

## PEMBUATAN *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DENGAN ENZIM PAPAIN DAN PENGARUH ASUPAN VCO TERHADAP KOLESTEROL TOTAL DARAH TIKUS GALUR WISTAR JANTAN

I W. Suirta, I K. G. H. Subawa, N. K. Ariati

*Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana  
Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia  
\*Email: giriharta47@gmail.com*

---

### ABSTRACK

*Virgin Coconut Oil* (VCO) mengandung asam-asam lemak jenuh rantai pendek yang bermanfaat bagi tubuh, namun asam-asam lemak tersebut juga berpotensi meningkatkan kolesterol dalam tubuh. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan papain terhadap kuantitas dan kualitas VCO yang dihasilkan dan untuk mengetahui pengaruh konsumsi VCO terhadap kolesterol total darah pada tikus. Pada penelitian ini VCO dibuat secara enzimatik dengan enzim proteolitik berupa enzim papain. Enzim papain disadap dari pepaya yang kemudian dimurnikan dengan kromatografi kolom gradien elusi. VCO dalam percobaan dilakukan uji kuantitas berupa rendemen, uji kualitas berupa uji penampakan fisik, pengukuran densitas, pengukuran kadar air, dan analisis asam lemak menggunakan instrumen GC-MS, serta uji *in vivo* berupa pengujian asupan VCO terhadap perubahan kolesterol darah tikus. Hasil yang didapatkan adalah VCO yang dibuat dengan penambahan papain memiliki rendemen lebih tinggi dengan rendemen tertinggi pada VCO yang dibuat dengan penambahan papain kasar yaitu 23,33% dibandingkan dengan VCO kontrol yaitu 6,67%. VCO yang dibuat dengan penambahan papain juga memberikan kualitas yang tidak jauh berbeda, bahkan kualitasnya lebih baik dibandingkan VCO kontrol. Pada uji *in vivo*, VCO memberikan efek penurunan kadar kolesterol total darah tikus, namun setelah dianalisis dengan aplikasi SPSS memberikan nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak ada perbedaan bermakna. Dengan demikian penambahan papain dapat meningkatkan kuantitas VCO dan tidak berdampak buruk terhadap kualitas VCO yang dihasilkan, serta dapat memberikan efek penurunan kadar kolesterol total darah namun tidak signifikan secara statistik.

**Kata kunci:** enzim papain, kolesterol total darah, *Virgin Coconut Oil* (VCO).

### ABSTRACT

*Virgin Coconut Oil* (VCO) contains short-chain saturated fatty acids that beneficial, but they also have the potential to increase blood cholesterol. The purpose of this study was to determine the effect of adding papain on the quantity and quality of VCO produced and the influence of VCO consumption on rats' blood cholesterol. In this study, VCO was prepared enzymatically using papain as the proteolytical enzyme. The papain enzyme tapped from papaya then purified by chromatography elution gradient column. The quantity test of the VCO was determined by the percentage of recovery, while the quality assays were done in form of physical appearance, density, water content, fatty acids by GC-MS, and *in vivo* test to know the effect of VCO intake on the rat's blood cholesterol. The results indicated that the VCO made with the addition of papain had higher recovery yield, with the highest yield of 23.33%, than the VCO prepared without the addition of crude papain (VCO control) with the yield of 6.67%. Moreover, VCO obtained with the addition of papain provided not much different quality, even better, than the VCO control. The *in-vivo* test showed that VCO gave a decreasing effect on rat's blood cholesterol, but after being analyzed with SPSS it gave significance value more than 0.05 which meant that there was no significant difference. Thus the addition of papain could increase the VCO quantity and not make a bad impact on the VCO quality as well as provide a decreasing effect on the total blood cholesterol but not statistically significant.

**Keywords:** blood cholesterol, papain enzyme, *Virgin Coconut Oil* (VCO).

### PENDAHULUAN

*Virgin Coconut Oil* (VCO) merupakan minyak kelapa murni yang terbuat dari buah kelapa yang tua dan segar (Maradesa, *et al.*,

2014). VCO tidak berwarna dan memiliki bau khas aroma kelapa. VCO mengandung asam lemak rantai sedang atau *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) berupa asam kaproat (0,7 %), asam kaprat (5,0 – 8,0%), asam kaprilat (4,6 –

10%), asam miristat (16,8 – 21%), dan asam laurat (45,1– 53,2%) (Hanafiah, *et al.*, 2011). Asam lemak ini seperti asam laurat akan dimetabolisme menjadi monolauri yang bermanfaat sebagai antivirus dan antibakteri, serta asam kaprat dimetabolisme menjadi monokarpin yang bermanfaat untuk mencegah penyakit seksual (Marlina, *et al.*, 2017).

Saat ini telah banyak dikembangkan metode pembuatan VCO yang lebih aman dan ramah lingkungan. Salah satunya adalah secara enzimatis menggunakan enzim proteolitik. Enzim ini dapat mengkatalisis reaksi pemecahan protein dengan menghidrolisis ikatan peptidanya sehingga protein pecah menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti dipeptida dan asam amino. Hal ini menyebabkan sistem emulsi santan tidak stabil sehingga minyak terlepas dari sistem emulsi (Muhidin, 2001; Permata, *et al.*, 2016).

Enzim papain merupakan salah satu enzim proteolitik yang terkandung dalam getah pepaya. Getah pepaya juga mengandung enzim proteolitik lain yaitu kimopapain dan lisozim, namun hanya papain yang aktif pada *wide range* dengan suhu optimum 50-60 °C dan pH 5-7. Papain dapat diperoleh dengan mengeringkan getah pepaya pada suhu 50-60°C menjadi papain kasar dimana tentu saja masih banyak senyawa lain yang terkandung di dalamnya yang dapat mengganggu aktivitas proteolitik dari papain (Ismaya, 2013; Winarno, 1997). Getah pepaya yang mengandung papain memiliki warna putih kekuningan, memiliki bau pepaya, serta larut dalam air, sehingga senyawa lain yang terkandung dalam papain dapat dipisahkan dengan mengelusnya dengan berbagai pelarut (Malle, *et al.*, 2015).

Komponen utama dari VCO adalah asam-asam lemak jenuh sebesar 92% dan asam-asam lemak tak jenuh sebesar 8%. Asam lemak jenuh ini jika dikonsumsi berlebihan akan dimetabolisme menjadi kolesterol sehingga kadar kolesterol dalam tubuh menjadi tinggi. Hal ini menyebabkan kolesterol menumpuk membentuk plak menyebabkan penyempitan pembuluh darah sehingga jantung harus bekerja lebih keras memompa darah. Keadaan ini dapat memicu penyakit seperti serangan jantung dan stroke. Penelitian mengenai VCO sudah banyak dilakukan, namun masih sedikit yang meneliti tentang pengaruhnya terhadap kadar kolesterol darah (Marlina, *et al.*, 2017).

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel buah tua dan getah pepaya yang disadap dari buah pepaya muda dengan umur 2,5-3 bulan. Sampel buah kelapa dan buah pepaya yang disadap getahnya diperoleh di daerah Desa Medahan, Kabupaten Gianyar, Bali. Bahan kimia yang digunakan adalah NaCl 10%, NaOH 10%, Pb-asetat 5%, *silica gel 60 G*, akuades, n-heksana, dietil eter, etanol, Larutan BF<sub>3</sub>, dan larutan NaOH dalam metanol.

### Alat

Alat yang digunakan adalah pisau sadap, seperangkat alat gelas, penyaring vakum, oven, kromatografi kolom, cawan penguap, penangas air, timbangan analitik, piknometer, instrumen *Gas Chromatography – Mass Spectrometry Agilent Technologies GC 7890A - MS 5975 Clonization Type Electron Impact (EI) library Willey 09 & NIST 08 (W09N08)*, *syringe 1 mL, cholesterol meter EasyTouch® GCU*, dan strip kolesterol *EasyTouch*.

### Cara Kerja

#### Penyiapan dan Identifikasi Papain

Getah pepaya disadap pada pagi hari (pukul 04.00-06.00). Buah pepaya terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran dan embun dengan diusapkan kain. Kulit buah pepaya ditoreh dengan kedalaman 1-2 mm agar luka torehan cepat sembuh. Getah yang keluar ditampung dalam wadah (Silaban, *et al.*, 2013).

Pengeringan getah pepaya dimulai dengan ditambahkan larutan NaCl 10% (b/v) sebanyak empat kali jumlah getah. Campuran diaduk sampai homogen membentuk suspensi putih lalu disaring. Residu yang diperoleh dikeringkan dengan cawan Petri dalam oven pada suhu 55°C selama ± 10 jam, sampai kering. Papain kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk yang selanjutnya disebut papain kasar.

Papain diidentifikasi melalui uji PbS yang dilakukan dengan 0,1 gram enzim papain kasar dilarutkan dalam 2 mL akuades, lalu ditambahkan 5 mL NaOH 10 % (b/v) dan dipanaskan selama 5 menit. Ditambahkan 2 tetes larutan Pb-asetat 5%. Pemanasan dilanjutkan sampai terjadi perubahan. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya endapan hitam. Papain kasar kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom secara gradien elusi dengan pelarut n-heksana, dietil eter,

etanol, dan air (akuades), serta fase diam *silica gel 60 G*. Masing-masing fraksi dikeringkan dalam oven dengan suhu 55°C, lalu dilakukan identifikasi papain. Fraksi yang positif digunakan dalam pembuatan VCO.

### Pembuatan VCO

Sampel buah kelapa diambil dagingnya, dibersihkan dan diparut. Sebanyak 1000 gram daging kelapa halus ditambahkan 2000 mL akuades kemudian diperas hingga didapatkan santan kelapa. Santan kelapa didiamkan selama 2 jam agar terpisah antara krim dan airnya. Krim santan kemudian dipisahkan dari fase air dengan cara dekantasi.

Sebanyak 1 gram fraksi positif papain, dan papain kasar masing-masing dilarutkan dalam 10 mL akuades. Krim santan sebanyak 30 mL dimasukan ke dalam gelas kemudian masing-masing ditambahkan sebanyak 2, 4, dan 8 tetes dengan pipet tetes dari masing-masing fraksi papain kemudian diaduk sampai tercampur. Perubahan krim santan diamati selama 24 jam sampai lapisan minyak terpisah. Minyak yang terpisah tersebut merupakan *Virgin Coconut Oil* (VCO). VCO yang terpisah kemudian dipisahkan dan disaring dengan kapas serta kertas saring.

### Uji Kuantitas VCO

Volume VCO yang didapat pada masing-masing percobaan diukur dan dicatat. VCO yang didapat juga dibandingkan dengan kontrol berupa minyak yang dibuat tanpa ditambahkan papain. Rendemen VCO dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Volume VCO (mL)}}{\text{Volume krim santan (mL)}} \times 100\% \quad (1)$$

### Uji Kualitas VCO

#### Penampakan Fisik

VCO yang dihasilkan kemudian diamati aroma/bau, rasa, dan warna. Uji fisik ini dilakukan melalui pengisian kuisioner oleh 15 panelis dengan nilai skor berkisar 0-4. Skala numerik untuk parameter warna adalah : 0 = kuning atau keruh ; 1 = putih ; 2 = sedikit jernih ; 3 = jernih ; 4 = sangat jernih. Skala numerik untuk parameter aroma adalah : 0 = tengik atau keruh ; 1 = tidak ada aroma kelapa ; 2 = aroma kelapa lemah ; 3 = aroma kelapa sedang ; 4 = aroma kelapa tajam. Skala numerik untuk parameter rasa adalah: 0 = asam ; 1 = tidak ada rasa minyak kelapa ; 2 = rasa minyak kelapa

lemah; 3 = rasa minyak kelapa sedang ; 4 = rasa minyak kelapa tajam.

### Densitas

VCO terlebih dahulu dimasukkan ke dalam gelas beker, kemudian ditempatkan dalam bak berisi air pada suhu 25°C. VCO dimasukan ke dalam piknometer yang telah kering dan ditimbang, selanjutnya ditutup hingga VCO meluap keluar melalui kapiler piknometer. Bagian luar dan ujung kapiler piknometer dikeringkan dengan tisu. Piknometer yang berisi VCO ditimbang hingga beratnya konstan lalu dicatat. Densitas dapat dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\text{Densitas} = \frac{M_a - M_o}{V} \quad (2)$$

Keterangan:

$M_o$  = berat piknometer kosong (g)

$M_a$  = berat piknometer + VCO (g)

$V$  = volume VCO (g)

### Kadar Air

Sebanyak 3 gram VCO dimasukan ke cawan penguap yang telah kering dan ditimbang kemudian dipanaskan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama 1 jam. Cawan penguap yang berisi VCO kering selanjutnya ditimbang kembali hingga beratnya konstan kemudian dicatat. Kadar air dalam VCO dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\text{Kadar air} = \frac{M_2 - M_1}{M_o} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan:

$M_o$  = berat sampel (g)

$M_1$  = berat awal cawan + sampel (g)

$M_2$  = berat cawan + sampel setelah di oven (g)

### Analisa Asam Lemak

Analisa komposisi asam lemak pada VCO dilakukan dengan instrumen *Gas Chromatography Mass Spectrofotometry* (GC-MS). VCO diesterifikasi dengan cara sebanyak 1 mL VCO dari masing-masing percobaan ditambahkan dengan larutan 1,5 mL NaOH dalam metanol kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 80°C selama 5 menit. Larutan kemudian ditambah dengan BF<sub>3</sub> dalam methanol sebanyak 2 mL kemudian dipanaskan kembali selama 25 menit, lalu didinginkan. Setelah dingin, ditambahkan 1 mL n-heksana lalu lapisan ester yang berada di bagian atas diambil sebanyak 1 µL dengan *syringe* kemudian diinjeksikan ke GC-MS. Kondisi GC-MS yang digunakan adalah menggunakan

kolom *Agilent HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane* 29.81 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0.25  $\mu\text{m}$ , fase gerak gas Helium dengan laju alir 1 mL/menit, suhu injektor 250°C, suhu oven 100-315°C, dan waktu analisa 38,5 menit. Kromatogram masing-masing VCO yang didapat dibandingkan dengan kromatogram standar asam lemak untuk mengetahui komposisi asam lemak pada masing-masing VCO. Konsentrasi komposisi asam-asam lemak pada VCO dihitung dengan rumus berikut ini.

$$C_x = \frac{A_x \times C_s}{A_s} \quad (4)$$

Keterangan:

$C_x$  = Konsentrasi asam lemak sampel (mg/L)

$A_x$  = Area kromatogram asam lemak sampel (mg/L)

$C_s$  = Konsentrasi asam lemak standar (mg/L)

$A_s$  = Area kromatogram asam lemak standar (mg/L)

### Pengujian VCO terhadap kolesterol total darah tikus Galur Wistar Jantan

Desain penelitian yang dilakukan adalah penelitian sebenarnya (*true experimental design*) dengan teknik penelitian eksperimental (*experimental research*). Penelitian ini digunakan rancangan *Randomized Pretest-Posttest Control Group Design* dengan hewan uji yang dibagi menjadi dua yaitu kelompok kontrol dan kelompok uji. Populasi hewan uji pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar jantan berumur 2-3 bulan dan berat 150-200 gram sebanyak 36 ekor sesuai dengan perhitungan rumus Federer.

### Penetapan Dosis Virgin Coconut Oil (VCO)

Dosis *Virgin Coconut Oil (VCO)* yang diberikan ke hewan uji adalah dosis lazim konsumsi VCO pada manusia adalah 45 mL/hari. Faktor konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018 (Laurence dan Bacharach, 1964). Dengan demikian, dosis VCO yang diberikan ke hewan uji sebesar 0.9 mL.

### Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Hewan uji diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dengan cara ditempatkan di dalam kandang secara individu. Hewan uji yang telah diadaptasi, kadar kolesterolnya diukur sebagai kadar kolesterol awal (*pre test*). Hewan uji dikelompokkan menjadi dua yaitu kontrol dan kelompok uji yang masing masing berjumlah 18 ekor. Kelompok kontrol hanya diberikan pelet

standar makanannya, sedangkan kelompok uji diberikan VCO hasil percobaan yang dicampurkan pada pelet makannya. Perlakuan pengujian dilakukan selama 28 hari. Masing-masing hewan uji diberikan makanan sebanyak 15 g/ekor/hari. Kolesterol total darah hewan uji kembali diukur setelah pengujian sebagai kolesterol akhir (*post test*). Data kolesterol yang didapat dianalisis secara statistik.

### Pengukuran Kadar Kolesterol Hewan Uji

Kadar kolesterol total darah hewan uji diukur menggunakan *test kit cholesterol meter EasyTouch®GCU*. *Cholesterol meter* ini terlebih dahulu dikalibrasi dengan kalibrator yang tersedia pada alat, kemudian dimasukan *sensor chip* kolesterol pada slot *chip*. Tes strip *EasyTouch* kolesterol dimasukan ke alat sampai muncul tanda siap untuk ditetesi darah.

Sebelum pengambilan darah, hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 18 jam. Ekor tikus terlebih dahulu dibersihkan dengan *alcohol swab* agar kotoran pada ekor tikus terangkat. Darah tikus diambil menggunakan *syringe* 1 mL. Darah yang diambil kemudian ditetaskan ke tes strip yang telah dimasukan ke alat. Ekor hewan uji kembali dibersihkan dengan *alcohol swab* agar darah berhenti mengalir keluar (Tubagus, et al., 2015).

### Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for windows* versi 25. Adapun analisis data yang dilakukan adalah berikut ini.

### Uji Normalitas

Data diuji normalitasnya untuk mengetahui distribusi setiap data kolesterol. Data dianggap terdistribusi normal jika memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ).

### Uji Homogenitas

Data diuji homogenitasnya untuk mengetahui varian data. Data dianggap homogen jika memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ).

### Uji Perbandingan

Data kemudian diuji dengan metode uji *Paires Samples T Test* dan *Independent Samples T Test* jika data terdistribusi normal dan homogen. Uji ini digunakan untuk

membandingkan data kolesterol yang didapat pada kedua kelompok. Data dianggap memiliki perbedaan yang nyata bila memiliki nilai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Jika data yang didapat tidak terdistribusi normal maka dilakukan alternatif uji non parametrik yaitu uji *Mann Whitney*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penyiapan dan Identifikasi Papain

Getah pepaya disadap dari 40 buah pepaya muda pada pagi hari (pukul 04.00-06.00) saat buah pepaya tersebut tidak terkena sinar matahari agar aktivitas papain yang didapat berubah. Volume getah pepaya yang didapat sekitar 150 mL, setelah ditambahkan dengan 600 mL NaCl 10% (b/v) dan diaduk menjadi suspensi putih, kemudian disaring sehingga terpisah antara residu dan filtratnya. Residu tersebut merupakan papain. Papain merupakan enzim yang tersusun atas protein sehingga kelarutannya akan berkurang di dalam larutan dengan konsentrasi garam yang tinggi yang disebut dengan efek *salting out* (Silaban, *et al.*, 2013). Papain yang didapat dikeringkan dalam oven dengan suhu 55°C yang merupakan suhu optimum dari papain.

Papain kasar yang didapat berwarna putih kekuningan dengan aroma pepaya yang menandakan papain yang didapat bermutu baik (Malle, *et al.*, 2015). Hasil uji identifikasi didapatkan terbentuknya endapan hitam berupa PbS yang menandakan hasil uji positif papain. Endapan ini terbentuk diawali dengan penambahan NaOH pada papain yang menyebabkan ikatan atom sulfur (S) pada asam amino sistein terurai sehingga terlepas menjadi ion sulfida ( $S^{2-}$ ). Ion  $S^{2-}$  tersebut bereaksi dengan ion  $Pb^{2+}$  dari Pb-asetat menghasilkan PbS (Silaban, *et al.*, 2013). Hasil uji identifikasi papain pada masing-masing fraksi dari papain ditampilkan pada Tabel 1.

Pada fraksi n-heksana, terbentuk endapan hitam yang menandakan hasil uji positif papain. Hal ini disebabkan oleh papain memiliki kandungan yang tidak larut mencapai 30%, sehingga bagian papain tersebut diduga tercampur bersama senyawa lain yang terbawa oleh n-heksana, sehingga endapan hitam yang terbentuk sedikit (Suhartono, 1991). Pada fraksi dietil eter, tidak terbentuk endapan hitam yang menandakan hasil uji negatif, yang disebabkan oleh sifat papain itu sendiri yang cenderung

larut ke dalam air. Pada fraksi etanol, tidak terbentuk endapan hitam yang menandakan hasil uji negatif. Hal ini disebabkan oleh sifat etanol yang dapat mengendapkan protein serta menyebabkan protein terdenaturasi (Budiman, 2003). Pada fraksi air, terbentuk endapan hitam yang menandakan hasil uji positif papain. Hal ini disebabkan oleh papain yang cenderung larut ke air dengan kelarutan dalam air berkisar antara 70-80%. Dengan demikian sebagian besar papain terdistribusi ke fraksi air (Suhartono, 1991).

**Tabel 1.** Hasil Identifikasi Fraksi Papain

Fraksi	Hasil Identifikasi
N-Heksana	Terbentuk sedikit endapan hitam
Dietil Eter	Tidak terbentuk endapan hitam
Etanol 96%	Tidak terbentuk endapan hitam
Air	Terbentuk endapan hitam

### Hasil Pembuatan VCO

Pada pembuatan VCO, setelah 24 jam terbentuk 3 lapisan. Lapisan atas adalah blondo berupa sisa emulsi santan dan protein yang rusak, lapisan tengah yaitu minyak berupa VCO, dan lapisan bawah berupa lapisan air yang mengandung sisa-sisa papain. Pada krim santan yang ditambahkan papain, pemisahan sudah terjadi setelah 12 jam, namun pada kontrol baru terpisah dengan baik setelah 48 jam. Hal ini juga bahwa enzim papain bekerja dengan baik dalam memecah emulsi santan sehingga minyak terlepas dari sistem emulsi.

Pecahnya sistem emulsi ini disebabkan oleh enzim papain yang menghidrolisis ikatan peptida protein yang menyebabkan yang menyebabkan ikatan peptida pada protein dapat terputus sehingga protein akan terdegradasi menjadi bagian yang sederhana seperti asam amino. Dengan demikian minyak yang terikat di dalam emulsi protein akan terlepas dari sistem emulsi sehingga dapat terpisah.

### Hasil Uji Kuantitas VCO

Rendemen VCO dari masing-masing percobaan ditampilkan pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa VCO yang dibuat dengan penambahan papain memiliki rendemen lebih tinggi daripada VCO kontrol. Selain itu terjadi peningkatan

rendemen VCO seiring dengan dengan jumlah papain yang ditambahkan. Dengan demikian, penambahan papain pada pembuatan VCO dapat direkomendasikan untuk meningkatkan kuantitas dalam pembuatan VCO.

**Tabel 2.** Rendemen VCO

VCO	Jumlah Penambahan Papain (tetes)	Rendemen (%)
Kontrol	-	6,67
	2	7,33
	4	9,33
Fraksi n-heksana	8	12
	2	10,67
	4	11,33
Fraksi air	8	12,33
	2	16,33
	4	18
Papain kasar	8	23,33

### Hasil Uji Kualitas VCO Penampakan fisik

Uji penampakan fisik pada percobaan ditunjukkan pada Tabel 3 berikut ini.

**Tabel 3.** Skor Rata-rata Uji Penampakan Fisik VCO

VCO	Parameter		
	Warna	Aroma	Rasa
Kontrol	3,8	3	2,7
Fraksi n-heksana	3,8	2,8	2,67
Fraksi air	3,87	2,8	2,8
Papain kasar	3,73	3,27	2,6

Berdasarkan Tabel 3, dapat dilihat bahwa semua VCO sudah memenuhi standar VCO yaitu memiliki warna jernih, aroma khas kelapa, dan rasa khas minyak kelapa sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 7381:2008 mengenai keadaan kualitas VCO (Perdani, *et al.*, 2019). Selain itu, semua VCO memiliki skor penampakan fisik yang tidak berbeda jauh pada semua parameter. Dengan demikian, penambahan papain tidak berdampak buruk terhadap kualitas VCO.

### Densitas

Pengukuran densitas masing-masing VCO ditunjukkan pada Tabel 4. Berdasarkan

Tabel 4 dapat dilihat semua VCO memiliki densitas yang belum memenuhi mutu VCO menurut SNI, 2008 yaitu sebesar 0,915-0,920 kg/dm<sup>3</sup>. Hal ini disebabkan oleh zat-zat yang lolos pada saat minyak disaring seperti kotoran dan sisa protein yang dapat mempengaruhi densitas VCO, serta dipengaruhi juga oleh kandungan asam lemak pada VCO pada percobaan banyak mengandung asam lemak rantai pendek yang memiliki bobot molekul yang kecil. Selain itu, densitas dari masing-masing VCO tidak memiliki perbedaan yang jauh, namun VCO yang dibuat dengan penambahan papain memiliki densitas yang lebih mendekati syarat mutu VCO. Dengan demikian, penambahan papain tidak memberikan dampak buruk terhadap kualitas VCO yang dihasilkan, bahkan dapat meningkatkan kualitasnya.

**Tabel 4.** Densitas VCO

VCO	Densitas (kg/dm <sup>3</sup> )
Kontrol	0,8981
Fraksi n-heksana	0,8989
Fraksi air	0,8992
Papain kasar	0,9004

### Kadar Air

Kadar air masing-masing VCO ditunjukkan dalam Tabel 5. Berdasarkan Tabel 5, semua VCO yang dihasilkan pada masing-masing percobaan memiliki kadar air yang telah memenuhi SNI, 2008 yaitu tidak lebih dari 0,2%. Selain itu, semua VCO memiliki kadar air yang tidak jauh berbeda, namun semua VCO yang dibuat dengan penambahan papain memiliki kadar air lebih rendah daripada kontrol. Dengan demikian, penambahan papain tidak berdampak buruk terhadap kualitas VCO, bahkan dapat meningkatkan kualitasnya.

**Tabel 5.** Kadar Air VCO

VCO	Kadar air (%)
Kontrol	0,1595
Fraksi n-heksana	0,1211
Fraksi air	0,1033
Papain kasar	0,1389

### Hasil Analisa Asam Lemak

Hasil analisis kromatogram dari GC-MS disajikan pada Tabel 6. Berdasarkan data pada Tabel 6, dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan antara VCO yang dibuat dengan penambahan

papain mengandung 8 jenis asam lemak dibandingkan VCO kontrol mengandung 6 jenis asam lemak. Hal ini diduga karena dengan penambahan papain memberikan daya pemecahan emulsi yang lebih baik sehingga jenis asam lemak yang terpisah semakin banyak. Selain itu konsentrasi masing-masing asam lemak pada masing-masing VCO memiliki nilai yang hampir sama. Hal ini menandakan bahwa penambahan papain dalam pembuatan VCO tidak memberikan dampak yang buruk terhadap kualitas VCO yang dihasilkan. Setelah dibandingkan dengan SNI, 2008, terdapat perbedaan yang sangat besar terutama pada konsentrasi asam kaplirat, asam miristat dan

asam palmitat. Dengan demikian kualitas semua VCO pada percobaan belum memenuhi standar SNI tahun 2008. Hal ini diduga terjadi karena jenis kelapa dan kondisi pembuatan VCO belum memenuhi standar (Novarianto dan Tulalo, 2007). Sedangkan untuk asam lemak lainnya sudah mendekati standar syarat mutu VCO menurut SNI 2008. Asam lemak yang paling mendominasi dari masing-masing VCO adalah asam laurat sesuai dengan SNI 2008 mengenai syarat mutu VCO dimana komposisi asam lemak tertinggi pada VCO merupakan asam laurat.

**Tabel 6.** Perbandingan Komposisi Asam Lemak pada Masing-Masing VCO

Nama Senyawa	Konsentrasi (%)				Standar VCO (%) SNI 2008
	VCO A	VCO B	VCO C	VCO D	
<b>Asam Lemak Jenuh</b>					
Asam kaproat	-	-	-	-	0,0-0,8
Asam kaprilat	34,89	32,76	36,65	37,98	5,5-9,5
Asam kaprat	13,75	13,24	13,22	12,39	4,5-9,5
Asam laurat	43,66	45,99	43,33	42,08	44,0-52,0
Asam miristat	5,71	5,99	5,17	5,79	13,2-19,0
Asam palmitat	1,49	1,22	1,03	1,05	7,5-10,5
Asam stearate	-	0,16	0,13	0,12	1,0-3,0
Asam Arakhidrat	-	-	-	-	0,0-1,4
<b>Total</b>	<b>99,50</b>	<b>99,36</b>	<b>99,53</b>	<b>99,41</b>	
<b>Asam Lemak Tak Jenuh</b>					
Asam palmitoleat	-	-	-	-	0,0-1,3
Asam oleat	0,50	0,55	0,48	0,51	5,0-8,0
Asam linoleat	-	0,09	0,09	0,08	1,0-2,6
<b>Total</b>	<b>0,50</b>	<b>0,64</b>	<b>0,57</b>	<b>0,59</b>	

Keterangan: VCO A : VCO kontrol

VCO B : VCO penambahan fraksi n heksana

VCO C : VCO penambahan fraksi air

VCO D : VCO penambahan papain kasar

### Hasil Pengujian VCO Terhadap Kolesterol Total Darah Tikus Galur Wistar Jantan

Data kolesterol hewan uji yang didapat dianalisis dengan aplikasi SPSS ditampilkan pada Tabel 7. Berdasarkan data pada Tabel 7 terlihat pada kelompok uji memiliki perubahan kadar kolesterol yang bernilai negatif yang berarti terjadi penurunan kadar kolesterol total darah tikus yaitu sebesar 4,22 mg/dL dibandingkan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan konsumsi VCO memiliki perubahan kadar kolesterol total yang bernilai positif yang berarti mengalami kenaikan yaitu sebesar 11,67 mg/dL. Hal ini disebabkan oleh pada kelompok uji yang diberi asupan VCO

mengandung asam-asam lemak yang didominasi oleh asam jenuh terutama oleh asam-asam lemak rantai pendek (*Short Chains Fatty Acid* (SCFA)) dan asam lemak rantai sedang (*Medium Chains Fatty Acid* (MCFA)) Asam-asam lemak ini memiliki ukuran yang kecil sehingga lebih mudah diserap oleh usus. Hal ini juga meningkatkan metabolisme di dalam tubuh sehingga asam-asam lemak tersebut tidak diubah menjadi lemak dan terdeposit di dalam tubuh serta tidak diubah menjadi kolesterol sehingga kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) serta menurunkan kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*). (Yovina, 2012).

**Tabel 7.** Data Kadar Kolesterol Total Tikus

Data Kolesterol Total Darah	Rata-rata Kadar Kolesterol Total Darah
<i>Pre Test</i> Kelompok Uji	179,33
<i>Post Test</i> Kelompok Uji	175,11
Perubahan Kadar Kolesterol Total Darah Kelompok Uji	-4,22
<i>Pre Test</i> Kelompok Kontrol	176,17
<i>Post Test</i> Kelompok Kontrol	187,83
Perubahan Kadar Kolesterol Total Darah Kelompok Kontrol	11,67

Adanya penurunan kadar kolesterol juga disebabkan oleh VCO memiliki kandungan *Medium Chains Triglyceride* (MCT) yang tinggi. Molekul MCT berukuran kecil dan memiliki kandungan energi yang lebih rendah. Hal ini menyebabkan MCT dimetabolisme lebih cepat dan mudah diserap sehingga

menjadi sumber energi yang cepat, dan tidak disimpan sebagai lemak dalam tubuh berupa kolesterol (Arpi, 2013).

Hasil uji normalitas dan homogenitas dari data kolesterol yang diperoleh disajikan pada Tabel 8 berikut ini.

**Tabel 8.** Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Data Kolesterol Total Darah	Normalitas (Signifikansi)	Homogenitas (Signifikansi)
<i>Pre Test</i> Kelompok Uji	0,444	0,264
<i>Post Test</i> Kelompok Uji	0,066	
Perubahan Kadar Kolesterol Total Darah Kelompok Uji	0,142	
<i>Pre Test</i> Kelompok Kontrol	0,105	
<i>Post Test</i> Kelompok Kontrol	0,867	
Perubahan Kadar Kolesterol Total Darah Kelompok Kontrol	0,152	

Berdasarkan data pada Tabel 8, memiliki signifikansi lebih dari 0,05 ( $p \geq 0,05$ ), yang berarti bahwa data sudah terdistribusi normal dan bersifat bersifat homogen.

Hasil uji *Paired Samples T Test* pada masing-masing kelompok serta hasil uji *Independent Samples T Test* antar kelompok ditampilkan pada Tabel 9, 10, dan 11.

**Tabel 9.** Uji *Paired Samples T Test* Kelompok Uji

Data Kolesterol Total Darah	Rata-rata Kadar Kolesterol Total Darah (mg/dL)	Sig. (2 tailed) (p)
<i>Pre Test</i> Kelompok Uji	179,33	0,757
<i>Post Test</i> Kelompok Uji	175,11	

**Tabel 10.** Uji *Paired Samples T Test* Kelompok Kontrol

Data Kolesterol Total Darah	Rata-rata Kadar Kolesterol Total Darah (mg/dL)	Sig. (2 tailed) (p)
<i>Pre Test</i> Kelompok Kontrol	176,17	0,070
<i>Post Test</i> Kelompok Kontrol	187,83	

**Tabel 11.** Uji *Independent Samples T Test* Antar Kelompok

Data Kolesterol Total Darah	Rata-rata Kadar Kolesterol Total Darah (mg/dL)	Sig. (2 tailed) (p)
Perubahan Kadar Kolesterol Total Darah Kelompok Uji	-4,22	0,288
Perubahan Kadar Kolesterol Total Darah Kelompok Kontrol	11,67	

Berdasarkan Tabel 9 dan 10 dapat diketahui bahwa pada kelompok uji maupun kelompok kontrol memiliki nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Dengan demikian tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar kolesterol total darah tikus sebelum diberi perlakuan dan setelah diberi perlakuan pada masing-masing kelompok.

Berdasarkan Tabel 11, dapat diketahui bahwa nilai signifikansinya lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) yang menandakan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara perubahan kadar kolesterol total darah tikus pada kelompok uji dengan kelompok kontrol. Berdasarkan hasil pengujian kolesterol, dapat disimpulkan bahwa pemberian asupan VCO pada tikus Galur Wistar Jantan memberikan efek penurunan kolesterol total darah namun penurunan tidak bermakna secara statistik.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan papain pada pembuatan VCO memberikan rendemen yang jauh lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan papain, dengan rendemen tertinggi yaitu 23,33%, serta tidak memberikan dampak buruk terhadap kualitas VCO yang dihasilkan dan kandungan asam lemak tertingginya berupa asam laurat. Pemberian asupan VCO ke tikus Galur Wistar jantan memberi efek penurunan kadar kolesterol total darah namun penurunan kolesterol total darah tersebut tidak bermakna secara statistik.

### Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan metode pemurnian enzim papain yang menghasilkan aktivitas proteolitik enzim yang lebih tinggi. Selain itu perlu dilakukan penambahan jumlah

VCO yang diberikan ke hewan uji untuk mengetahui dampak lebih lanjut dari konsumsi VCO serta pengujian kolesterol total darah dengan instrumen yang menghasilkan hasil yang lebih teliti serta perlu dilakukan pengujian kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan *High Density Lipoprotein* (HDL).

## DAFTAR PUSTAKA

- Arpi, N. 2013. Profil *Medium Chain Fatty Acids* (MCFA) dan Sifat Kimia Minyak Kelapa (*Virgin Coconut Oil/VCO*, Minyak Simplah, Pliek U, Klentik, Dan Kopra) Dibandingkan dengan Minyak Sawit. *SAGU*. 12(2): 23-31.
- Budiman, A. 2003. *Kajian Terhadap Pengaruh Etanol Sebagai Bahan Pengendap dan Pengaruh Air Buffer Fosfat serta Etanol Pada Ekstraksi Papain*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hanafiah, A. Ws, Widyasari, E. A., dan Oekar, N. K. 2011. Pembuatan, Pemurnian, dan Stabilitas *Virgin Coconut Oil (VCO)* Bertanda Radioiodium-131. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. XII(2): 75-84.
- Ismaya, D. 2013. *Proses Pemisahan Enzim Papain Dari Buah Pepaya Dengan Ekstraksi Padat-Cair*. Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Jakarta.
- Laurence dan Bacharach. 1964. *Evaluation of Drugs Activities*. Elsevier. Amsterdam.
- Malle, D., Telussa, I., dan Lasamahu, A.A. 2015. Isolation and Characterization of Papain from The Latex of Papaya (*Carica papata L.*). *Ind. J. Chem. Res.* 2: 182-189.
- Maradesa, R.P., Fatimah, F., dan Sangi. M.S. 2014. Kualitas *Virgin Coconut Oil (VCO)* Sebagai Minyak Goreng yang Dibuat dengan Metode Pengadukan dengan Adanya Penambahan Kemangi (*Ocimum*

- sanctum* L.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 3(1): 44-48.
- Marlina, Wijayanti, D., Yudiastari, I. P., dan Safitri, L. 2017. Pembuatan *Virgin Coconut Oil* Dari Kelapa Hibrida Menggunakan Metode Penggaraman Dengan NaCl Dan Garam Dapur. *Jurnal Chemurgy*. 01(2): 7-12.
- Muhidin. 2001. *Papain dan Pektin*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Novarianto, H. dan Tulalo, M. 2007. Kandungan Asam Laurat pada Berbagai Varietas Kelapa Sebagai Bahan Baku VCO. *Jurnal Littri*. 13(1): 28 – 33.
- Perdani, C. G., Pulungan, M. H., dan Karimah, S. 2019. Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) Kajian Suhu Inkubasi dan Konsentrasi Enzim Papain Kasar. *Jurnal Teknologi dan Management Agroindustri*. 8(3): 238-246.
- Permata, D. A., Ikhwan, H., dan Aisman. 2016. Aktivitas Proteolitik Papain Kasar Getah Buah Pepaya dengan Berbagai Metode Pengeringan, *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. 20(2): 58-64.
- Silaban, R., Panggabean, F.T.M., Rahmadani, dan Timotius A.S. 2013. Studi Pemanfaatan Enzim Papain Getah Buah Papaya Untuk Melunakkan Daging. *Jurnal Pendidikan Kimia*. 5(1): 13-25.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2008. *SNI 7381:2008 Minyak Kelapa Virgin (VCO)*, <http://pustan.bpki.kemenperin.go.id/files/SNI%2073812008.pdf>. Diakses pada 15 Mei 2019.
- Suhartono, M.T. 1991. *Protease*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tubagus, T. A., Momuat, L. I., Potoh, J. S. 2015. Kadar Kolesterol Plasma Tikus Wistar pada Pemberiak Ekstrak Etanol dan Heksana dari Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 4(1): 63-68.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Yovina, S. 2012. *Kolesterol*. Yogyakarta: Pinang Merah Publisher.