

EKSTRAKSI VIRGIN COCONUT OIL SECARA ENZIMATIS MENGUNAKAN PROTEASE DARI TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)

*Enzymatic Extraction of Virgin Coconut Oil Using Protease from Biduri Plant
(Calotropis gigantea)*

Yuli Witono¹, Aulanni'am², Achmad Subagio¹ dan Simon Bambang Widjanarko³

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari ekstraksi virgin coconut oil (VCO) secara enzimatis menggunakan protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) dengan variasi konsentrasi 0,00; 0,05; 0,10 and 0,15% (b/b), dan lama inkubasi 2; 3 dan 4 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protease biduri efektif digunakan untuk mengekstrak VCO. Semakin tinggi konsentrasi protease biduri, viskositas VCO semakin meningkat. Kualitas VCO yang diproduksi secara enzimatis lebih baik daripada VCO yang diproses secara fermentasi spontan ditinjau berdasarkan parameter bilangan asam dan % FFA (free fatty acid).

Kata kunci: protease biduri, virgin coconut oil.

ABSTRACT

This research deals with enzymatic extraction of virgin coconut oil (VCO) by protease from biduri plant (*Calotropis gigantea*) in various concentrations of 0.00; 0.05; 0.10 and 0.15% (w/w), and incubation times of 2; 3 and 4 hours. The results showed that the biduri protease was effective in extracting VCO. The higher concentration of biduri protease, the viscosity of VCO increased. Furthermore, the VCO quality produced by using the enzymatic extraction was better than that of spontaneous fermentation based on acid value and % FFA.

Keywords: biduri protease, virgin coconut oil.

PENDAHULUAN

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan salah satu produk yang dibuat dari daging kelapa, biasanya disebut minyak kelapa murni yang diolah tanpa pemanasan (Anonim, 2005). VCO juga dikenal sebagai minyak kesehatan karena bersifat antivirus dan anti bakteri. Kelebihan produk VCO ini terutama karena kandungan asam lauratnya yang tinggi, yaitu sekitar 50-53%. Asam laurat merupakan *medium chain fatty acid* (MCFA) yang memiliki nilai nutrisi dan fungsional sangat baik. Karena peran fungsional tersebut, menjadikan produk

ini semakin populer dan semakin meningkat penggunaannya (Cox dkk., 1996; Kabara, 2000; Anonim, 2007).

VCO sangat baik dikembangkan di Indonesia sebagai negara kepulauan yang panjang garis pantainya mencapai 81.000 km, yang diperkirakan memiliki area pohon kelapa terluas di dunia, yaitu sekitar 3,1 juta hektar (Palungkun, 1992). Dengan disosialisasikannya VCO sebagai alternatif lain bagi pengolahan kelapa, akan sangat potensial meningkatkan pendapatan masyarakat, sekaligus membuka peluang usaha baru yang produktif. Terlebih kelapa hasil pertanian rakyat bersifat fluktuatif baik produktifitas maupun

¹ Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, Jl. Kalimantan I-Kampus Tegal Boto, Jember 68121

² Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Malang 65145

³ Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Malang 65145

harganya. Pada saat buah kelapa melimpah, harganya akan mengalami penurunan sampai rendah sekali. Dalam kondisi seperti ini rakyatlah yang mengalami kerugian, sehingga perlu pemanfaatan yang optimal dari buah kelapa agar dapat meningkatkan nilai jual dari buah kelapa. Di samping itu upaya tersebut harus dapat menjamin daya simpan maupun kegunaannya.

Agar fungsionalitas minyak kelapa tetap baik, maka prinsip pengolahannya adalah dengan mengurangi atau bahkan menghindari sama sekali penggunaan panas. Kebanyakan VCO diolah secara konvensional, yakni dengan cara fermentasi spontan dari santan atau krim kelapa. Cara pengolahan seperti ini memerlukan waktu yang sangat lama yakni 12-36 jam, sehingga di samping kurang ekonomis juga secara teknis akan berpeluang terhadap *rancidity* (ketengikan) karena kontak dengan udara (oksigen) yang terlalu lama. Untuk itu perlu dikembangkan metode lain pada proses pembuatan VCO, yakni proses secara enzimatis. Salah satunya ialah dengan memanfaatkan aktifitas protease dari tanaman 'biduri'. Menurut Van Stenis (1992) dan Witono dkk. (2002) biduri merupakan tumbuhan semak liar tropis yang dapat digunakan sebagai sumber protease yang potensial untuk proses pangan.

Enzim protease dapat memecah globula-globula protein yang menyelimuti minyak sehingga dapat mempercepat proses pembuatan minyak kelapa murni tanpa mengurangi manfaat dan kualitas minyak kelapa murni yang dihasilkan. Santan sebagai bahan baku dari minyak kelapa merupakan suatu sistem emulsi minyak dalam air. Salah satu agen pengemulsi yang berperan penting dalam sistem tersebut adalah protein. Melalui proses pemecahan protein dalam sistem emulsi santan kelapa, maka antar globula minyak atau lemak akan saling bergabung. Enzim protease bersifat sebagai *destabilizer*, yakni mampu menghidrolisis misel santan kelapa yang menyelubungi globula-globula minyak sehingga sistem emulsi tidak stabil. Dengan pecahnya misel santan maka antar globula minyak akan bergabung dan membentuk lapisan yang mudah dipisahkan (Gustone, 1996; Debrah and Ohta, 1997).

Debrah and Ohta (1997) mengekstrak minyak kelapa dengan protease netral dari *Aspergillus oryzae* 1%. Chen and Diosady (2003) mengekstrak minyak kelapa menggunakan enzim kompleks dengan konsentrasi di bawah 2%. Sementara itu, hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa untuk ekstraksi minyak kelapa murni dapat dilakukan menggunakan protease biduri yang berkisar 0,05-0,15% (b/b) dengan waktu inkubasi 2 sampai 4 jam. Selanjutnya perlu diteliti lebih mendalam tentang aplikasi protease biduri dalam proses pembuatan VCO dengan mempelajari pengaruh konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya terhadap sifat-sifat VCO yang dihasilkan, serta membandingkannya dengan VCO yang dihasilkan secara fermentasi spontan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kelapa tua yang diperoleh dari kios khusus pamarut kelapa di Pasar Tanjung Jember dan enzim protease biduri diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya (Witono dkk., 2006), yakni *crude* protease biduri dalam bentuk serbuk kering yang diekstrak secara langsung dari tanaman (daun dan pucuk batang) biduri dengan aktivitas spesifik 0,14 Unit/mg. Bahan kimia yang digunakan sebagian besar bermerk *Merck* Jerman.

Peralatan yang digunakan meliputi: centrifuge (Medifriger), pH meter (Jen Way tipe 3320, Jerman), magnetik stirer (Stuart Scientific), vortex (Thermolyne 16700), lemari pendingin (Telfold CF 200), eksikator, tabung separasi, shaker, neraca analitik Ohaus, penyaring vakum (Vacumbrand ME 2), color reader (Minolta CR-10), mikropipet dan buret.

Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Kelompok faktorial dengan 2 faktor perlakuan yakni: Faktor A (Konsentrasi protease biduri) terdiri atas 4 level: 0% (w/w) (A1); 0,05% (w/w) (A2); 0,10% (w/w) (A3); 0,15% (w/w) (A4) dan Faktor B (Lama inkubasi) terdiri atas 3 level: 2 jam (B1); 3 jam (B2) dan 4 jam (B3), sehingga terdapat 12 kombinasi perlakuan. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data hasil pengamatan dianalisis secara sidik ragam (α 0,05) dan diploting dalam bentuk Histogram atau Gambar.

Pelaksanaan Penelitian

Kelapa parut segar ditimbang sebanyak 500 gram kemudian ditambah air dengan perbandingan 1:1, selanjutnya diperas untuk menghasilkan santan (*coconut milk*). Santan dimasukkan dalam tabung separasi dan didiamkan selama 1,5 jam untuk memisahkan antara krim dengan skim. Setelah itu krim dipisahkan dan ditempatkan pada *beaker glass* sedangkan skimnya dibuang. Krim yang sudah dipisahkan ditimbang 10 gram dalam tabung sentrifuse plastik yang dilengkapi dengan penutup. Setelah itu dalam masing-masing tabung ditambahkan enzim protease biduri dengan konsentrasi 0,00% (w/w), 0,05% (w/w), 0,10% (w/w) dan 0,15% (w/w). Selanjutnya tabung-tabung tersebut disusun dalam kotak dan diinkubasi pada *shaker water batch* masing-masing selama 2 jam, 3 jam dan 4 jam. Setelah itu disentrifus selama \pm 30 menit pada level kecepatan maksimum (1000 rpm). Setelah disentrifus, akan terpisahkan antara minyak dengan bagian yang lain. Pengambilan minyak (VCO) dilakukan secara manual dengan menggunakan jarum suntik (spet) kemudian

minyak tersebut ditampung dalam botol film. VCO yang dihasilkan selanjutnya diamati sifat fisik dan kimianya. Selanjutnya VCO tersebut dibandingkan dengan VCO hasil fermentasi spontan (selama 12 jam), yakni VCO yang diproses tanpa menggunakan starter atau enzim.

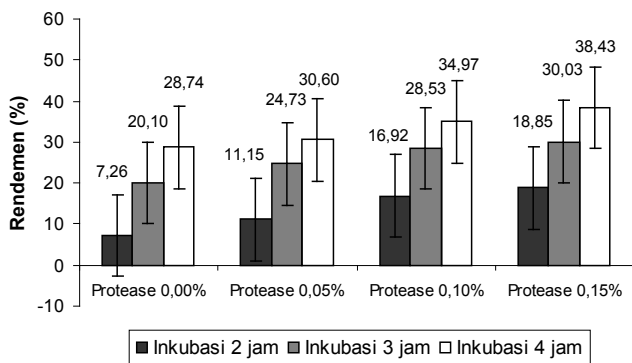
Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati meliputi: *Sifat fisik*, yaitu: (1) penghitungan rendemen yang merupakan rasio antara berat VCO yang dihasilkan terhadap berat krim dikalikan 100%, (2) intensitas warna (*Colour Reader*; Saito dkk., 2004) dan viskositas VCO (*Viscometer Oswald*; AOAC, 1995); dan *Sifat Kimia*, yaitu: kadar air (AOAC, 1995), angka peroksida dan kadar asam lemak bebas (% FFA) VCO (AOAC 2002 dalam Waisundara dkk., 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya berpengaruh sangat nyata (α 0,05%) terhadap rendemen VCO yang dihasilkan. Histogram rendemen VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya sebagaimana terlihat pada Gambar 1.



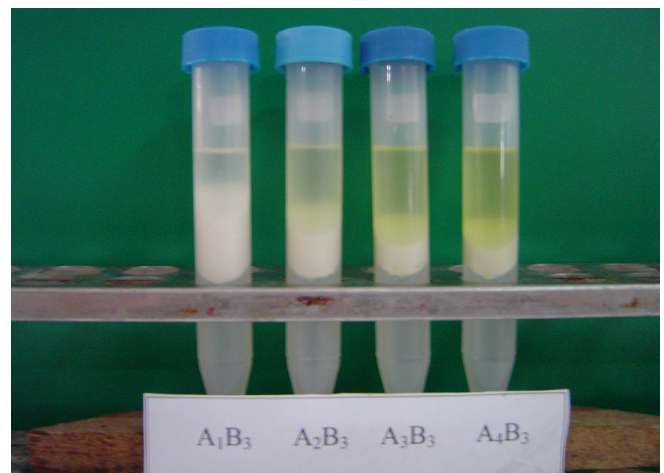
Gambar 1. Histogram rendemen VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya.

Semakin tinggi konsentrasi protease biduri dan semakin lama waktu inkubasi, dihasilkan rendemen VCO yang semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi enzim dan semakin lama waktu inkubasinya, semakin banyak jumlah substrat protein yang bereaksi dengan enzim dan semakin lama enzim berinteraksi dengan substrat protein yang menyelubungi globula minyak, sehingga semakin banyak minyak yang terekstrak dari krim santan kelapa. Peningkatan rendemen minyak ini menunjukkan enzim protease biduri mampu merusak lapisan film yang terdiri dari persenyawaan protein yang menyelubungi globula minyak, sehingga globula minyak yang satu akan bergabung dengan globula minyak

yang lain dan akhirnya menjadi kumpulan minyak yang lebih besar yang akan mengapung pada lapisan atas setelah dilakukan sentrifugasi.

Protease pemecah globula protein dalam sistem emulsi santan kelapa umumnya memiliki spektrum aktivitas proteolitik yang luas atau tidak terlalu spesifik. Chen dan Diosady (2003) menyatakan bahwa enzim protease bersifat memecah globula protein dalam sistem emulsi, ketika sistem emulsi santan pecah maka minyak akan terpisah dengan komponen air. Purnomo (2006) melaporkan bahwa enzim papain yang dikenal sebagai enzim pengempuk daging karena merupakan golongan endopeptidase telah sukses digunakan untuk memproduksi minyak kelapa murni. Witono dkk. (2004) juga menambahkan bahwa protease biduri berdasarkan pola pemecahan substratnya termasuk dalam kelompok eksopeptidase, dan enzim ini ternyata dapat digunakan untuk mengekstrak minyak kelapa murni. McGlone dkk. (1986) menggunakan *complex enzymes* (campuran dari beberapa jenis enzim) untuk mengekstrak minyak kelapa. Debrah and Ohta (1997) telah berhasil mengekstrak minyak kelapa dengan *neutral protease* dari mikroba (*Aspergillus oryzae*).

Gambar 1 menunjukkan bahwa rendemen VCO terendah dihasilkan dari perlakuan konsentrasi protease biduri 0% (w/w) dan waktu inkubasi 2 jam yaitu sebesar 7,26% dan rendemen VCO tertinggi diperoleh dari perlakuan konsentrasi enzim 0,15% (w/w) dan waktu inkubasi 4 jam yaitu sebesar 38,43%. Dibandingkan dengan VCO tanpa perlakuan enzim (0% w/w), perlakuan pada waktu inkubasi yang sama (4 jam) terjadi peningkatan rendemen minyak sebesar 34%.



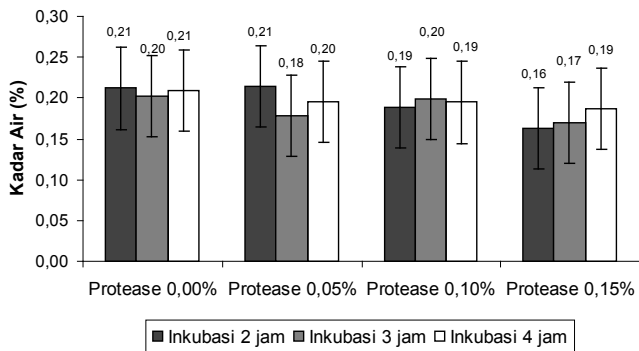
Gambar 2. Fraksinasi hasil inkubasi santan kelapa dengan protease biduri pada konsentrasi 0% (A₁), 0,05% (A₂), 0,10% (A₃), 0,15% (A₄) dengan lama inkubasi 4 jam (B₃).

Gambar 2 memperlihatkan dengan jelas bahwa semakin tinggi konsentrasi protease biduri yang digunakan sampai 0,15%, maka semakin banyak fraksi minyak (lapisan paling atas) yang dihasilkan, atau semakin sedikit sisa krim (lapisan

tengah). Sedangkan fraksi air dan whey (lapisan paling bawah) tidak menunjukkan perbedaan. Hasil ini sesuai dengan laporan Chen and Diosady (2003) bahwa sistem enzim sangat efektif dalam memecah matriks santan kelapa. Akan tetapi hal ini agak berbeda dengan hasil penelitian McGlone et al. (1986) dengan menggunakan *complex enzymes* (campuran dari beberapa jenis enzim), dihasilkan 3 fraksi yang meliputi fraksi minyak berkualitas tinggi (lapisan atas), fraksi air (lapisan tengah) dan fraksi paling bawah berupa *coconut meal*.

Kadar Air

Konsentrasi protease biduri dan lama inkubasi berpengaruh (α 0,05%) terhadap kadar air VCO yang dihasilkan. Adapun histogram kadar air VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya sebagaimana pada Gambar 3.



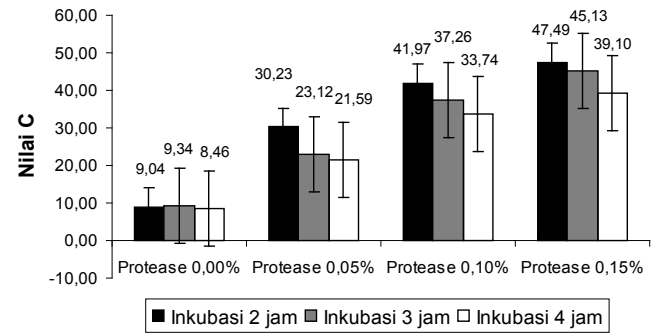
Gambar 3. Kadar air VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya.

Gambar 3 memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim menyebabkan penurunan kadar air dari VCO. Hal ini diduga terkait dengan sisa air pada krim dari santan kelapa. Berdasarkan hasil pengamatan sebelumnya (data tidak diperlihatkan), menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim biduri yang ditambahkan dan semakin lama waktu inkubasi, diperoleh fraksi air yang semakin menurun. Karena fraksi air semakin menurun, maka diduga jumlah air yang 'berinteraksi' (terikat) dengan minyak akan semakin sedikit. Menurut Gustone (1996) dan Debrah and Ohta (1997) sistem emulsi santan kelapa terdiri atas campuran dari air, minyak dan protein. Ketika emulsi terpecah oleh enzim, maka campuran tersebut akan terfragmentasi (terpecah) menjadi fraksi minyak, fraksi protein dan fraksi air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi enzim protease yang digunakan maka semakin tinggi rendemen minyak yang diperoleh, hal ini akibat semakin banyaknya protein sebagai *stabilizer* emulsi santan yang mampu dipecah. Semakin banyak globula protein yang dipecah maka diduga fraksi air

yang terlepas (terpisah) dengan fraksi minyak juga semakin banyak.

Intensitas Warna (Croma)

Konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya berpengaruh (α 0,05%) terhadap intensitas warna VCO yang dihasilkan, seperti ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Intensitas warna VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya.

Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi protease biduri, semakin tinggi nilai intensitas warna VCO yang dihasilkan. Hal ini akibat pengaruh pigmen hijau kekuningan (klorofil dan karoten) yang terkandung dalam protease biduri yang larut dalam minyak. Semakin tinggi konsentrasi enzim protease biduri maka jumlah pigmen yang terlarut dalam VCO yang dihasilkan semakin banyak, sehingga VCO yang dihasilkan semakin berwarna hijau kekuningan atau intensitas warnanya semakin tinggi. Sebagaimana dilaporkan oleh Witono dkk. (2006), bahwa enzim protease yang diekstrak secara langsung dari bagian tanaman (daun dan pucuk batang) biduri masih mengandung pigmen klorofil yang terikat bersama protein enzim, sehingga menghasilkan warna hijau pada crude protease yang dihasilkan. Menurut Goodwin (1988), klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas bersama-sama dengan karoten dan xantofil. Pigmen-pigmen inilah yang bertanggung jawab terhadap terbentuknya warna pada crude protease tanaman biduri serta produk hasil aplikasinya yakni VCO.

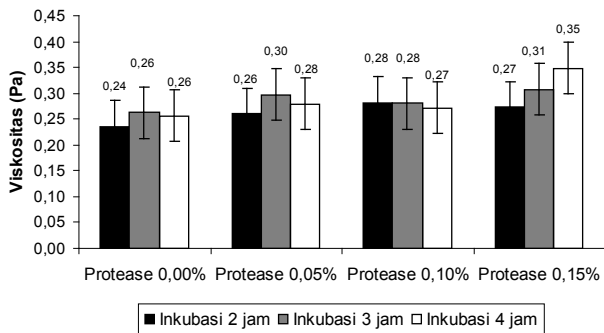
Intensitas warna yang semakin tinggi menunjukkan VCO semakin tidak jernih (semakin berwarna kehijauan). Hal ini sangat tidak dikehendaki, terutama ditinjau berdasarkan standar warna VCO yang seharusnya jernih. Oleh karena itu, selanjutnya perlu ditelaah tentang proses deklorofilasi dalam produksi enzim protease yang diekstrak secara langsung dari tanaman biduri.

Gambar 4 juga menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi maka semakin berkurang nilai intensitas warna VCO yang dihasilkan. Hal ini karena dengan semakin lamanya waktu inkubasi, semakin banyak rendemen VCO

yang dihasilkan. Sementara kadar klorofil dalam satu satuan konsentrasi enzim tidak berubah, sehingga rasio pigmen yang terlarut dengan volume VCO akan semakin berkurang atau intensitas warnanya semakin berkurang.

Viskositas

Konsentrasi protease biduri berpengaruh (α 0,05%) terhadap viskositas VCO, sedangkan lama inkubasinya tidak berpengaruh (α 0,05%) terhadap viskositas VCO yang dihasilkan. Adapun histogram viskositas VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi enzim biduri dan lama inkubasinya dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Viskositas VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi enzim biduri dan lama inkubasinya.

Penambahan konsentrasi enzim protease biduri menyebabkan viskositas minyak kelapa murni yang dihasilkan cenderung meningkat. Hal ini diduga erat hubungannya dengan ‘sifat’ partikel enzim protease yang digunakan. Semakin banyak enzim maka jumlah partikel-partikel enzim maupun non enzim (protein, klorofil dan molekul lain) pada crude protease yang terikut dalam minyak semakin meningkat. Adanya partikel-partikel tersebut diduga menjadi tahanan yang timbul oleh adanya gesekan antara molekul-molekul di dalam minyak meningkat sehingga viskositasnya juga meningkat. Sebagaimana dilaporkan oleh Witono dkk. (2006) bahwa produk enzim protease yang diekstrak secara langsung dari bagian daun dan pucuk batang tanaman biduri dengan teknik presipitasi melalui pendekatan pH isoelektrik masih mengandung protein non enzim, pigmen klorofil yang *bounding* dengan protein enzim maupun klorofil yang *bounding* dengan protein non enzim serta adanya pigmen lain seperti karoten. Sisi non polar dari protein enzim maupun protein non enzim serta pigmen karoten diduga dapat bercampur dalam minyak sehingga memberikan kontribusi terhadap viskositas minyak.

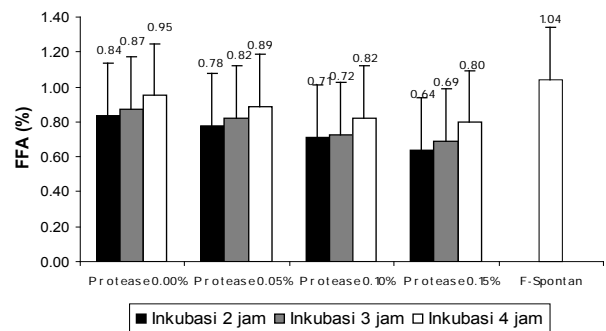
Angka Peroksida

Hasil pengamatan angka peroksida VCO pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya

menunjukkan bahwa angka peroksida minyak kelapa murni yang dihasilkan dari semua perlakuan tidak terdeteksi (ND). Hal ini diduga peroksida yang terbentuk akibat proses oksidasi minyak terlalu kecil, sehingga tidak dapat terdeteksi dalam pengujian. Kecilnya peroksida yang terbentuk ini diduga karena VCO yang dihasilkan lebih banyak mengandung asam lemak jenuh (90%) dan sangat sedikit mengandung asam lemak tidak jenuh (10%).

Asam Lemak Bebas (% FFA)

Konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya berpengaruh (α 0,05%) terhadap % FFA dari VCO. Adapun histogram % FFA VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya serta % FFA VCO hasil fermentasi spontan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. % FFA VCO yang dibuat dengan berbagai konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya serta % FFA VCO hasil fermentasi spontan.

Asam lemak bebas (*Free Fatty Acid*) merupakan salah satu parameter kerusakan minyak akibat proses hidrolisis oleh adanya interaksi dengan air dan aktivitas lipase. Gambar 6 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi protease biduri sampai 0,15%, maka % FFA VCO yang dihasilkan semakin rendah. Hal ini karena berhubungan dengan kadar air VCO yang dihasilkan. Berdasarkan pengamatan sebelumnya (Gambar 2) dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi protease biduri yang digunakan sampai 0,15%, maka kadar air VCO yang dihasilkan semakin menurun. Menurut deMan (1997) faktor penyebab utama terjadinya hidrolisis minyak adalah air dan enzim lipase. Dengan adanya air, lemak dapat terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak. Karena semakin tinggi konsentrasi enzim protease biduri yang digunakan menyebabkan semakin rendah kadar air minyak, yang berakibat % FFA VCO juga semakin rendah. Menurut Waisundara dkk. (2004) asam lemak bebas merupakan prekursor terjadinya ketengikan hidrolisis. Sehingga semakin rendah asam lemak bebas mengindikasikan semakin baik kualitas minyak yang dihasilkan.

Gambar 6 memperlihatkan bahwa sampai waktu inkubasi 4 jam, dihasilkan VCO dengan % FFA yang semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena semakin lama minyak berinteraksi dengan air, kemungkinan terjadinya reaksi hidrolisis VCO akan semakin besar, sehingga asam lemak bebasnya cenderung semakin tinggi. Disamping itu diduga terdapat aktivitas enzim lipase yang secara alami terdapat dalam minyak kelapa murni yang dihasilkan. Semua enzim yang termasuk golongan lipase mampu menghidrolisa lemak netral (trigliserida) sehingga menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol.

Berdasarkan hasil pengamatan (Gambar 6) asam lemak bebas hasil proses enzimatik dengan berbagai konsentrasi protease biduri dan lama inkubasinya berkisar antara 0,64-0,95%, atau berada di bawah asam lemak bebas VCO hasil fermentasi spontan (1,04%). Hal ini disebabkan karena waktu inkubasi pada proses enzimatik jauh lebih singkat (2-4 jam) dibanding proses fermentasi spontan (8-12 jam). Diduga adanya aktivitas mikroorganisme yang mampu menghidrolisa minyak sehingga menghasilkan asam lemak bebas yang lebih besar. Menurut Gunstone (1996), beberapa jenis jamur, ragi dan bakteri mampu menghidrolisa molekul lemak. Mikroba yang banyak menyerang bahan pangan berlemak ini umumnya termasuk mikroba non pathologi, tapi pada umumnya dapat merusak lemak dengan menghasilkan cita rasa tidak enak, disamping menimbulkan perubahan warna (*discoloration*).

Berdasarkan parameter pengamatan yang telah dilakukan, terutama parameter kadar air, angka peroksida, angka asam (data tidak ditunjukkan) dan asam lemak bebas (% FFA), maka VCO hasil proses enzimatik menggunakan protease biduri masuk dalam kategori *edible oil* (Standard Codex, 1991). Namun demikian terutama kualitas warna perlu ditingkatkan lebih lanjut, sehingga perbaikan teknologi produksi protease dari tanaman biduri perlu ditelaah lebih lanjut.

KESIMPULAN

Protease biduri efektif digunakan untuk ekstraksi VCO. Semakin tinggi konsentrasi protease biduri sampai 0,15% dan semakin lama waktu inkubasi sampai 4 jam dihasilkan rendemen VCO yang semakin tinggi. Penambahan protease biduri dihasilkan VCO dengan viskositas dan intensitas warna hijau yang cenderung semakin meningkat. Aplikasi protease biduri mampu menghasilkan VCO dengan kadar air dan % FFA yang semakin rendah. Sehingga VCO hasil proses enzimatik dengan protease biduri memiliki kualitas yang lebih baik dari pada VCO hasil proses fermentasi spontan. Namun demikian perlu dicari teknik deklorofilasi protease dari tanaman biduri yang akan diaplikasikan untuk proses VCO agar dihasilkan

VCO yang lebih jernih dengan sedikit atau tanpa pigmen. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang perbandingan daya simpan VCO yang dibuat dengan protease biduri dengan VCO hasil proses fermentasi spontan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniyi, O.D. dan Bawa, A.A. (2006). Mackerel (*Scomber Scrombrus*) Oil Extraction and Evaluation as Raw Materials for Industrial Utilization. *Leonardo Journal of Sciences*. **8**: 33-42.
- Anonim (2005). *Bio-Enzymatic Coconut Oil Extraction Process*, <http://www.pcierd.dost.gov.ph/food/pdf/142.pdf>. Diakses Tanggal 2 September 2007.
- Anonim (2007). *Pilot Scale Production of the Enzymatic Extraction of Coconut Oil*. Department of Science and Technology (DOST). Philippine Council for Industry dan Energy Research & Development (PCIERD), Philippine.
- AOAC (1995). *Official Methods of Analysis 16th edition*. Association of Official Analytical International. Maryland. USA.
- Chen, B.K. dan Diosady, L. (2003). Enzymatic Aqueous Processing of Coconut, *International Journal of Applied Science and Engeneering*, **1**(1): 55-61.
- Codex (1999). *Standard for Edible Fats and Oils not Covered by Individual Standard: Codex Stan 19-1981 (Rev.2-1999)*. <http://www.codexalimentarius.com>.
- Cox, C., Mann, J., Sutherland, W., Chiisholm, A. dan Skeaff, M. (1995). Effects of Coconut Oil, Butter, and Safflower Oil on Lipids and Lipoproteins in Persons with Moderately Elevated Cholesterol Levels. *J. Lipid Research*. **36**, 1787-1795.
- Debrah, K.T. dan Ohta, Y. (1997). Aqueous Extraction of Coconut Oil by an Enzyme-Assisted Proces. *J. Sci. Food Agric.*, **74**, 497-502.
- deMan, M. J. (1997). *Food Chemistry*. Terjemahan. Padmanata, K. *Kimia Makanan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Goodwin, T.W. (1988). *Plant Pigments*. Academic Press. Toronto.
- Gunstone, F.D. (1996). *Fatty Acid and Lipid Chemistry*. Chapman & Hall. Maryland.
- Kabara, J.J. (2000). Health Oils From the Tree of Life (Nutritional and Health Aspects of Coconut Oil). *Indian Coconut Journal*. **31**(8), 2-8.

- McGlone, O.C., Canales, A.L.M. dan Carter, J.V. (1986). Coconut Oil Extraction by a New Enzymatic Process. *J. Food. Sci.* **15**(3): 695-697.
- Palungkun, R. (2001). *Aneka Produk Olahan Kelapa*. Cetakan ke-8. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Purnomo, Y. (2006). *Optimasi Penambahan Crude Papain dan Suhu Inkubasi pada Proses Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO)*. <http://www.kimianet.com/>
- Saito, M., Kudo, H., Mandarin, J.M.G. dan Benassi, V.T. (2004). *Effects of Variety and Cultivating Region on the Color of Soymilk and Other Soybean Processing Foods in Brazil*. Japan International Research Center For Agricultural Sciences (JIRCAS), 179-183.
- Van Stenis, T. (1992). *Flora*. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Waisundara, V.Y., Perera, C.O. dan Barlow, P.J. (2004). *Effect of Different Pre-Treatments of Fresh Coconut Kernels on Some of The Quality Attributes of The Coconut Milk Extracted*, Department of Chemistry, Food Science and Technology Program, National University of Singapore, Singapore, 771-777.
- Witono, Y., (2002). Pemanfaatan Enzim Protease dari Tanaman Biduri untuk Pengolahan Makanan. *J. Sains dan Teknologi*, **1**(1): 32 - 37.
- Witono, Y., Subagio, A., Susanto, T. dan Widjanarko, S.B. (2006). Telaah Teknik Produksi Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*), *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia*, Yogyakarta.
- Witono, Y., Subagio, A., Windrati, W.S., Hartanti, S. dan Praptiningsih, J. (2004). Protease dari Getah Biduri, *Prosiding Seminar Nasional-Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia*, Jakarta.