengikan minyak tidak dapat bekerja atau reaksi kimia lain yang memerlukan air dapat dikurangi. Di lain pihak, rendahnya kadar air juga mencegah pertumbuhan mikroorganisme pada minyak sehingga dapat melindungi minyak dari reaksi perusakan berupa rasa, bau yang tidak enak, dan juga perubahan warna. Nilai ini juga memberikan suatu kesimpulan bahwa produksi "virgin coconut oil" dengan teknik enzimatik pada penelitian ini mendukung kecilnya kadar air yang terkandung pada produk sehingga mencapai kisaran standar, disamping tentunya juga merupakan peranan keefektifan dari keseluruhan proses produksi dan jenis kelapa itu sendiri.

2. Perhitungan Bilangan Asam

Bilangan asam "virgin coconut oil" hasil penelitian ini adalah 0,4093 mg KOH/ 1 g minyak. Konstanta ini memenuhi standarisasi APCC untuk "virgin coconut oil" yaitu maksimum 0,5. Bilangan asam adalah jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas dari satu gram minyak atau lemak. Bilangan asam dipergunakan untuk mengukur jumlah asam lemak bebas yang terdapat dalam minyak atau lemak, yang berarti mengukur sifat ketengikan dari minyak tersebut. Bilangan ini bergantung pada kemurnian minyak itu sendiri, proses pengolahan dan juga pada penyimpanan minyak tersebut.

Sebab, pada pencampuran minyak ini dengan minyak lainnya, jika minyak mengalami proses hidrolisis pada penyimpanan maka akan melepaskan jenis dan kuantitas asam lemak bebas yang berbeda. Bilangan ini akan terus bertambah selama proses pengolahan dan penyimpanan. Terutama pada minyak-minyak, khususnya minyak yang mengandung asam lemak rantai jenuh yang tinggi, dengan kadar air yang tinggi disertai kontaminasi mikroba yang mengkatalisis reaksi hidrolisis minyak.. Hidrolisis umumnya sukar terjadi dalam lemak yang asam lemaknya terdiri dari 14 atom karbon, misalnya minyak kelapa. "Virgin coconut oil" berkarakteristik bilangan asam yang relatif lebih rendah (maksimum 0,5) (39) dibandingkan dengan minyak kelapa biasa (maksimum 4) (1).

3. Perhitungan Bilangan Iodum

Bilangan iodum "virgin coconut oil" hasil penelitian ini adalah 5,292 g iod/100 g minyak. Konstanta ini memenuhi standarisasi APCC untuk "virgin coconut oil" yaitu 4,1 - 11. Bilangan iod yang rendah ini menunjukkan bahwa minyak kelapa yang dihasilkan mengandung sedikit asam lemak tidak jenuh. Bilangan iod digunakan untuk menyatakan derajat ketidakjenuhan dan ketengikan minyak. Ikatan rangkap pada asam lemak tak jenuh akan bereaksi dengan iod bebas. Dengan demikian, gliserida dengan tingkat ketidakjenuhan tinggi akan mengikat iod dalam jumlah lebih besar dan ketengikan pun mudah terjadi. Faktor umur

kelapa yang digunakan diduga juga turut mempengaruhi konstanta ini. Kandungan asam lemak tak jenuh dari asam oleat dan linoleat dalam daging kelapa akan menurun seiring dengan bertambahnya kematangan buah (1).

4. Perhitungan Bilangan Penyabunan

Bilangan penyabunan "virgin coconut oil" hasil penelitian ini adalah 263,324 mg KOH/1 g minyak. Konstanta ini memenuhi standar mutu "virgin coconut oil" pada standarisasi APCC, yaitu $\geq 250-260$ mg KOH/ 1g minyak. Bilangan penyabunan tergantung dari bobot molekul. Minyak yang mempunyai bobot molekul rendah akan mempunyai bilangan penyabunan yang lebih tinggi dari pada minyak yang memiliki bobot molekul tinggi. Sebagai perbandingan, bobot molekul minyak kelapa 205 sedangkan minyak kelapa sawit 263 (9). Prinsip reaksi penyabunan ini sebenarnya adalah reaksi hidrolisis oleh basa menghasilkan gliserol dan garam dari asam lemak (sabun). Hidrolisis umumnya sukar terjadi dalam lemak yang asam lemaknya terdiri dari 14 atom karbon, misalnya minyak kelapa dan sawit.

5. Perhitungan Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida "virgin coconut oil" hasil penelitian adalah 1,2965 meq/kg minyak. Konstanta ini memenuhi standar mutu "virgin coconut oil" yang ditetapkan oleh APCC yaitu $\leq 3,0$ mEq/kg minyak. Bilangan peroksida adalah nilai terpenting untuk menentukan derajat

kerusakan pada minyak atau lemak. Asam lemak tidak jenuh dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya sehingga membentuk peroksida dan hidroperoksida. Tingkat selanjutnya adalah terurainya asam-asam lemak disertai dengan konversi hidroperoksida menjadi aldehid dan keton serta asam-asam lemak bebas. Campuran ini menyebabkan rasa getir dan ketengikan pada minyak. Dengan demikian peningkatan pada bilangan peroksida menandakan bahwa minyak sebentar lagi akan berbau tengik. Diketahui bahwa minyak kelapa adalah minyak dengan kandungan asam lemak tidak jenuh yang rendah (7,9%) (1), karena itulah menjadi tidak mudah teroksidasi. Minyak dalam penelitian ini diproduksi tanpa menggunakan pemanasan, diduga dengan dukungan itulah minyak yang diproduksi menjadi bernilai peroksida lebih rendah.

V. Analisis Mikrobiologi

Perhitungan cemaran mikroba "virgin coconut oil" hasil penelitian ini menunjukkan ALT $< 3,0 \times 10^3$ koloni/ml ($1,4 \times 10^3$), sedangkan jumlah total kapang dan khamir adalah $1,9 \times 10^2$ koloni/ml. Meskipun nilai ALT tidak memenuhi standarisasi APCC dan jumlah total kapang dan khamir merupakan karakteristik khusus jumlah kontaminan pada minyak hasil penelitian ini, dengan meninjau metode produksi "virgin coconut oil" yang menggunakan ekstrak enzim protease hasil proses fermentasi substrat tepung kedelai, maka wajarlah minyak yang dihasilkan mengandung

sejumlah kontaminan. Tetapi, dalam hal ini mikroba yang menyerang minyak atau lemak umumnya termasuk tipe nonpatogen. Hanya saja, kontaminan tersebut dapat menimbulkan kerugian karena dapat merusak minyak dengan menghasilkan cita rasa tidak enak di samping juga menimbulkan perubahan warna alami minyak dengan kegiatan hidrolisisnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan bahwa :

1. Ekstrak enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus* yang diekstraksi dari hasil fermentasi substrat padat tepung kedelai pada penelitian ini memiliki nilai aktivitas sebesar 28,032 SAPU, dapat dimanfaatkan untuk memproduksi “virgin coconut oil” secara enzimatik dan mampu untuk menghasilkan minyak dengan rendamen 18,37% b/b.
2. Analisis fisika terhadap produk sesuai dengan standar kualitas yang ditetapkan oleh “Asian and Pacific Coconut Community (APCC)” mengenai “virgin coconut oil”.
3. Analisis kimia terhadap produk sesuai dengan standar kualitas yang ditetapkan oleh “Asian and Pacific Coconut Community (APCC)” mengenai “virgin coconut oil”.
4. Analisis mikrobiologis terhadap produk yaitu ALT (Angka Lempeng Total) tidak memenuhi standar kontaminasi yang ditetapkan oleh “Asian and Pacific Coconut Community (APCC)” mengenai “virgin coconut oil”.
5. Analisis mikrobiologis terhadap produk yaitu jumlah total koloni kapang dan khamir merupakan kualitas tersendiri dari “virgin coconut oil” hasil penelitian ini.

V.2 Saran

1. Ekstrak enzim protease dari hasil penelitian ini hendaknya diformulasikan menjadi suatu sediaan yang siap pakai yang mempunyai tingkat kestabilan lebih baik dalam hal keaktifan dan masa simpan.
2. Perlu dilakukan analisis lanjutan selama rentang waktu tertentu secara berkala terhadap "virgin coconut oil" hasil penelitian ini sebagai upaya untuk mengontrol kualitas minyak selama masa penyimpanannya.
3. Perlu dilakukan analisis kualitatif dan kuantitatif lanjutan terhadap jenis asam-asam lemak penyusun trigliserida "virgin coconut oil".
4. Perlu dilakukan analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap jenis cemaran logam yang terdapat dalam "virgin coconut oil" hasil penelitian ini.
5. Perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi mikroba yang tumbuh pada minyak hasil produksi dengan metode ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nur, Andi, 2005, *Virgin Coconut Oil : Minyak Penakluk Aneka Penyakit*, Agro Media Pustaka, Jakarta, 1, 10-14, 17, 32-33, 63, 82-85, 89-90
2. Rindengan, B. & Novarianto, H., 2004, *Minyak Kelapa Murni: Pembuatan dan Pemanfaatan*, Jakarta, 6, 31, 38
3. Sutarmi & Rozaline, H., 2005, *Taklukkan Penyakit dengan VCO*, Penebar Swadaya, Jakarta, 11
4. Tim redaksi, 2005, Terapi Minyak Nabati, *Flora Serial, Edisi Serial Flora Khasiat 3*, PT. Duta Prima, Jakarta, 8,17-19
5. Miszkiewicz H., Bizukoje, M., Rozwandowicz, A., Bielecki, S., 2004, Physiological Properties And Enzymatic Activities of *Rhizopus oligosporus* in Solid State Fermentation, *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Biotechnology*, volume 7, issue 1, www.ejpau.media.pl/series/volume7/issue1/biotechnology/art-03.html, diakses tanggal 22 Agustus 2005
6. Enviromental Microbiology Laboratory, Inc., 2005, *Rhizopus sp.*, www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po?event=fungi&type=primary&species=31, diakses tanggal 27 agustus 2005
7. Haq, I.U. et al, 2003, Production of Protease by Locally Isolated Mould Culture under Lab Conditions, *Biotechnology Journal*, volume 2, No. 1, www.ansinet.org/fulltext/biotech/biotech2130-36.pdf, diakses tanggal 18 Agustus 2005
8. Rahman, A., 1992, *Tenologi Fermentasi*, Penerbit Arcan, Jakarta, 4,8,11
9. Ketaren,S., 1986, *Pengantar Teknologi Minyak dan lemak Pangan*, UI Press, Jakarta, 24-60
10. Suryanto, D., Nasution, S.K. & Yurnaliza, 2005, Potensi Isolat Bakteri dari Kepiting Batu untuk Menghasilkan Minyak Kelapa secara Fermentasi, *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* vol.10, No.1:14-16
11. Setiadji, B., 1987, Modifikasi Pemecahan Emulsi Santan Sebagai Upaya Mendapatkan Minyak Kelapa dan Blondo, *Buletin Biosains*, Pusat Antar Universitas Biosains

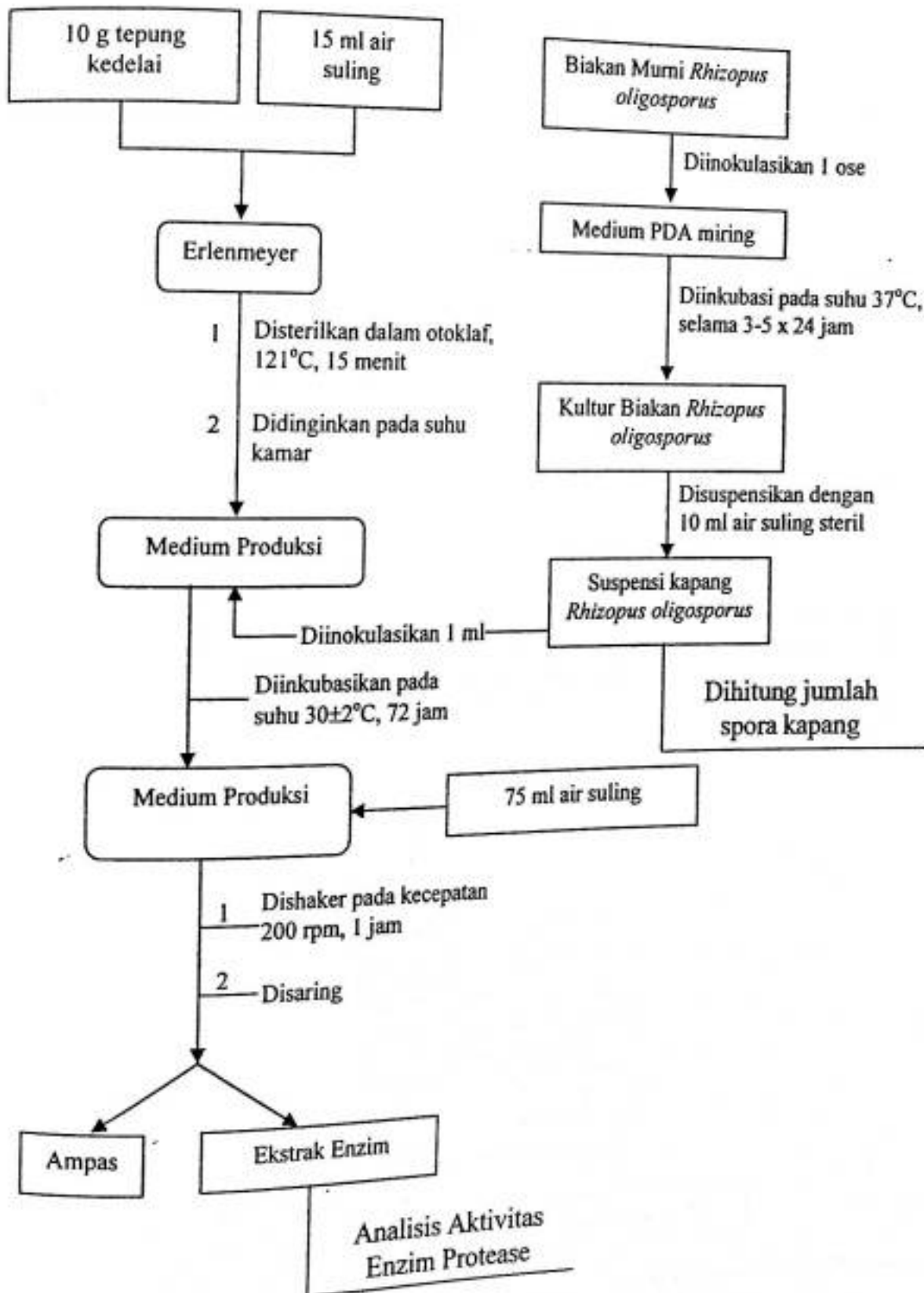
12. Pelczar Jr., M.J. dan Chan, E.C.S., 1986, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Buku I, UI press, Jakarta, 318,323,324
13. Page, D.S., 1989, *Prinsip-Prinsip Biokimia*, Penerjemah R. Soendoro, Penerbit Erlangga, Jakarta
14. Lehninger, 1988, *Dasar-dasar Biokimia*, Jilid I, Editor Maggy Thenawijaya, Penerbit Erlangga, Jakarta, 248
15. Dwidjoseputro, D., 1975, *Pengantar Mikrobiologi*, Edisi 2, Penerbit Alumni, Bandung, 92
16. Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Van Oorschot, C.A.N., 1981, *Introduction to Food-Borne Fungi*, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Institute of The Royal Netherlands Academy of Arts And Sciens, Netherland
17. Britz, M.L., Demain, A.L., 1985, *Regulation of Metabolite Synthesis*, dalam *Comprehensive Biotechnology*, vol.I, editor Moo-Young, Murray, Pergamon Press, New York, 617
18. Carlile, M.J dan Watkinson, S., 1995, *The Fungi*, Academic Press Harbourt Brace and Company Publisher, London, 122-131, 135-136
19. BRENDA The Comprehensive Enzyme Information System, 2005, *Rhizopuspepsin (3.4.23.21)*, www.brenda.uni-koeln.de/ectree/index.php4, diakses tanggal 25 Desember 2005
20. Univ. Francois-Rabelais, 2005, *Introduction to the Proteases*, www.delphi.phys.univ-tours.fr/Prolysis/introprotease.html , diakses tanggal 25 Desember 2005
21. Worthington Biochemical Corporation, 2005, *I.U.B 3.4.23.1 (Pepsin A)*, www.worthington-biochem.com/PM/default.html , diakses tanggal 25 Desember 2005
22. Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A., L., and Randall, R., J., 1951, Protein Measurement with The Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.* 193, 265-275
23. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), Proteolytic Activity, Fungal (SAP), *Guide to Specification for General Notice, General Analytical Techniques Identification Test*, www.apps3.fao.org/jecfa/additive_specs/docs/t0368e/t0368e08.htm, diakses tanggal 30 Januari 2005

24. Wikipedia project, 2005, *Kelapa*, www.ms.wikipedia.org/wiki/Kelapa.htm, diakses tanggal 24 Juli 2005
25. Tjitrosoepomo, G., 1994, *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 444,445
26. Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia I*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta, 467
27. Steenis, C.G.G.J.V., 1987, *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*, PT Pradnya Paramita, Jakarta, 239-240
28. Badan Pengendali Bimas, 1974, *Padi, Palawija dan Sayur-Sayuran*, Departemen Pertanian, Jakarta, 214
29. Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1981, *Daftar Komposisi Bahan Makanan*, Penerbit Bharata Karya Aksara, Jakarta, 21-23
30. Hadioetomo, R.S., 1990, *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Laboratorium*, PT Gramedia, Jakarta, 56-57
31. Masun, M.S. & Helmi, 2004, *Membuat Minyak Kelapa Secara Inovatif*, Adi Cita Karya Nusa, Yogyakarta
32. Difco, 1988, *Culture Media Handbook*, E-Merck, Darmstad, 121
33. Budji, R., Djide, M.N., Dwyana, Z., 1997, *Mikrobiologi Umum dalam Praktek*, FMIPA UNHAS, Makassar, 54
34. Mamesah, J.A.B., dkk., 1993 *Produksi, Isolasi, dan Pemurnian Enzim Protease dari Aspergillus niger*, Kursus Singkat Bioteknologi Angkatan II, Fakultas MIPA bekerjasama dengan Proyek BP3T DITJEN DIKTI, Makassar, 6-8
35. Darwis, A.A., dan Sukara, E., 1990, *Penuntun Praktikum : Isolasi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim*, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, DITJEN DIKTI, PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor, 13, 18
36. Kuswanto, K.R., 1997, *Isolasi dan Pengujian Aktifitas Enzim*, PAU Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta, 81-86
37. Ditjen POM, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 456, 767, 807-808, 815

38. Lay, B.W., 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, PT Raja Grafindo Persada, Jakarta, 47-50
39. Asian and Pacific Coconut Community, 2003, *APCC Standards For Virgin Coconut Oil*, www.apccsec.org/document/VCNO.PDF , diakses tanggal 30 Januari 2005
40. Baswardojo, 2005, *Seluk-Beluk Pembuatan Minyak Kelapa & VCO*, www.indo-coco.com/print.php?sid=15&POSTNUKESID=f7e80e5db93e856e2b07f8b1da5fed0 , diakses tanggal 25 Juli 2005

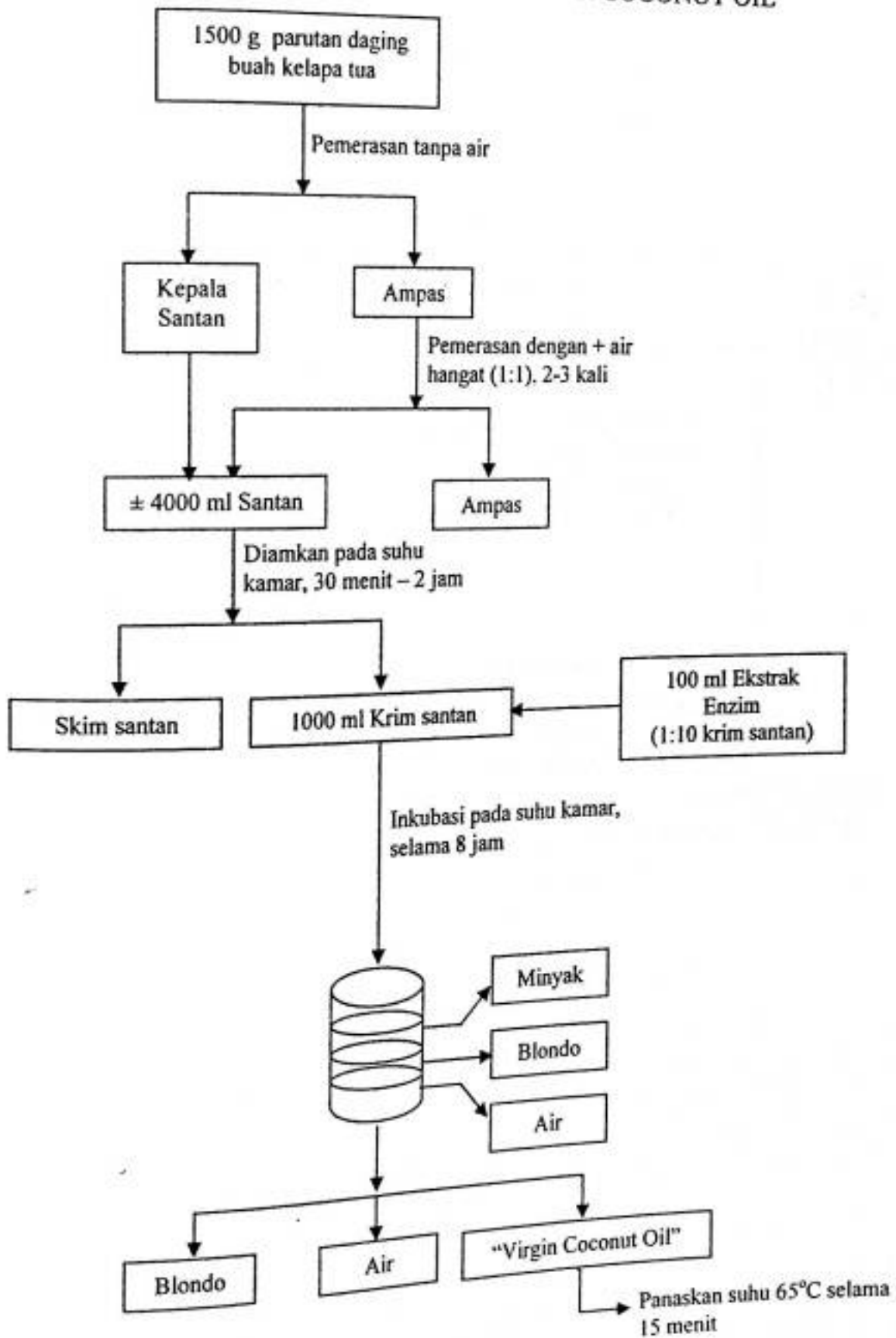
Skema 1

PROSES SINTESIS DAN EKSTRAKSI ENZIM PROTEASE



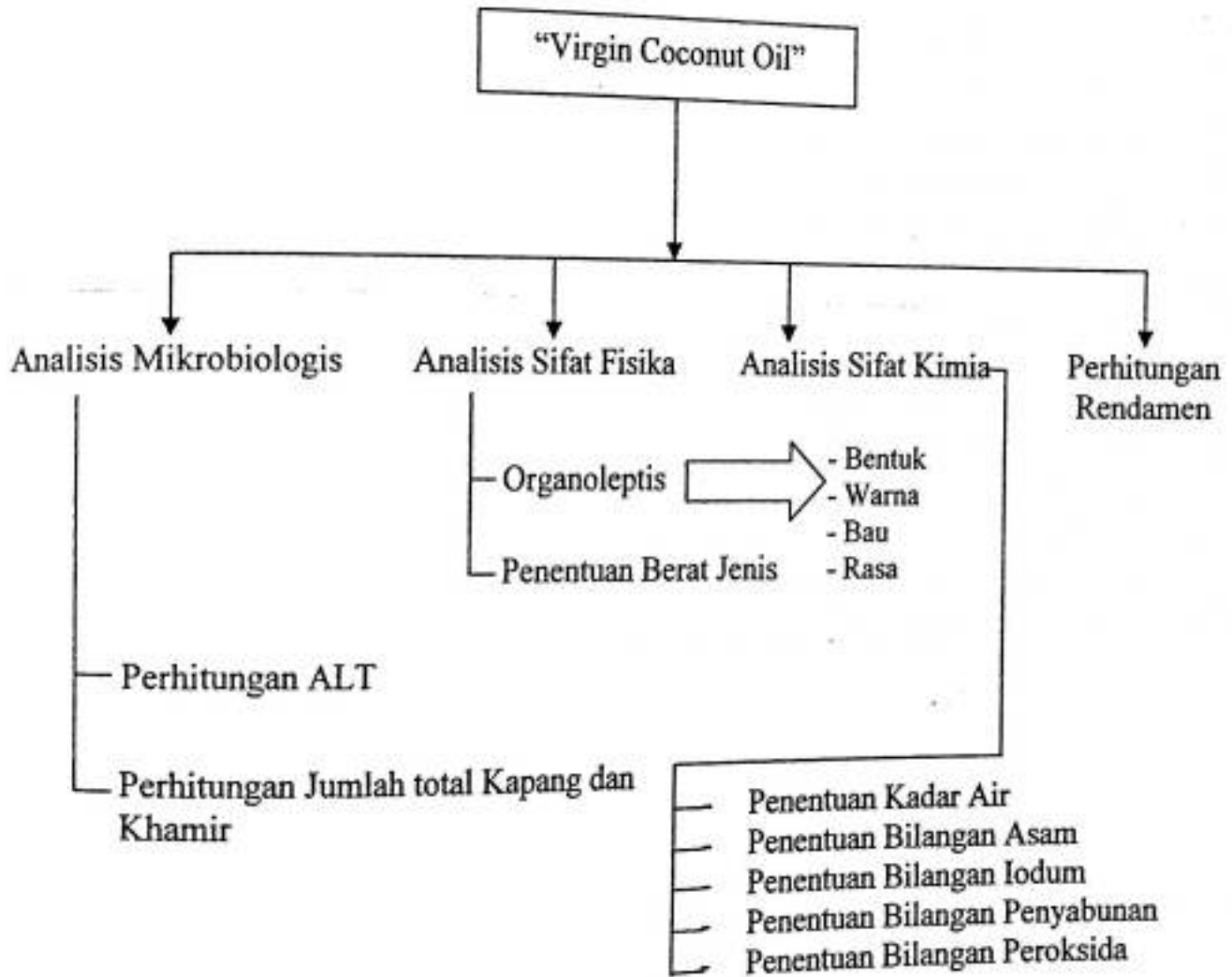
Skema 2

SKEMA KERJA PEMBUATAN "VIRGIN COCONUT OIL"



Skema 3

SKEMA KERJA ANALISIS "VIRGIN COCONUT OIL"



Tabel 4

STANDAR MUTU "VIRGIN COCONUT OIL"

Karakteristik	Kadar
Warna	Jernih kristal
Bau	Khas, tidak tengik, bebas dari bau bahan-bahan pencemar
Rasa	Rasa khas, tidak tengik, bebas dari rasa bahan-bahan pencemar
Berat Jenis	0,915 – 0,920
Indeks bias	1,448 – 1,4492
Bilangan asam	≤ 0,5
Bilangan iodum	4,1 – 11,0
Bilangan penyabunan	≥ 250 – 260
Bilangan peroksida	≤ 3,0 mEq/kg minyak
Kadar air	0,1 – 0,5 %
<i>Total plate count</i>	< 10 cfu

Sumber : "APCC (Asian and Pacific Coconut Community) Standards "

LAMPIRAN 1

1. Rendamen

Dari hasil "virgin coconut oil" yang diperoleh dapat dihitung rendamennya adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\% \text{ rendamen} &= \frac{\text{g minyak hasil produksi}}{\text{g hasil parutan kelapa}} \times 100\% \\ &= \frac{275,61}{1500} \times 100\% \\ &= 18,37 \% \text{ b/b}\end{aligned}$$

2. Berat jenis

Dari hasil minyak yang diperoleh dapat dihitung berat jenisnya adalah sebagai berikut :

$$\text{Berat piknometer kosong} = \text{I. } 15,637$$

$$\text{II. } 15,636$$

$$\text{Berat piknometer + minyak} = \text{I. } 38,594$$

$$\text{II. } 38,591$$

$$\text{Berat piknometer + air} = \text{I. } 40,629$$

$$\text{II. } 40,621$$

Berat jenis minyak pada suhu 25°C adalah =

$$\text{BJ} = \frac{(\text{berat piknometer + minyak}) - (\text{berat piknometer kosong})}{(\text{berat piknometer + air}) - (\text{berat piknometer kosong})}$$

$$I. BJ = \frac{38,594 - 15,637}{40,629 - 15,637}$$

$$= 0,9186$$

$$II. BJ = \frac{38,591 - 15,636}{40,621 - 15,636}$$

$$= 0,9188$$

$$BJ \text{ Rata-rata} = \frac{I + II}{2}$$

$$= \frac{(0,9186 + 0,9188)}{2}$$

$$= 0,9187$$

3. Kadar air

$$\text{Volume minyak} = 100 \text{ ml}$$

$$\text{Volume air hasil destilasi} = 0,2 \text{ ml}$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{0,2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 100 \% = 0,2 \% \text{ v/v}$$

4. Bilangan Asam

$$N \text{ KOH} = 0,0912 \text{ N}$$

$$\text{Volume titrasi} = I. 0,8 \text{ ml}$$

$$II. 0,8 \text{ ml}$$

III. 0,8 ml

$$\text{Rumus} = \frac{a \times 56,11 \times N}{g}$$

$$\begin{aligned} \text{I} &= \frac{0,8 \times 56,11 \times 0,0912}{10,001} \\ &= 0,4093 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{II} &= \frac{0,8 \times 56,11 \times 0,0912}{10,002} \\ &= 0,4093 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{III} &= \frac{0,8 \times 56,11 \times 0,0912}{10,000} \\ &= 0,4094 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{\text{I} + \text{II} + \text{III}}{3}$$

$$= \frac{0,4093 + 0,4093 + 0,4094}{3}$$

$$= 0,4093 \text{ mg KOH} / 1 \text{ g minyak}$$

5. Bilangan Iod

$$N \text{ Natrium tiosulfat} = 0,0902 \text{ N}$$

$$\text{Volume titrasi blanko} = 23,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume titrasi I} = 21,5 \text{ ml}$$

$$\text{II} = 21 \text{ ml}$$

$$\text{III} = 21 \text{ ml}$$

$$\text{Rumus} = \frac{(b - a) \times 0,1269 \times N \times 100}{g}$$

$$\begin{aligned} \text{I} &= \frac{(23,5 - 21,5) \times 0,1269 \times 0,0902 \times 100}{0,505} \\ &= 4,536 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{II} &= \frac{(23,5 - 21) \times 0,1269 \times 0,0902 \times 100}{0,504} \\ &= 5,6709 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{III} &= \frac{(23,5 - 21) \times 0,1269 \times 0,0902 \times 100}{0,504} \\ &= 5,6709 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{\text{I} + \text{II} + \text{III}}{3}$$

$$= \frac{4,5360 + 5,6709 + 5,6709}{3}$$

$$= 5,2920 \text{ g Iod} / 100 \text{ g minyak}$$

6. Bilangan penyabunan

$$N \text{ HCl} = 0,4630$$

$$\text{Volume titrasi blanko} = 27,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume titrasi I} = 16,7 \text{ ml}$$

$$\text{II} = 17,2 \text{ ml}$$

$$\text{III} = 20 \text{ ml}$$

$$\text{Rumus} = \frac{(b - a) \times 56,1 \times N}{g}$$

$$\begin{aligned} \text{I} &= \frac{(27,5 - 16,7) \times 56,1 \times 0,463}{0,995} \\ &= 281,932 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{II} &= \frac{(27,5 - 17,2) \times 56,1 \times 0,463}{0,966} \\ &= 276,951 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{III} &= \frac{(27,5 - 20) \times 56,1 \times 0,463}{0,843} \\ &= 231,088 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{\text{I} + \text{II} + \text{III}}{3}$$

$$= \frac{281,932 + 276,951 + 231,088}{3}$$

$$= 263,324 \text{ mg KOH} / 1 \text{ g minyak}$$

7. Bilangan Peroksida

$$N \text{ Natrium tiosulfat} = 0,01081$$

$$\text{Volume titrasi I} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{II} = 0,6 \text{ ml}$$

$$\text{III} = 0,6 \text{ ml}$$

$$\text{Rumus} = \frac{a \times N \times 1000}{g}$$

$$\begin{aligned} \text{I} &= \frac{0,5 \times 0,01081 \times 1000}{4,168} \\ &= 1,2967 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{II} &= \frac{0,6 \times 0,01081 \times 1000}{5,003} \\ &= 1,2964 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{III} &= \frac{0,6 \times 0,01081 \times 1000}{5,003} \\ &= 1,2964 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{\text{I} + \text{II} + \text{III}}{3}$$

$$= \frac{1,2967 + 1,2964 + 1,2964}{3}$$

$$= 1,2965 \text{ mEq/1000 g minyak}$$

8. Hasil Perhitungan Jumlah Spora Suspensi Kapang *Rhizopus oligosporus*Tabel 5. Hasil Perhitungan Jumlah Spora Suspensi Kapang *Rhizopus oligosporus* dalam 80 kotak kecil pada Hemasitometer

Replikasi	Jumlah spora
I	116
II	124
III	107

Jumlah spora suspensi kapang *Rhizopus oligosporus* per 1 ml =

$$I = 5 \times 116 \times 10^4 = 5,80 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$II = 5 \times 124 \times 10^4 = 6,20 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$III = 5 \times 107 \times 10^4 = 5,35 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Jumlah spora rata-rata} = \frac{I + II + III}{3}$$

$$= \frac{(5,80 + 6,20 + 5,35) \times 10^6}{3}$$

$$= 5,78 \times 10^6 \text{ sel / ml.}$$

9. Perhitungan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Protease *Rhizopus oligosporus*

Tabel 6. Nilai Serapan Sampel pada 656 nm

Replikasi	Serapan
I	0,2409
II	0,2177
III	0,2174
Serapan rata-rata	0,2253

Konsentrasi larutan L-tyrosin standar (C_{st})	= 20 ppm (BM L-tyrosin 181,19)
	= 110,3813 μ mol
Serapan L-tyrosin standar (A_{st})	= 0,1035
Serapan Sampel (A_x)	= 0,2253
Volume total pengujian (V_t)	= 7 ml
Waktu inkubasi (t)	= 60 menit
Panjang gelombang maksimum (λ maks)	= 656 nm

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas (SAPU)} &= \frac{\left(\frac{A_x}{A_{st}}\right) \times C_{st} \times V_t}{t} \\ &= \frac{\left(\frac{0,2253}{0,1035}\right) \times 110,3813 \times 7}{60} \\ &= 28,032 \text{ SAPU} \end{aligned}$$

Hasil produksi "virgin coconut oil" secara enzimatis dengan replikasi sebanyak 2 kali adalah sebagai berikut :

Tabel 7 : Volume "virgin coconut oil" yang diperoleh dari 500 ml krim santan

Replikasi	Volume (ml)
I	150
II	150
Rata-rata	150

11. Hasil ALT (Angka Lempeng Total) dan jumlah total kapang dan khamir "virgin coconut oil" secara enzimatik dengan replikasi sebanyak 3 kali adalah sebagai berikut :

Tabel 8 : ALT (Angka Lempeng Total) dan jumlah total kapang dan khamir "virgin coconut oil" dengan teknik produksi enzimatik

Replikasi	ALT			Jumlah Total kapang dan khamir		
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
I	10	1	0	22	11	2
II	15	4	2	18	11	2
III	17	7	4	17	11	0
Rata-rata	14	4	2	19	11	1,33 (1)

1. Jumlah Total Kapang dan Khamir

Berdasarkan petunjuk perhitungan angka kapang dan khamir PPOMN 2000 poin ii, didapat 2 tingkat pengenceran yang jumlah rata-rata koloninya menunjukkan jumlah antara 10-150, yaitu pengenceran 10^{-1} (19 koloni) dan 10^{-2} (11 koloni). Karena jumlah rata-rata koloni pada tingkat pengenceran 10^{-2} lebih besar dari 2 kali jumlah rata-rata koloni pada tingkat pengenceran 10^{-1} ($1,1 \times 10^3 > (2 \times) 1,9 \times 10^2$) maka diambil jumlah koloni rata-rata dari tingkat pengenceran yang lebih rendah (dari pengenceran 10^{-2}), yaitu 19 koloni.

Jadi, jumlah total kapang dan khamir “virgin coconut oil” hasil penelitian ini

$$= 19 \times 1 / 10^{-1} \text{ koloni / ml}$$

$$= 19 \times 10^1 \text{ koloni /ml.}$$

$$= 1,9 \times 10^2 \text{ koloni / ml.}$$

2. ALT (Angka Lempeng Total)

Berdasarkan petunjuk perhitungan angka lempeng total bakteri, maka jumlah rata-rata koloni dari tiap pengenceran tidak ada yang memenuhi syarat APCC, yaitu < 10 koloni/ml. Oleh sebab itu, jumlah angka lempeng total bakteri diambil dari jumlah rata-rata koloni pada tingkat pengenceran paling rendah (pengenceran 10^{-2}), yaitu 14.

Jadi, angka lempeng total bakteri pada “virgin coconut oil” hasil penelitian

$$\text{ini} = < 3,0 \times 10^3 \text{ koloni /ml}$$

$$= (14 \times 1/10^{-2}) \text{ koloni/ml}$$

$$= (14 \times 10^2) \text{ koloni/ml}$$

$$= (1,4 \times 10^3) \text{koloni/ml.}$$

LAMPIRAN 2

Spektrum Serapan Larutan Standar L-tyrosin 20 ppm

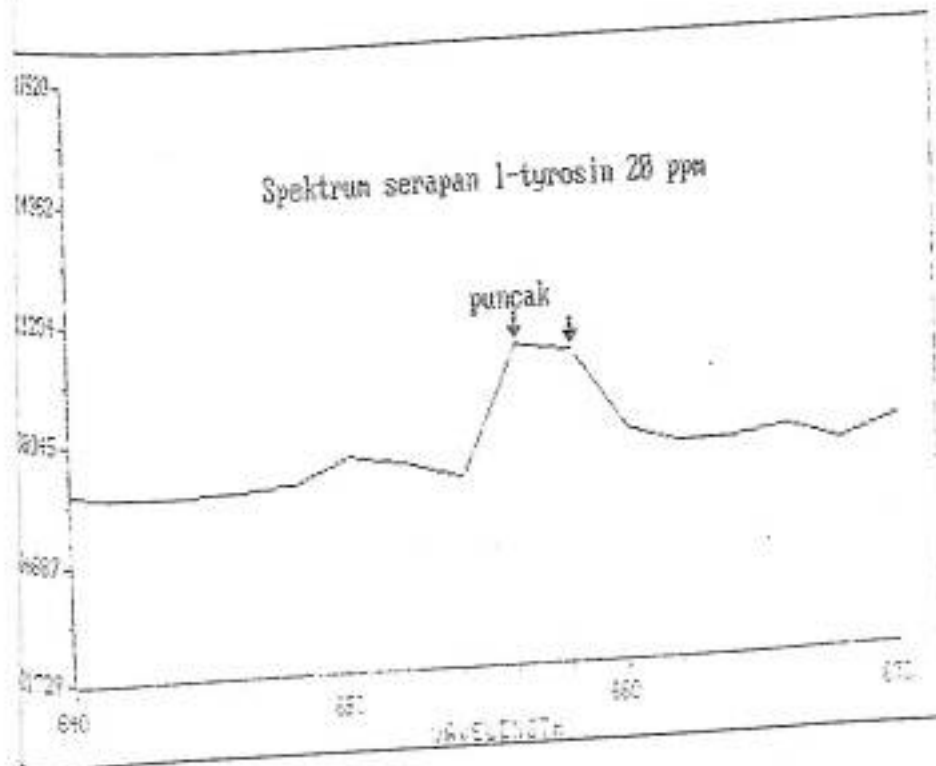
---> WAVELENGTH SCAN REPORT <---

Date : 07-29-2005
Time : 09:43:00
Operator : Not Entered

Name : C:\NUSVA\A\tyr2045.48V

File Name : L-tyrosin
Event Name : 01000100
Concentration : 20.0000
Path : nm

Function : Absorbance
Wavelength Range : 190 to 820 nanometers
Integration Time : 1 seconds
Std Deviation : OFF



Wavelength: 420 Result = 0.107570
Wavelength: 425 Result = 0.101745

LAMPIRAN 3

Spektrum Serapan Sampel

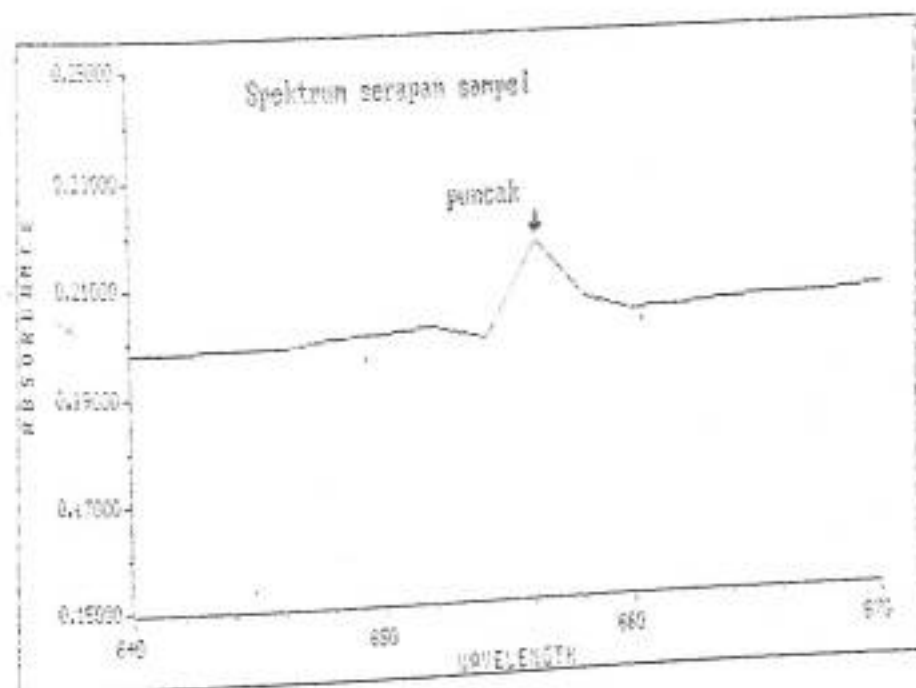
---> WAVELENGTH SCAN REPORT <---

Date : 07-12-2005
Time : 03:05:41
Operator : Not Entered

File Name : C:\UV\DATA\lamps3.WAV

Sample Name : Capsule 12
Solvent Name : H₂O
Concentration : 1.0000
Units : %T

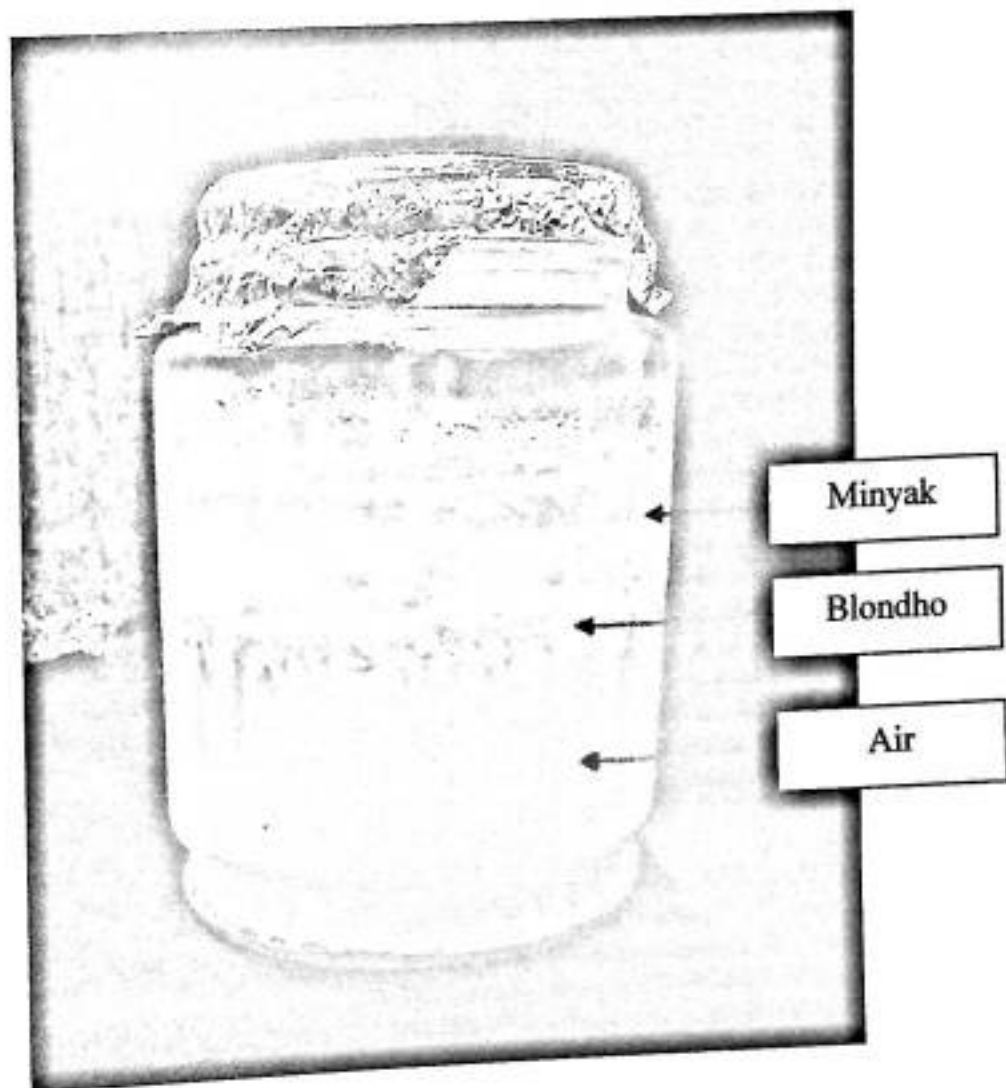
Function : Absorbance
Wavelength Range : 190 to 820 nanometers
Integration Time : 1 seconds
Std Deviation : OFF



Annotated Wavelengths:
(: Wavelength) = 656 Result = 0.217377



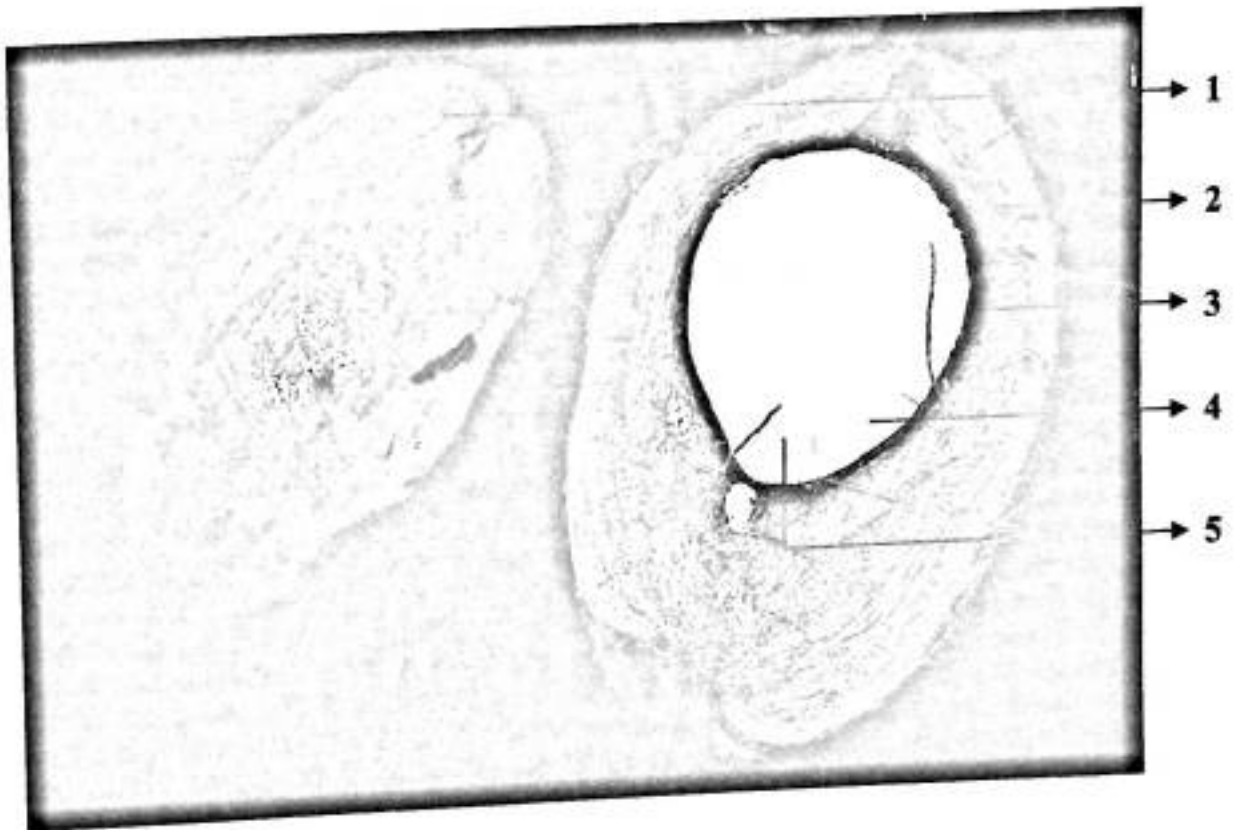
Gambar 1. Ekstrak Enzim Protease Kapang *Rhizopus oligosporus*



Gambar 2. "Virgin coconut oil" hasil produksi dengan metode enzimatik menggunakan ekstrak enzim protease kapang *Rhizopus oligosporus*. Masa inkubasi = 8 jam

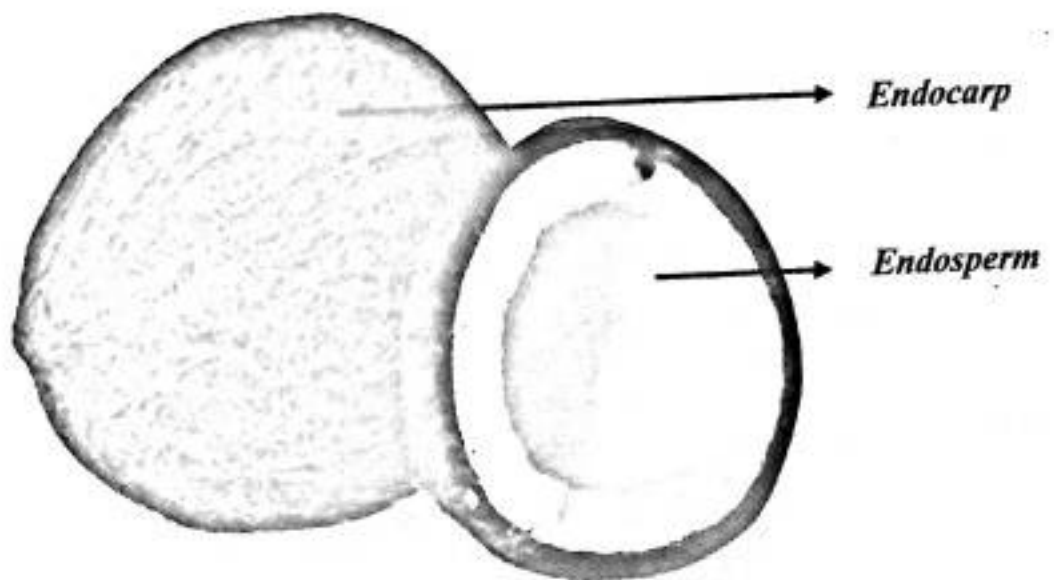


Gambar 3. "virgin coconut oil"



Gambar 4. Buah Kelapa Utuh

- Keterangan :
1. *Exocarp*
 2. *Mesocarp*
 3. *Endocarp*
 4. *Endosperm*
 5. *Embryo*



Gambar 5. Buah Kelapa (dari *endocarp* sampai *endosperm*)

LAMPIRAN 4

DEFINISI OPERASIONAL

ALT (Angka Lempeng Total)

Jumlah bakteri aerob mesofil dalam tiap 1 gram atau 1 ml contoh.

Asam Lemak ("fatty acid")

Suatu rantai hidrokarbon suku tinggi (jumlah atom C 14-22) atau suku tengah (jumlah atom C 6-12) dengan grup asam karboksilat pada salah satu ujungnya, bersama-sama dengan gliserol membentuk gugus trigliserida.

Asam Lemak Bebas ("free fatty acid")

Asam lemak yang lepas dari gugus trigliserida minyak atau lemak.

Asam Lemak Jenuh ("saturated fatty acid")

Jenis asam lemak dengan ikatan antar atom karbon berupa jenis ikatan tunggal.

Asam Lemak Tak Jenuh ("unsaturated fatty acid")

Jenis asam lemak dengan ikatan antar atom karbon berupa jenis ikatan rangkap.

APCC ("Asian and Pacific Coconut Community")

Merupakan suatu organisasi antar-pemerintah yang melingkupi 15 negara produsen kelapa terbesar di dunia, yang produk kelapanya serta jumlah eksport produk kelapanya meliputi lebih dari 90% jumlah produk kelapa dunia.

"Dessicated coconut"

Kelapa parut kering

Eksoprotease (eksopeptidase)

Jenis enzim proteolitik yang bekerja mendegradasi protein dengan cara memutuskan ikatan-ikatan peptida antar asam-asam amino pada bagian luar atau ujung rantai protein secara bertahap, baik dari ujung N atau C.

Endoprotease (endopeptidase; proteinase)

Jenis enzim proteolitik yang bekerja memutuskan ikatan-ikatan peptida dalam rantai protein.

Ikatan Peptida

Ikatan yang menghubungkan antar 2 gugus asam amino, yang merupakan ikatan antara atom N- terminal asam amino satu dengan atom C- karboksilat terminal asam amino lainnya, sehingga membentuk satu gugus peptida.

“MCT” (“Medium Chain Triglyceride”)

Trigliserida yang mengandung asam-asam lemak jenuh dengan panjang rantai karbon sedang, dengan jumlah atom C 6-12.

“MCFA” (“Medium Chain Fatty Acid”)

Asam-asam lemak jenuh dengan panjang rantai karbon sedang, dengan jumlah atom C 6-12.

“Medium Chain Saturated Fatty Acid”

(Asam lemak jenuh rantai sedang) Jenis asam lemak jenuh, dengan jumlah atom karbon pada rantai karbon jenuhnya antara 6-12 C.

Protease (enzim proteolitik; peptidase)

Jenis enzim yang mengkatalisis penghancuran protein dengan mekanisme menghidrolisis ikatan-ikatan peptida yang menghubungkan asam-asam amino penyusun gugus protein.

Protease Asam

Enzim proteolitik yang mampu menghidrolisis protein di bawah kondisi asam.

“RBD (“Refined, Bleached, Deodorized”) Oil”

Jenis minyak kelapa komersil yang diperoleh dari bahan baku endosperma kelapa yang telah dikeringkan dengan beberapa cara tertentu, disebut kopra, yang telah mengalami proses penyulingan bersuhu tinggi, pengelantangan, penghilangan bau dan kadang-kadang dihidrogenasi sebelum dipasarkan di masyarakat.

SAPU (“Spectrophotometric Acid Protease Unit”)

Unit satuan aktivitas enzim protease asam kapang, didefinisikan sebagai besarnya aktivitas protease yang mampu membebaskan 1 mikromol tyrosin per menit di bawah kondisi spesifik, yang ditampilkan sebagai hasil perhitungan dengan melibatkan hasil serapan dan konsentrasi larutan standard dan sampel yang telah bereaksi dengan enzim. Atau 1 SAPU didefinisikan sebagai jumlah enzim protease asam kapang yang dibutuhkan untuk menghasilkan peningkatan densitas optic sebesar 0,1 di bawah kondisi tertentu yang dipersyaratkan.

“Total Plate Count”

Sama dengan Angka Lempeng Total.

Trigliserida

Senyawa ester kompleks, yang merupakan hasil reaksi antara 1 gugus gliserol dengan 3 jenis asam lemak yang sama atau berbeda tingkat kejenuhan antar ketiganya atau keduanya.

“Virgin Coconut Oil”

Jenis minyak kelapa yang diolah dari bahan baku endosperma kelapa tua dan segar tanpa melalui proses penyulingan, yang berarti suhu prosesnya lebih rendah dan tanpa penggunaan bahan kimia. Dapat diperoleh secara mekanis ataupun cara alamiah lainnya, dengan atau tanpa melalui proses pemanasan, tanpa menyebabkan perubahan pada minyak tersebut.