

KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN ANTIBAKTERI HASIL PURIFIKASI MINYAK BIJI NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum* L.)

Physicochemical and Antibacterial Properties of Degummed *Calophyllum inophyllum* L. Seed Oil

Sawarni Hasibuan¹, Sahirman², Ni Made Ayu Yudawati¹

¹Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Universitas Djuanda Bogor, Jl. Tol Ciawi No. 1, Bogor 16720

²Departemen Agroindustri Pusat Pengembangan dan Pemberdayaan Pendidik dan Tenaga Kependidikan (PPPPTK)

Pertanian Cianjur, Jl. Jangari Km. 14 Sukajadi, Karangtengah Cianjur

Email: sawarni02@yahoo.com

ABSTRAK

Tingginya fraksi padat pada minyak biji nyamplung menyebabkan biodiesel nyamplung yang dihasilkan memiliki viskositas tinggi, bilangan asam tinggi, titik kabut tinggi, dan pengaruh buruk lainnya sehingga sulit memenuhi standar biodiesel SNI 04-7182-2006. Hal ini mendasari perlunya peningkatan nilai tambah fraksi padat minyak biji nyamplung. Tujuan penelitian adalah melakukan purifikasi, fraksinasi, dan karakterisasi minyak biji nyamplung. Karakterisasi dilakukan terhadap komponen asam lemak serta uji pengenalan bioantibakteri dan bioantioksidan minyak biji nyamplung untuk aplikasi sabun kesehatan. Rancangan yang digunakan pada proses purifikasi nyamplung adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan tiga faktor yaitu konsentrasi asam fosfat 20%, suhu, dan lama pemanasan. Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan terbaik purifikasi diperoleh pada penggunaan H_3PO_4 20% sebanyak 0,2% pada suhu 80 °C selama 15 menit. Komponen asam lemak utama pada minyak nyamplung hasil purifikasi adalah asam palmitat, asam stearat, asam oleat dan asam linoleat dengan total asam lemak mencapai 98,19 persen dari total asam lemak penyusun minyak nyamplung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak nyamplung mengandung komponen steroid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid serta memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* namun sebaliknya bagi *Escheria coli*.

Kata kunci: *Calophyllum inophyllum*, purifikasi, fraksi padat, antibakteri, antioksidan

ABSTRACT

The high solid fraction in *Calophyllum* seed oil causes *Calophyllum* biodiesel-oil produced has a high viscosity, high acid value, high cloud point, and other negative influences that is difficult to meet the biodiesel standard SNI 04-7182-2006. This underlies the need to increase the added value of solid fraction *Calophyllum* seed oil, such as healthy soap. This research was aimed to purification, fractionation, and characterization of fatty acid component as well as the antibacterial and antioxidant owned. So that *Calophyllum* seed oil may be considered for healthy soap application. The design used in the purification process is factorial completely randomized design, consisting of three factors, namely acid phosphate concentration, temperature and heating time. Based on the research, it resulted in the best treatment for *Calophyllum* seed oil's purification was reached by using 0,2% H_3PO_4 20% at 80 °C for 15 minutes. Major fatty acid component in *Calophyllum* seed oil purification results are palmitic acid, stearic acid, oleic acid and linoleic acid that reached 98,19 percent of the total fatty acids. The results showed that the *Calophyllum* oil contains *components steroids*, flavonoids, saponins, and triterpenoids and has an antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* but instead to *Escherichia coli*.

Keywords: *Calophyllum inophyllum*, purification, solid fraction, antibacterial, antioxidant

PENDAHULUAN

Tanaman nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) merupakan golongan tanaman potensial penghasil minyak jenis *non edible oil* untuk bahan bakar nabati. Kandungan minyak biji nyamplung tergolong sangat tinggi yaitu antara 50-73 % (Dweek dan Meadows, 2002; Friday dkk., 2005; Kilham, 2004) dibandingkan dengan minyak sawit (46-54 %) dan minyak jarak pagar (40-60 %) (Gubiz dkk., 1999).

Minyak nyamplung murni (*pure plant oil*) memiliki karakteristik viskositas dan kadar asam lemak tinggi serta masih mengandung banyak senyawa pengotor yang dapat menurunkan kualitas minyak nyamplung. Penampakan fisik minyak biji nyamplung kasar adalah berwarna hijau gelap, kental, dan berbau menyengat aroma khas minyak biji nyamplung.

Minyak biji nyamplung memiliki fraksi padat yang cukup tinggi mengingat kadar asam lemak bebas (ALB) minyak nyamplung cenderung lebih tinggi dibanding dengan minyak sawit dan minyak goreng bekas (Sahirman, 2009; Hasibuan dkk., 2009; Sahirman dkk., 2010). Fraksi padat minyak nyamplung tersusun atas komponen asam lemak jenuh rantai panjang seperti tripalmitin, tristearin dan triarakidin serta komponen tidak tersabunkan lainnya. Hal ini mendasari perlunya proses pemurnian jika minyak biji nyamplung akan diaplikasikan pada bahan bakar atau produk turunan lainnya. Pemurnian minyak nabati bertujuan untuk menghilangkan rasa dan bau yang tidak diinginkan, warna yang tidak menarik, dan memperpanjang waktu simpannya. Kombinasi purifikasi dapat berupa proses *degumming*, netralisasi, *bleaching* dan deodorisasi (Ketaren, 1986). Pemilihan teknik purifikasi minyak akan tergantung pada penggunaan lanjut dari minyak tersebut.

Degumming merupakan salah satu tahapan dalam proses pemurnian minyak. *Degumming* dilakukan untuk memisahkan getah atau lendir yang terdiri dari *fosfatida*, protein, residu, karbohidrat, air dan *resin*. Prinsip *degumming* dilakukan dengan cara *dehidrasi* gum atau kotoran lain agar bahan tersebut lebih mudah terpisah dari minyak, dilanjutkan dengan proses sentrifuse (Ketaren, 1986). Zat yang digunakan untuk menarik gum (getah) yang disebut *degumming agent* antara lain adalah asam fosfat (H_3PO_4).

Senyawa antibakteri secara alamiah dapat ditemukan dalam konsentrasi yang beragam pada tanaman tropis, termasuk tanaman nyamplung. Fitokimia merupakan zat kimia (bioaktif) alami yang terdapat pada tumbuhan dan dapat memberikan rasa, aroma dan warna pada tumbuhan tersebut. Kandungan senyawa bioaktif tersebut dapat diketahui dengan melakukan uji skrining fitokimia. Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol dan hidrokuinon dilakukan berdasarkan metode Harbone (1987).

Hasil penelitian Dweek dan Meadows (2002) serta Debaut dkk. (2005) bahwa pada minyak nyamplung terdapat komponen zat aktif sebagai bahan antibiotik dan anti peradangan. Indikasi terkandungnya sifat antimikrobia dan *cytotoxic agent* pada minyak biji nyamplung potensial untuk pengembangan sabun kesehatan sehingga dapat meningkatkan nilai tambah proses pembuatan biodiesel dari minyak biji nyamplung disamping sebagai bahan baku biodiesel nyamplung. Untuk tujuan tersebut maka pada tahap awal dilakukan karakterisasi terhadap minyak biji nyamplung yang akan dikembangkan, baik pada fraksi cair maupun fraksi padat minyak nyamplung, sebelum diaplikasikan untuk tujuan sabun kesehatan berbasis nyamplung.

Tujuan khusus penelitian adalah untuk memperoleh kondisi optimal proses purifikasi minyak biji nyamplung dengan metode *wet degumming*, karakterisasi asam lemak minyak nyamplung yang telah dipurifikasi, dan identifikasi senyawa bioantioksidan dan bioantibiotik pada minyak biji nyamplung.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama penelitian adalah minyak biji nyamplung kasar. Bahan kimia proses *degumming* dan karakterisasi awal minyak nyamplung adalah larutan asam fosfat 20%, aquades, larutan khloroform, pereaksi hanus, larutan $Na_2S_2N_3$ 0,1 N, asam asetat glasial, kalium iodida, larutan natrium tiosulfat 0,02 N, larutan kanji, etanol 95 %, indikator phenolphthalein, dan larutan NaOH 0,1 N.

Bahan untuk uji antibakteri adalah kultur bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escheria coli* yang didapat dari Unit Laboraturium Terpadu Institut Pertanian Bogor. Uji fitokimia dilakukan menggunakan bahan H_2SO_4 2N, pereaksi dragendroff, pereaksi meyer, pereaksi wegner, larutan khloroform, larutan anhidrat asetat, asam sulfat, serbuk magnesium, amil alkohol, HCL 2N, etanol 70% dan larutan $FeCl_3$.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari reaktor gelas untuk proses *degumming*, neraca analitik, *magnetic stirrer*, hotplate, kertas saring, labu pemisah, statif tegak, termometer, elenmeyer, gelas ukur, sudip, peralatan gelas lainnya serta alat gas kromatografi untuk karakterisasi asam lemak minyak nyamplung hasil *degumming* dan peralatan untuk uji fitokimia. Sedangkan secara kualitatif identifikasi aktivitas antibakteri menggunakan inkubator, cawan petri, tabung ulir, tabung reaksi, ose, mikropipet, dan bunsen.

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboraturium Bioenergi dan Lingkungan Universitas Djuanda Bogor, Laboraturium

Terpadu IPB Bogor, dan Laboratorium Biofarmaka IPB Bogor. Penelitian dilaksanakan dari bulan Juli sampai dengan Oktober 2012.

Tahapan Penelitian

Penelitian dibagi menjadi tiga tahap, yaitu proses *degumming* minyak biji nyamplung, fraksinasi minyak biji nyamplung, dan karakterisasi minyak nyamplung hasil *degumming* yang meliputi komponen asam lemak, potensi bioantioksidan, dan bioantibakteri. Pada tahap awal dilakukan karakterisasi minyak biji nyamplung kasar yaitu kadar air (AOAC 1995), bilangan asam (AOAC 1995), bilangan iod (AOAC 1995), bilangan penyabunan (AOAC 1995), dan viskositas (AOAC 1995).

Proses *degumming*

Proses *degumming* diawali dengan penentuan kondisi terbaik proses purifikasi minyak biji nyamplung menggunakan metode *wet degumming*. Bahan baku minyak biji nyamplung terlebih dahulu dihomogenkan lalu dipanaskan pada dua suhu pemanasan (80 °C, 90 °C), ditambahkan larutan asam fosfat 20% dengan tiga taraf perlakuan (0,2%, 0,4%, 0,6%

(v/b)), dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* (15 menit, 30 menit). Diagram alir proses *degumming* minyak biji nyamplung tersebut disajikan pada Gambar 1.

Setelah proses *degumming* dilakukan pencucian dengan air hangat suhu 60 °C menggunakan labu pemisah untuk menghilangkan gum. Pengukuran pH air cucian diamati hingga diperoleh pH air buangan pencucian terakhir mendekati netral sekitar pH 6-7. Proses pemanasan dilakukan kembali untuk menguapkan sisa air yang masih tertinggal dalam minyak. Suhu pemanasan diatur di atas titik didih air serta di bawah titik didih minyak yaitu pada suhu 105 °C selama 20 menit.

Keberhasilan proses *degumming* yang telah dilakukan pada minyak nyamplung dinilai berdasarkan parameter *degumming* purifikasi yaitu kecerahan kenampakan warna minyak nyamplung. Nilai transmisi minyak nyamplung hasil *degumming* diukur menggunakan alat spektronic 20 pada λ 450 nm (Wattanachant dkk., 2002).

Fraksinasi Minyak Nyamplung

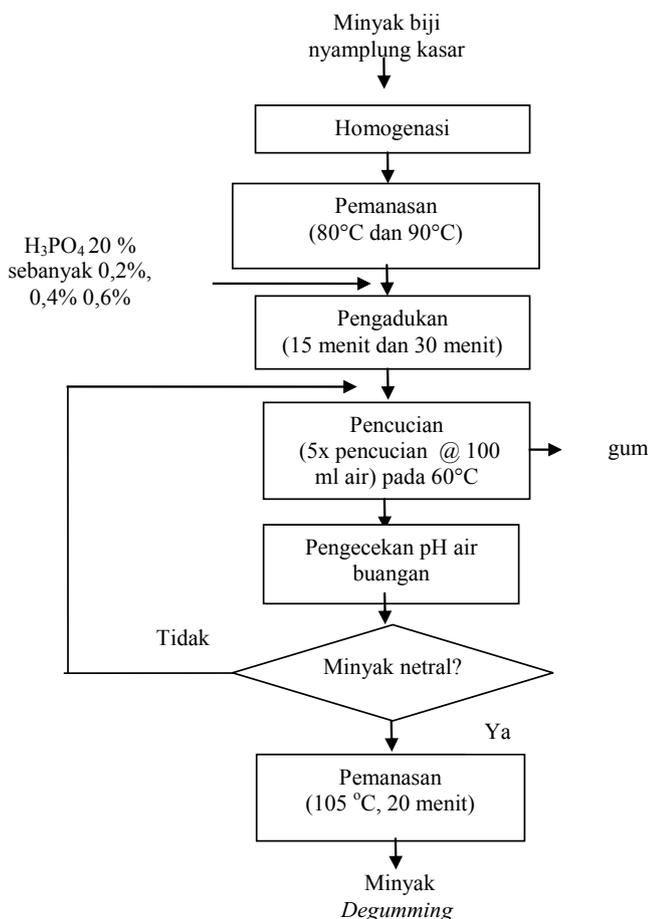
Minyak nyamplung hasil *degumming* dihomogenisasi dengan cara dihangatkan. Kondisi proses fraksinasi dilakukan secara *trial and error* pada kisaran suhu 5 °C sampai dengan 20 °C hingga diperoleh kondisi terbaik fraksinasi komponen fraksi padat dan fraksi cair minyak biji nyamplung, kemudian dihitung rendemen fraksi padat nyamplung yang berhasil dipisahkan.

Karakterisasi Senyawa Asam Lemak, Antioksidan, dan Antibakteri

Karakterisasi komposisi asam lemak diuji dengan menggunakan GC, sampel yang diuji adalah minyak nyamplung hasil *degumming*. Selain komposisi asam lemak juga dilakukan identifikasi komponen antioksidan pada minyak nyamplung serta kemampuan antimikroba minyak nyamplung terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escheria coli* menggunakan metode difusi cakram. Sampel minyak nyamplung didifusikan pada cakram yang ditanam di media agar yang sebelumnya telah ditumbuhi biakan suspensi bakteri uji (*S aureus* dan *E coli*).

Proses difusi dilakukan dengan meletakkan cakram di area *nutrient agar* beku yang sebelumnya telah ditanami supensi bakteri uji sebanyak 5×10^5 cfu/ml. Satu cakram dibuat lima lubang yang diisi dengan fraksi padat minyak nyamplung, fraksi cair minyak nyamplung, minyak nyamplung asli, kontrol, dan quades. Cawan uji diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengamati lingkaran diameter penghambat aktivitas bakteri yang terlihat dengan kenampakan zona areal bening di sekeliling lubang.

Untuk mengetahui keberadaan komponen bioantioksidan dilakukan penapisan komponen fitokimia yang terkandung dalam minyak nyamplung menggunakan metode visualisasi



Gambar 1. Diagram alir proses *degumming* minyak biji nyamplung

warna. Pengujian fitokimia dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoida, tanin dan saponin. Teknik pengujian senyawa fitokimia menggunakan metode Harbone (1987).

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap faktorial (RAL Faktorial) dengan tiga perlakuan yaitu konsentrasi larutan asam fosfat 20%, suhu *degumming*, dan waktu *degumming* menggunakan dua ulangan. Model matematika yang digunakan adalah sebagai berikut (Steel dan Torrie 1991):

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + C_k + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + \varepsilon_{(ijkl)}$$

Dimana :

- Y_{ijkl} : Variabel respon pengamatan
- μ : Nilai tengah umum
- A_i : Pengaruh konsentrasi asam fosfat 20 % pada taraf ke-i (0,2%, 0,4%, 0,6%)
- B_j : Pengaruh suhu pemanasan pada taraf ke-j (80 °C, 90 °C)
- C_k : Pengaruh waktu pemanasan pada taraf ke-k (15 menit, 30 menit)
- AB_{ij} : Pengaruh interaksi asam fosfat taraf ke-i dan suhu pemanasan taraf ke-j
- AC_{ik} : Pengaruh interaksi asam fosfat taraf ke-i dan waktu pemanasan taraf ke-k
- BC_{jk} : Pengaruh interaksi suhu pemanasan taraf ke-j dan waktu pemanasan taraf ke-k
- ABC_{ijk} : Pengaruh interaksi asam fosfat taraf ke-i, suhu pemanasan taraf ke-j dan waktu pemanasan taraf ke-k
- $\varepsilon_{(ijkl)}$: Galat percobaan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Minyak Nyamplung Kasar

Bahan baku minyak biji nyamplung yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari pengrajin Nyamplung di Cilacap Jawa Tengah. Hasil analisis sifat fisiko-kimia bahan baku minyak biji nyamplung tersebut disajikan pada Tabel 1.

Ada perbedaan hasil uji karakteristik minyak nyamplung kasar yang digunakan dengan hasil peneliti sebelumnya, khususnya kadar asam lemak (ALB). Minyak nyamplung yang digunakan memiliki rata-rata kadar ALB sebesar 29,53 % atau bilangan asam sebesar 59,94 mg KOH/g, nilai tersebut jauh lebih besar dibandingkan hasil pengujian Kilham (2004) dan Debaut (2002). Hal tersebut dapat terjadi akibat perbedaan penanganan pasca panen. Minyak nyamplung hasil pengepresan umumnya mempunyai warna hijau gelap dengan viskositas tinggi (kental).

Tabel 1. Sifat fisiko-kimia minyak nyamplung dari pengrajin nyamplung Cilacap

Karakteristik fisiko-kimia	Hasil analisis	Pustaka
Viskositas suhu 40°C	60,96 cSt	Kental (Debaut dkk. 2002)
Bilangan asam	59,94 mg KOH/g	14,65 mg KOH/g (Kilham 2004)
Kadar asam lemak bebas	29,53 %	7,4% (Debaut dkk. 2002)
Bilangan penyabunan	198,1 mg KOH/g	-
Bilangan Iod	86,42 mg/g	100-115 mg/g (Debaut dkk. 2002)
Penampakan	Hijau gelap dan kental dengan bau menyengat	Hijau dan kental bau seperti <i>olive oil</i> (Debaut dkk. 2002)

Ada perbedaan hasil uji karakteristik minyak nyamplung kasar yang digunakan dengan hasil peneliti sebelumnya, khususnya kadar asam lemak (ALB). Minyak nyamplung yang digunakan memiliki rata-rata kadar ALB sebesar 29,53 % atau bilangan asam sebesar 59,94 mg KOH/g, nilai tersebut jauh lebih besar dibandingkan hasil pengujian Kilham (2004) dan Debaut (2002). Hal tersebut dapat terjadi akibat perbedaan penanganan pasca panen. Minyak nyamplung hasil pengepresan umumnya mempunyai warna hijau gelap dengan viskositas tinggi (kental).

Degumming Minyak Nyamplung

Rendemen. Kualitas dan kuantitas minyak hasil purifikasi dipengaruhi langsung oleh kondisi proses pemurniannya. Rendemen merupakan salah satu parameter kuantitas yang menunjukkan nilai dari perbandingan bobot minyak setelah mengalami proses pemurnian terhadap berat minyak awal. Rendemen hasil purifikasi minyak nyamplung yang dihasilkan berkisar antara 96,81 - 98,42 persen. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi larutan asam fosfat 20%, suhu dan waktu *degumming* tidak berpengaruh nyata terhadap hasil rendemen minyak nyamplung ($P > 0,05$).

Rendemen minyak nyamplung tertinggi 98,42% diperoleh dari perlakuan larutan asam fosfat 20% sebanyak 0,2% (v/w) suhu pemanasan 80°C selama 15 menit. Sementara rendemen terendah 96,90% diperoleh dari minyak yang diberi perlakuan larutan asam fosfat 20% sebesar 0,6% (v/w) suhu pemanasan 90°C selama 30 menit.

Hasil penelitian yang diperoleh berbeda dengan temuan Torey (1983) yang menyatakan kenaikan dosis larutan asam fosfat yang diberikan cenderung menurunkan nilai

rendemen. Faktor lain yang mempengaruhi nilai rendemen adalah jenis metode yang dipilih untuk proses *degumming*. Menurut penelitian Sumarna (2007) metode *wet degumming* lebih sederhana dan mudah dilakukan dibandingkan dengan metode *dry degumming* tetapi menghasikan rendemen yang lebih rendah. Hal tersebut disebabkan karena pada metode *wet degumming*, komponen-komponen minyak seperti zat warna, sedikit logam, asam lemak bebas dan fosfatida yang dapat terhidrasi (*hydratable phosphatide*) ikut terbuang bersama air pencucian, sehingga mengurangi rendemen minyak.

Nilai transmisi. Minyak nyamplung kasar mengandung komponen pengotor dalam bentuk koloid ataupun terlarut, yang terdiri dari gum/lendir, logam minor, pigmen dan komponen non minyak lainnya. Adanya komponen tersebut mempengaruhi tingkat kejernihan minyak karena partikel-partikelnya dapat menghambat penerusan cahaya. Jika intensitas awal radiasi yang datang adalah I_0 dan intensitas radiasi yang dilewatkan pada minyak *degumming* adalah I , maka berlaku Hukum Lambert - Beer (Harmita 2012):

$$\begin{aligned} \text{Log } (I_0 / I) &= abc \\ A &= a b c \\ A &= \epsilon b c \end{aligned}$$

Besaran spektroskopik yang diukur adalah transmittan T:

$$\begin{aligned} T &= (I_0 / I) \\ A &= \log (1/T) \end{aligned}$$

Dimana

- A = absorbansi
- T = transmittan
- a = absorptivitas (tergantung satuan []); a (ppm) dan ϵ (molar)
- b = tebal medium/kuvet
- c = konsentrasi senyawa yang mengabsorpsi radiasi

Peningkatan kejernihan minyak setelah proses *degumming* menunjukkan bahwa terdapat komponen pengotor yang terpisah setelah proses *degumming* selesai dilakukan. Hasil pengukuran persen transmisi minyak digunakan sebagai indikator perubahan kadar zat warna yang terdapat dalam minyak. Korelasi hubungan antara nilai persen transmisi dengan tingkat kejernihan minyak adalah semakin tinggi nilai persen transmisi maka semakin kecil kadar zat warna yang terdapat dalam minyak tersebut.

Persen rata-rata transmisi minyak nyamplung setelah proses *degumming* berkisar antara 3-17 persen. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan dosis larutan asam fosfat berpengaruh terhadap nilai persen transmisi minyak nyamplung ($P < 0,01$), sementara suhu dan waktu *degumming*

tidak berpengaruh ($P > 0,05$). Rataan pengukuran persen transmisi minyak nyamplung hasil proses *degumming* dapat dilihat pada Tabel 2.

Menurut Sianturi dan Lila (2003) kenaikan dosis larutan asam fospat yang ditambahkan pada minyak dapat menghasilkan penurunan persen transmisi. Hal ini diduga karena adanya sebagian dari asam fosfat yang bebas yang masih tertinggal dalam minyak hasil *degumming* dan mempengaruhi kejernihan minyak.

Tabel 2. Rataan nilai transmisi minyak nyamplung hasil proses *degumming*

Perlakuan	C1	C2	Rataan	
A1	B1	17% ^p	9,5% ^a	12% ^a
	B2	12% ^q	10,5% ^q	
A2	B1	5,5% ^r	5,5% ^r	7% ^b
	B2	8,5% ^q	8% ^q	
A3	B1	3,5% ^s	5% ^r	5% ^{bc}
	B2	3% ^s	3% ^s	
Rataan		8% ^a	7% ^a	

Keterangan: Huruf yang sama pada baris atau kolom tidak signifikan pada taraf nyata uji ($P > 0,05$)

Hasil uji lanjut menunjukkan terdapat interaksi antara perlakuan dosis larutan asam fosfat 20%, suhu, dan waktu *degumming* terhadap nilai transmisi minyak nyamplung ($P < 0,01$). Nilai rata-rata persen transmisi tertinggi 17 persen dihasilkan oleh minyak yang mengalami perlakuan larutan asam fosfat 0,2% (v/w) suhu pemanasan 80°C selama 15 menit, sedangkan nilai rata-rata persen transmisi terendah sebesar 3 persen dihasilkan dari minyak dengan perlakuan larutan asam fosfat 0,6% (v/w) suhu 90°C selama 30 menit. Peningkatan dosis larutan asam fosfat menjadi 0,4% dan 0,6% pada perlakuan menyebabkan penurunan persen transmisi minyak nyamplung.

Minyak hasil proses *degumming* memberikan kenampakan yang berbeda dengan sampel awal minyak nyamplung murni. Minyak biji nyamplung murni memiliki karakteristik fisik berwarna hijau gelap, kental dan berbau menyengat aroma khas minyak biji nyamplung, setelah proses *degumming* dihasilkan minyak nyamplung yang berwarna kuning kemerahan. Terhadap minyak nyamplung hasil *degumming* dilakukan pengujian fisikokimia seperti ditunjukkan pada Tabel 3.

Kualitas minyak nyamplung hasil *degumming* dibandingkan dengan SNI 01-2901-2006 tentang minyak kelapa sawit mentah. Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa kadar air minyak nyamplung adalah 0,14 persen memenuhi

persyaratan SNI 01-2901-2006 yaitu sebesar maksimum 0,5 persen, sedangkan untuk kadar asam lemak bebas tidak memenuhi persyaratan SNI 01-2901-2006 yaitu maksimum 0,5 persen. Tingginya kadar asam lemak bebas minyak nyamplung hasil *degumming* disebabkan karena kadar asam lemak bebas minyak nyamplung dari pengrajin minyak nyamplung di Jawa Tengah sudah sangat tinggi sedangkan proses *degumming* tidak dimaksudkan untuk menurunkan kadar asam lemak bebas akan tetapi untuk menurunkan kotoran yang ada dalam minyak tersebut.

Tabel 3. Hasil pengujian skrining fitokimia minyak nyamplung

Parameter	Nilai
Kadar air (%)	0,14
Bilangan iod (gram iod/100 gram)	85,0
Kadar asam lemak bebas dihitung sebagai asam oleat (%)	14,6
Bilangan peroksida (mek O ₂ /kg)	6,97
Indeks bias	1,4670
Berat jenis (gram/ml)	0,931
Titik didih (°C)	160
Titik asap (°C)	290
Titik cair (°C)	13

Karakterisasi Asam Lemak Hasil *Degumming* Minyak Nyamplung

Tabel 4. Karakterisasi komponen asam lemak hasil fraksinasi minyak nyamplung

Asam lemak	Hasil <i>degumming</i> , %w/w	Fraksi padat, %w/w
Myristic acid, C14:0	0,03	0,03
Palmitic acid, C16:0	12,23	15,17
Palmitoleic acid, C16:1	0,32	0,29
Heptadecanoic acid, C17:0	0,10	0,13
Stearic acid, C18:0	11,02	17,95
Elaidic acid, C18:1n9t	0,06	0,04
Oleic acid, C18:2n6c	41,27	35,75
Linoleic acid, C18:2n6c	33,63	29,05
Arachidic acid, C20:0	0,60	0,87
Cis-11-Eicosenoic acid, C20:1	0,20	0,30
Linoleic acid, C18:3n3	0,29	0,26
Cis-11-Eicosenoic acid, C20:2	0,10	0,07
Behenic Acid, C22:0	0,17	0,21

Pengujian karakterisasi komponen asam lemak dilakukan terhadap minyak nyamplung hasil *degumming* dan fraksi padat minyak nyamplung hasil fraksinasi sebagaimana disajikan pada Tabel 4. Komponen utama asam lemak pada minyak nyamplung adalah asam palmitat, asam stearat, asam oleat, dan asam linoleat dengan total asam lemak mencapai 97,93-98,15 persen.

Fraksinasi Minyak Nyamplung

Pemisahan fraksi minyak nyamplung dilakukan berdasarkan titik bekunya dan dihasilkan dua fraksi minyak dalam bentuk cair dan padat. Berdasarkan *trial and error*, kondisi terbaik fraksinasi minyak nyamplung diperoleh pada suhu 13°C selama 12 jam. Pengujian hasil fraksinasi dan kadar asam lemak bebas (ALB) minyak nyamplung *degumming* tersebut disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil fraksinasi dan kadar ALB fraksi padat nyamplung

Sampel	Fraksi padat (%)	Kadar ALB (%)
1	41,31	35,31
2	33,40	30,96
3	30,43	23,69
4	13,57	19,69

Dari Tabel 5 terlihat korelasi yang kuat antara kadar asam lemak bebas dengan komponen fraksi padat minyak nyamplung yang diperoleh. Sampel ke-1 yang menghasilkan persentase fraksi padat tertinggi memiliki kadar ALB tertinggi, sementara sampel ke-4 dengan persentase fraksi padat terendah memiliki kadar ALB terkecil.

Proses fraksinasi berhasil memisahkan sebagian besar fraksi padat dari fraksi cair nyamplung. Dari Tabel 4 terlihat bahwa komponen asam lemak jenuh asam palmitat dan asam stearat meningkat signifikan pada fraksi padat nyamplung dibandingkan dengan minyak nyamplung cair hasil *degumming*. Tingginya komponen asam lemak jenis asam palmitat dan asam stearat potensial dimanfaatkan sebagai bahan baku sabun mengingat minyak nyamplung tergolong jenis non *edible oil* sehingga pemanfaatannya lebih diarahkan pada produk-produk non pangan. Menurut Cavith (1997), karakteristik sabun yang dihasilkan dipengaruhi oleh kandungan asam lemak dominan yang dimiliki. Asam lemak palmitat dan stearat akan menyebabkan tekstur sabun padat dan menghasilkan busa yang stabil, sementara asam lemak oleat dan linoleat memberikan kesan lembab pada produk sabun. Dengan demikian, sabun yang berasal dari bahan baku

fraksi padat nyamplung diharapkan akan bertekstur padat dan melembabkan dengan busa yang stabil.

Fitokimia Minyak Nyamplung

Identifikasi senyawa bioaktif pada minyak nyamplung meliputi pemeriksaan komponen alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol dan hidrokuinon. Hasil uji menunjukkan bahwa minyak nyamplung mengandung steroid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid seperti terangkum pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil skrining fitokimia minyak nyamplung

Senyawa	Sampel		
	Nyamplung asli	Fraksi cair nyamplung	Fraksi padat nyamplung
Alkaloid	-	-	-
Steroid	+	+	-
Flavonoid	+	+	+
Tanin	-	-	-
Saponin	+	+	-
Triterpenoid	+	-	-
Hidrokuinon	-	-	-

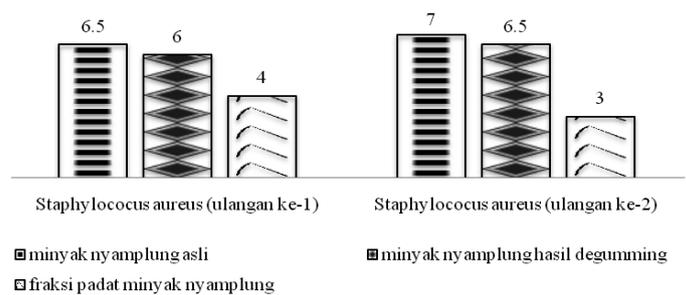
Hasil skrining fitokimia pada sampel minyak nyamplung asli ditemukan senyawa steroid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Pada fraksi cair nyamplung tidak ditemukan senyawa triterpenoid, sementara pada fraksi padat nyamplung senyawa bioaktif yang terdeteksi keberadaannya adalah dari golongan flavonoid. Perbedaan kandungan senyawa fitokimia pada sampel fraksi cair dan fraksi padat minyak nyamplung diduga akibat perlakuan pencucian pada proses *degumming*. Air yang digunakan pada saat pencucian *gum* bersifat polar dan diduga dapat melarutkan sebagian senyawa fitokimia yang memiliki sifat larut dalam air dan terbuang bersamaan dengan *gum* saat proses pencucian. Selain itu proses pemanasan yang dilakukan setelah proses pencucian dengan tujuan untuk menguapkan sisa air yang masih tertinggal pada minyak nyamplung diduga dapat merusak komponen bioaktif pada minyak nyamplung.

Kandungan senyawa bioaktif jenis flavonoid, steroid, saponin dan triterpenoid yang diketahui keberadaannya dalam minyak nyamplung dari hasil uji fitokimia diindikasikan sebagai senyawa yang mempengaruhi sifat aktivitas antibakteri dan antioksidan alami pada minyak nyamplung. Menurut Robinson (1995) senyawa bioaktif saponin dapat berfungsi sebagai antikanker dan antimikroba.

Uji Antibakteri Minyak Nyamplung

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk melihat apakah suatu senyawa tertentu memiliki aktivitas menghambat atau membunuh bakteri. Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan zona bening di sekitar cakram. Area di sekitar zona bening menunjukkan adanya penghambatan terhadap aktivitas bakteri. Hasil uji menunjukkan bahwa ketiga sampel minyak nyamplung memiliki aktivitas penghambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sementara terhadap bakteri *Escheria coli* tidak terjadi penghambatan aktivitas bakteri.

Hasil pengukuran zona bening aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada tiga jenis sampel minyak nyamplung disajikan pada Gambar 2. Penghambatan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aures* untuk sampel minyak nyamplung kasar (*crude oil*) menghasilkan diameter hambat terbesar yaitu 6,5 mm dan 7 mm dan nilai zona penghambat terkecil ditunjukkan oleh sampel fraksi padat minyak nyamplung sebesar 4 mm dan 3 mm.



Gambar 2. Hasil uji pengukuran zona bening (mm) aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* pada tiga jenis sampel minyak nyamplung

Efek antibakteri minyak nyamplung diperkirakan berasal dari kandungan flavonoid, alkaloid, dan saponin. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Cowan, 1999). Alkaloid juga memiliki kemampuan antibakteri, dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Saponin merupakan salah satu kandungan dalam minyak nyamplung yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur. Penelitian Soetan dkk. (2006) menunjukkan bahwa saponin memiliki aktivitas farmakologi terhadap *S. aureus* dan *Candida albicans*. Menurut Zablutowicz dkk. (1996), saponin menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Efek utama saponin terhadap bakteri adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel bakteri.

Tingginya aktivitas antibakteri pada minyak nyamplung kasar dibandingkan dengan dua jenis sampel lainnya (fraksi cair dan fraksi padat) dalam menghambat aktivitas antibakteri *S. aureus* diperkirakan dipengaruhi oleh perbedaan

kandungan senyawa fitokimia pada ketiga jenis sampel minyak nyamplung tersebut.

KESIMPULAN

Kondisi terbaik proses *degumming* minyak nyamplung diperoleh pada kombinasi perlakuan penggunaan H_3PO_4 20 % sebanyak 0,2 % (v/w), suhu pemanasan 80°C selama 15 menit dengan rata-rata nilai transmisi sebesar 17 persen dan rendemen sebesar 98,4 persen. Komponen asam lemak utama penyusun fraksi padat minyak nyamplung adalah asam oleat (35,75 persen), asam linoleat (29,05 persen), asam stearat (17,95 persen), dan asam palmitat (15,17 persen). Fraksinasi terhadap minyak nyamplung hasil *degumming* menghasilkan rendemen fraksi padat dengan rata-rata sebesar 29,7 persen. Pada minyak nyamplung kasar teridentifikasi komponen steroid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Pada fraksi cair nyamplung steroid, flavonoid, dan saponin, sementara fraksi padat minyak nyamplung hanya mengandung flavonoid. Minyak nyamplung memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* namun tidak terhadap *Escheria coli*. Minyak nyamplung dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aures* dengan rata-rata diameter penghambat terbesar yaitu 6,75 mm pada sampel minyak nyamplung kasar (*crude oil*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas pembiayaan penelitian Skim Hibah Bersaing, DIPA Kopertis Wilayah IV No. 056/023-04.02.01/12/2012 Tahun Anggaran 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (1995). *The Official Methods and Recommended Practice of The American Oil Chemists Society*. Campaign, IL.
- Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan (2008). *Nyamplung (Calophyllum inophyllum L) sumber energi biofuel yang potensial*. Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Cavith, S.M. (1997). *The Soapmaker's Companion A Comprehensive Guide With Recipes, Techniques and Know How*. Story Books. North Adams.
- Charalampos, P. (2008). Natural antioksidan constituents from selected aromatic plants and their antimicrobial activity against selected pathogenic microorganism. *Food Technol Biotechnol* **46**(2): 151-156.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* **12**: 564-82.
- Deabaut, V.J., Jean, Y.B. dan Greentech, S.A. (2005). *Tomanaol: A Stimulant for Collagent Synthetis for Use in Anti-Wrinkel and Anti-Strech Mark Products*. Cosmetic and Toiletries Manufacture Worldwide. Greentech SA. France.
- Dweek, A.C. dan Meadows, T. (2002). Tamanu (*Calophyllum inophyllum L.*) the Africa, Asia Polynesia and Pacific Panacea. *International J Cos Sci* **24**: 1-8.
- Friday, J.B. dan Okano, D. (2005). *Calophyllum inophyllum* (kamani) species profiles for pacific island agro forestry. <http://www.tradionaltree.org> [2 Januari 2007].
- Gubiz, G.M., Mittelbacht, M. dan Trabi, M. (1999). Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas L.* *Bioresource Technol* **67**: 73-82.
- Hasibuan, S., Sahirman dan Ma'ruf, A. (2009). Biodiesel from low grade used frying oil using esterification transesterification process. *Jurnal Makara Sains* **13**: 105-110.
- Haas, W. dan Mittelbach, M. (2000). Detoxification experiments with the seed oil from *Jatropha curcas L.* *Industrial Crops and Products* **12**: 111-118.
- Harmita (2012). Analisa fisio kimia: Spektroskopi. <http://staff.ui.ac.id/internal/130804826/material/ANFISKIMSpektroskopi>. [20 Juni 2012].
- Hui, Y. H. (1996). *Bailey's Industrial Oil and Fat Product*, 5th ed. John Wiley and Sons, New York.
- Ketaren, S. (1986). *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. UI Press, Jakarta.
- Kilham, C. (2004). Tamanu oil: a tropical topical remedy. *HerbalGram* **63**:10-15.
- Kilham, C. (2004). Tamanu oil: A tropical remedy. *Herbal Gram2004*: 26-31. www.abp.com.au/files/Tamanu_Oil_ABP.pdf [24 September 2012].
- Mwine J.T. dan Damme P.V. (2011). Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants. A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. *J Med Plants Res* **5**(5): 652-662.
- Robinson (1995). Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan Padnawinata K. Edisi ke-6. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sahirman, Hasibuan, S. dan Zain, E.R. (2010). Efektifitas metanol *recovery* pada proses pembuatan biodiesel dari minyak nyamplung. *Jurnal Tekno Sains* **1**: 40-48.

- Sahirman (2009). *Perancangan Proses Dua Tahap (Estrans) untuk Produksi Biodiesel dari Minyak Biji Nyamplung (Calophyllum inophyllum L.)* Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana Industri Pertanian Bogor, Bogor.
- Sianturi, L.N. (1998). *Kajian Proses Degumming Minyak Kelapa Sawit Kasar (Crude Palm Oil) dengan Asam Phosphat*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Soetan, Oyekunie M.A., Aaiyelaagbe, O.O. dan Fafunsi, M.A. (2006). Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of sorghum bicolor L. Moench. *African J Biotech* **5**: 2405-2407.
- Steel, R.G.D. dan Torrie, J.H. (1991). *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. 2nd Ed. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sumarna, D. (2007). Keuntungan proses *wet degumming* dibandingkan *dry degumming* pada pemurnian minyak sawit kasar. *Jurnal Teknologi Pertanian* **3**: 37-42.
- Torrey, S. (1983). *Edible Oils and Fats*. Noyes Data Corporation, New Jersey.
- Wattanachant, S., Muhammad, S.K., Hashim, D., Rahman, R.A. (2002). Characterisation of hydroxypropylated crosslinked sago starch as compared to commercial modified starches. *Songklanakarinn J.Sci.Technol.* **24**: 439-450.
- Zablotowicz, R.M, Hoagland, E. dan Wagner, S.C. (1996). Effect of saponin on the growth and activity of Rizosphere bacteria. *Dalam*: Naindu A.S. (ed). *Natural Food Microbial Systems*. USA: CRC Press.