

ANALISIS KUANTITATIF ASAM OLEAT DAN LINOLEAT *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) YANG DIBUAT DENGAN VARIASI RASIO SARI BUAH NANAS (*Ananas comosus* L.) DAN KRIM SANTAN KELAPA

Gunarsih, H. P.¹, Widjaja, I N. K.¹, Larasanty, L. P. F.¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

Korespondensi : Heidy Putri Gunarsih
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana
Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837
E-mail : putri_heidy@yahoo.com

ABSTRAK

Sari buah nanas (*Ananas comosus*) memiliki kandungan protease bromealin yang potensial digunakan dalam proses pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO). Asam oleat dan linoleat merupakan asam lemak tak jenuh yang terkandung dalam VCO, dimana senyawa ini mudah teroksidasi dan menyebabkan ketengikan minyak. Kadar asam oleat dan linoleat pada minyak menjadi salah satu faktor yang turut berpengaruh dalam kualitas suatu minyak. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar asam oleat dan linoleat dari VCO yang dibuat dengan variasi rasio sari buah nanas : krim santan kelapa.

Pada penelitian ini dilakukan analisis pengaruh 3 variasi rasio sari buah nanas : krim santan kelapa (0,5:1) sebagai kelompok A; (1:1) sebagai kelompok B; dan (2:1) sebagai kelompok C terhadap kadar asam oleat dan linoleat dari VCO yang dihasilkan. Penetapan kadar asam oleat dan linoleat VCO dilakukan dengan metode *Gas Chromatography* (GC-FID) dengan kolom RTX-WAX, gas pembawa helium, dan detektor *Flame Ionization Detector*. Analisis data dilakukan dengan analisis statistik *one-way ANOVA*.

Penetapan kadar asam oleat dan linoleat menunjukkan ketiga rasio uji berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Kadar asam oleat dalam VCO kelompok A, B, dan C secara berurutan adalah 1,65%; 2,42%; dan 2,54%. Sedangkan kadar asam linoleat VCO kelompok A, B, dan C adalah sebesar 0,42%; 0,51%; dan 0,56%.

Kata kunci : *Virgin Coconut Oil* (VCO), Asam Oleat, Asam Linoleat, Kromatografi Gas

1. PENDAHULUAN

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan minyak kelapa yang diperoleh dari daging buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) tua yang segar dan diproses dengan atau tanpa penambahan air, tanpa pemanasan atau pemanasan tidak lebih dari 60°C (SNI, 2008). VCO merupakan minyak nabati yang fungsional dan telah dimanfaatkan secara luas dalam formulasi makanan bayi, sebagai bahan tambahan makanan, basis dalam produk kosmetik dan perawatan kulit, bahan dalam produk sabun dan pembersih, maupun sebagai produk makanan *nutraceutical* (Bawalan, 2011). Menurut Fife (2004), VCO menunjukkan aktivitas antiinflamasi, dan antioksidan. VCO juga mampu menstimulasi proses metabolisme tubuh, meningkatkan energi, serta mencegah deposisi lemak sehingga dapat digunakan untuk mencegah terjadinya obesitas (Dayrit, 2003). VCO memiliki aktivitas antimikroba (Dalmacion *et al.*, 2012), antiviral, antiatherogenik, antikarsinogenik, antiplatelet, antitumor dan aktivitas immunostimulator (Carandang, 2008).

Sari buah nanas (*Ananas comosus*) memiliki kandungan protease yang disebut dengan bromealin (Hui, 1992). Bromealin mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul asam amino (Herdyastuti, 2006). Penambahan larutan yang mengandung protease ke dalam krim santan dapat membantu memecah protein yang berperan sebagai pengemulsi pada santan sehingga dapat meningkatkan rendemen VCO yang terekstraksi dari krim santan (Winarti dkk, 2007).

VCO yang dihasilkan juga diharapkan memiliki kualitas yang baik yang ditandai dengan kadar asam lemak tidak jenuh oleat dan linoleat yang minimal. Kandungan asam lemak tidak jenuh pada minyak akan mempengaruhi kualitas minyak dimana asam lemak tidak jenuh mudah mengalami reaksi oksidasi yang dapat menyebabkan terjadinya ketengikan minyak (Chaiyasit *et al.*, 2007).

Berdasarkan uraian di atas akan dikaji lebih lanjut pengaruh rasio sari buah nanas dan krim santan kelapa terhadap kadar asam oleat dan asam linoleat dari VCO yang dihasilkan. Metode GC

(*Gas Chromatography*) digunakan untuk menentukan kadar asam lemak tidak jenuh oleat dan linoleat dalam VCO yang dihasilkan (SNI, 2008).

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kelapa jenis kelapa hijau serta buah nanas. Bahan-bahan kimia yang digunakan memiliki derajat kemurnian pro analisis dari Merck Germany yaitu natrium hidroksida (NaOH), kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), kloroform, asam sulfat, petroleum eter, metanol, serta standar asam oleat dan linoleat (*Sigma-Aldrich*).

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas, seperti pipet ukur (*IWAKI Pyrex*), labu ukur (*IWAKI Pyrex*), gelas beker (*IWAKI Pyrex*), tabung reaksi (*IWAKI Pyrex*), erlenmeyer (*IWAKI Pyrex*), botol timbang (*IWAKI Pyrex*) dan vial. Selain itu, timbangan analitik (*AND*), *ballfiller*, sentrifugator (*PLC-Series*), penangas air (*Corning PC-400D*), pH-meter (*Oakton*), parutan kelapa (*Kiyomizu*), *mixer* (*Phillips*), dan *blender* (*Miyako*). Analisis kromatografi dilakukan dengan GC-FID Shimadzu GC-2025 dengan kolom *RTX®-WAX* (30 m x 0,25 mm, dengan ketebalan 0,25 μm), gas pembawa Helium, gas pembakar Hidrogen, dan *Flame Ionization Detector*.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Ekstraksi Sari Buah Nanas dan Identifikasi Kandungan Bromealin

Sebanyak 500g daging buah nanas dipotong kecil-kecil, ditambahkan akuades (1:1) dan diblender. Larutan yang diperoleh disaring dan diambil filtratnya. Filtrat sari buah nanas ditambahkan larutan buffer natrium fosfat pH 7 (1:1), disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 5000 rpm dan disaring. Filtrat yang digunakan sebagai sari buah nanas dalam pembuatan VCO.

Identifikasi kandungan bromealin dilakukan dengan menambahkan 10 mL larutan uji kedalam 10 mL larutan susu skim 20% yang telah diatur pH larutan hingga pH 5,5 dengan larutan asam asetat 10%. Campuran dipanaskan hingga suhu 37°C. Apabila terjadi koagulasi pada larutan, maka sampel positif mengandung bromealin (Anonim, 2012).

2.3.2 Pembuatan VCO dengan Variasi Rasio Sari Buah Nanas : Krim Santan Kelapa

Ditimbang sebanyak 400g kelapa parut, ditambahkan 200 mL akuadest (2:1), diaduk dengan *mixer* dan diperas hingga diperoleh santan. Santan

didiamkan selama 30 menit dan diambil sebanyak 30 mL fase krim yang terbentuk. Fase krim ditambahkan sari buah nanas sesuai rasio uji yaitu sari buah nanas : krim (0,5:1); (1:1); dan (2:1). Campuran diaduk, didiamkan selama 2 jam, dan diambil fase krim yang terbentuk. Fase krim disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Fase minyak yang terbentuk dituang dan disimpan dalam wadah. Prosedur diulangi kembali untuk variasi rasio sari buah nanas lainnya. Prosedur dilakukan sebanyak 3 kali.

2.3.3 Preparasi FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*)

Sebanyak 0,1g sampel minyak dilarutkan dalam 50 mL larutan 0,2 M asam sulfat dalam metanol, dan direfluks pada suhu 100°C selama 30 menit. Campuran didinginkan pada suhu ruang, ditambahkan 10 mL petroleum eter dan 10 mL aquades, kemudian digojog perlahan. Campuran didiamkan hingga terbentuk 2 fase, diambil fase petroleum eter dan diuapkan hingga kering. Campuran direkonstitusi dengan metanol dan digunakan sebagai larutan sampel (Kostik *et al.*, 2013).

2.3.4 Uji Kadar Asam Oleat dan Linoleat VCO

Dibuat larutan seri standar asam oleat dengan konsentrasi 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; dan 0,25 mg/mL. Larutan seri standar asam linoleat dibuat dengan konsentrasi 0,005; 0,01; 0,025; 0,035; dan 0,05 mg/mL. Larutan seri standar oleat masing-masing diinjeksikan sebanyak 1 μL dan dilakukan *running* pada GC-FID secara bergantian. Prosedur diulangi untuk larutan seri standar asam linoleat. Diamati *peak-peak* yang muncul, dibuat kurva kalibrasi larutan seri standar oleat serta linoleat, dan ditentukan persamaan regresi linier serta nilai r.

Larutan sampel masing-masing diinjeksikan sebanyak 1,5 μL dan dilakukan *running* pada GC-FID. Diamati *peak-peak* yang muncul dan dihitung kadar asam oleat serta linoleat dengan menggunakan persamaan regresi linier larutan seri standar. Dilakukan validasi metode meliputi penentuan nilai presisi, akurasi, LOD (*Limit of Detection*), LOQ (*Limit of Quantitation*) serta linearitas.

Analisis data kadar asam oleat dan linoleat VCO dari tiap variasi rasio uji dilakukan dengan menggunakan *one-way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95%.

3. HASIL

Hasil uji identifikasi menunjukkan bahwa larutan sari buah nanas positif mengandung bromealin yang ditunjukkan dengan terjadinya koagulasi pada larutan (lingkaran berwarna merah).



Gambar 1. Hasil Identifikasi Kandungan Bromelain

Dengan membandingkan profil kromatogram ester standar asam oleat dan asam linoleat dengan profil kromatogram blanko, diketahui waktu retensi asam oleat adalah 8,7 menit (lingkaran hijau) dan waktu retensi asam linoleat adalah 9,3 menit (lingkaran merah) (Gambar 2).

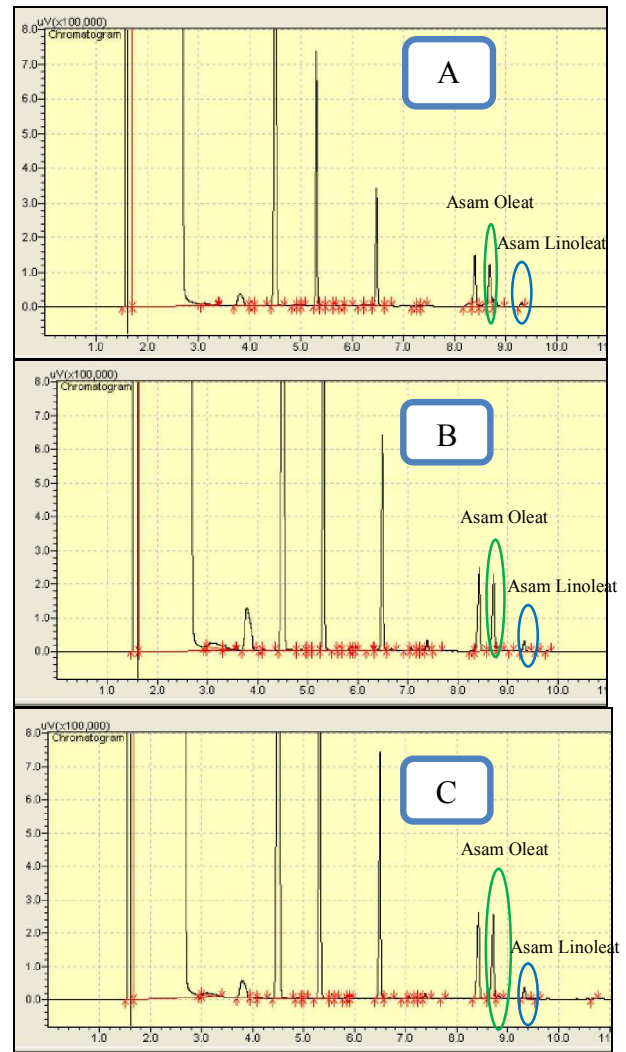
Tabel 1. Nilai Kadar Rata-Rata Asam Oleat dan Linoleat Sampel VCO

VCO	Kadar Asam Oleat±SD (%)	Kadar Asam Linoleat±SD (%)
A	1,65±0,006	0,4212±0,0004
B	2,42±0,010	0,5143±0,0041
C	2,54±0,002	0,5618±0,0047

Keterangan:

- A : VCO dari Rasio Sari Buah Nanas : Krim Santan (0,5:1)
- B : VCO dari Rasio Sari Buah Nanas : Krim Santan (1:1)
- C : VCO dari Rasio Sari Buah Nanas : Krim Santan (2:1)

Uji presisi standar asam oleat dan linoleat menunjukkan nilai koefisien variasi (KV) <2% sehingga memenuhi persyaratan. Uji akurasi menunjukkan nilai persen perolehan kembali sebesar 99,8%; 100,1%; dan 100,4% untuk standar oleat serta 100,6%; 99,6%; dan 100,3% untuk standar linoleat. Uji linearitas menunjukkan nilai r^2 sebesar 0,996 untuk standar oleat dan 0,9991 untuk standar linoleat.



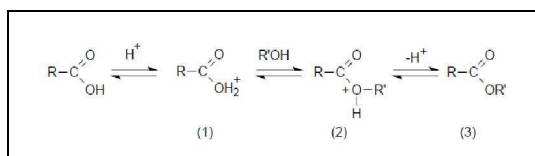
Gambar 2. Kromatogram Sampel dari 3 Variasi Rasio Uji

- Keterangan : A = VCO dari Rasio Sari Buah Nanas : Krim Santan (0,5:1)
 B = VCO dari Rasio Sari Buah Nanas : Krim Santan (1:1)
 C = VCO dari Rasio Sari Buah Nanas : Krim Santan (2:1)

4. PEMBAHASAN

Tahap ekstraksi dilakukan bertujuan untuk menarik kandungan bromelain, yang merupakan suatu protease alamiah dalam jaringan tumbuhan nanas (*Ananas comosus*), termasuk bagian daging buah (Bartholomew *et al.*, 2003). Pemilihan daging buah nanas sebagai sumber bromelain dikarenakan kandungan bromelain pada bagian daging buah nanas lebih tinggi dibandingkan dengan bagian nanas lain seperti batang, kulit buah, dan mahkota buah (Mulyono *et al.*, 2013). Bromelain merupakan salah satu jenis protease yang memiliki aktivitas *milk clotting* atau koagulasi susu (Kruif, 1999).

Analisis kandungan asam oleat dan asam linoleat dalam sampel VCO yang diperoleh dari rasio sari buah nanas : krim santan kelapa (0,5:1); (1:1); dan (2:1) dilakukan dengan menggunakan metode GC. Metode analisis GC memungkinkan penentuan komposisi asam lemak pada sampel minyak dalam waktu yang relatif singkat (Christie, 1989). Untuk dapat diinjeksikan ke dalam sistem GC-FID, asam lemak tidak jenuh oleat dan linoleat dalam VCO perlu diderivatisasi terlebih dahulu menjadi bentuk metil esternya atau yang dikenal dengan FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) untuk meningkatkan volatilitasnya. Mekanisme pembentukan metil ester dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Reaksi Pembentukan Metil Ester (Christie, 1989).

Dari analisis yang dilakukan, diketahui bahwa asam oleat memiliki waktu retensi 8,7 menit, sedangkan asam linoleat memiliki waktu retensi 9,3 menit dengan kadar sesuai yang tertera pada tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa metode derivatisasi asam lemak yang dilakukan mampu menghasilkan bentuk ester dari asam oleat dan linoleat sehingga memungkinkan untuk dideteksi oleh sistem GC. Penetapan kadar asam oleat dan linoleat pada masing-masing sampel VCO dilakukan dengan memanfaatkan persamaan regresi linier dari larutan seri standar asam oleat dan linoleat. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data tabel 1 memenuhi persyaratan untuk dilakukan analisis statistik *one-way ANOVA* ($p > 0,05$). Hasil analisis menunjukkan perbedaan signifikan antara variasi rasio sari buah nanas : krim santan kelapa terhadap kadar asam oleat VCO yang dihasilkan ($p < 0,05$). Hasil uji statistik *post-hoc LSD* menunjukkan bahwa ketiga kelompok variasi uji menghasilkan VCO dengan kadar asam oleat yang berbeda secara signifikan antara kelompok satu dengan kelompok lainnya ($p < 0,05$), dengan kecenderungan peningkatan kadar asam oleat yang dihasilkan seiring dengan peningkatan volume sari buah nanas yang digunakan.

Hasil analisis kadar asam linoleat juga menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara variasi rasio sari buah nanas : krim santan kelapa terhadap kadar asam linoleat VCO yang dihasilkan ($p < 0,05$). Hasil uji statistik *post-hoc LSD* menunjukkan bahwa ketiga kelompok variasi uji menghasilkan VCO dengan kadar asam linoleat yang berbeda secara signifikan antara kelompok

satu dengan kelompok lainnya ($p < 0,05$), dengan kecenderungan peningkatan kadar asam linoleat yang dihasilkan seiring dengan peningkatan volume sari buah nanas yang digunakan.

Standar Nasional Indonesia (2008) memberikan persyaratan kadar asam oleat dalam sampel VCO yaitu antara 5-10% dan untuk asam linoleat yaitu antara 1-2,5%. Kadar asam oleat dan linoleat yang terkandung pada sampel penelitian lebih kecil dari persyaratan kadar asam oleat dan linoleat VCO dalam SNI. Asam oleat dan linoleat memiliki ikatan rangkap dalam strukturnya yang mudah diserang oleh molekul oksigen dan menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi minyak, sehingga kadar asam oleat dan linoleat yang semakin rendah diharapkan juga mampu menurunkan resiko terjadinya reaksi oksidasi yang dapat menyebabkan ketengikan minyak dan menurunkan kualitas minyak (Selke dkk., 1980).

5. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa variasi rasio sari buah nanas : krim santan kelapa (0,5:1); (1:1); dan (2:1) menghasilkan volume VCO serta kadar asam oleat dan linoleat yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2012. *Papain*. Available from : <http://www.ffcr.or.jp/zaidan/ffcrhome.nsf.pdf> f. Diunduh pada tanggal 21 Mei 2014
- Bartholomew, D.P., R.E. Paull, and K.G. Rohrbach. *The Pineapple : Botany, Production and Uses* 1st ed. Wallingford : CABI Publishing.
- Bawalan, D.D. and K.R. Chapman. 2006. *Virgin Coconut Oil Production Manual for Micro and Village Scale Processing*. Bangkok : Thammada Press. P.1-18.
- Carandang, E.V. 2008. Health Benefits Of Virgin Coconut Oil. *PJCS*. Vol. 21, No. 2: 8-12..
- Christie, W.W. 1989. *Gas Chromatography and Lipids*. Oxford : Oily Press.
- Dalmacion, G.V., A.R. Ortega, I.G. Pena, and C.F. Ang. 2012. Preliminary Study On The In-Vitro Susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates to Virgin Coconut Oil. *Functional Foods in Health and Disease*. Vol. 2, No. 8: 280-299.
- Dayrit, C.S. 2003. *Coconut for Better Health*. Quenzon City : Philippine Coconut Authority Auditorium.
- Fife, B. 2004. *The Coconut Oil Miracle*. Colorado Springs: Piccadilly Books.
- Herdyastuti, N. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Batang

Analisis Kuantitatif Asam Oleat dan Linoleat *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang Dibuat dengan Variasi Rasio Sari Buah Nanas (*Ananas comocus* L.) dan Krim Santan Kelapa (Gunarsih, H.P., Widjaja, I.N.K., Larasanty, L.P.F.)

- Nanas (*Ananas comosus* L.merr). *Berk. Penel. Hayati*. Vol. 12: 75-77.
- Kostik, V., S. Memeti, and B. Bauer. 2013. Fatty Acid Composition of Edible Oils and Fats. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. Vol. 4: 112-116.
- Kruif, C.G. 1999. Casein Micelle Interactions. *International Dairy Journal* Vol. 9: 183-188.
- Mulyono, N., E. Rosmeilia, J.G.P. Moi, B.O. Valentine, and M.T. Suhartono. 2013. Quantity and Quality of Bromelain in Some Indonesian Pineapple Fruits. *International Journal of Applied Biology and*
- Hui, Y.H. 1992. *Encyclopedia of Food Science and Technology*. Vol. 3. New York : John Wiley and Sons Inc.
- Pharmaceutical Technology*. Vol. 4, No. 2: 235-240.
- Selke, E., W.K. Rohwedder, and H.J. Dutton. 1980. Volatile Components from Triolein Heated in Air. *J. Am. Oil Chem Soc.* Vol. 57: 25-30.
- SNI. 2008. *Minyak Kelapa Virgin (VCO)*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional. Hal.1-28.
- Winarti, S., Jariyah, dan Y. Purnomo. 2007. Proses Pembuatan VCO (*Virgin Coconut Oil*) Secara Enzimatis Menggunakan Papain Kasar. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 8, No. 2: 136-1