

REVIEW ARTIKEL: KARAKTERISTIK DAN PERANAN ENZIM LIPASE PADA PRODUKSI DIACYGLYCEROL (DAG) DARI VIRGIN COCONUT OIL (VCO)

REVIEW ARTICLE: THE CHARACTERIZATION AND ROLE OF LIPASE ENZYME IN THE PRODUCTION OF DIACYGLYCEROL (DAG) FROM VIRGIN COCONUT OIL (VCO)

Emilisia Fatimah*

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Universitas Negeri Surabaya
Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

* Corresponding author, email: emilisiaf@gmail.com

Abstrak. Enzim lipase adalah hidrolase asil yang berfungsi dalam pencernaan dan pengolahan lemak. Enzim lipase memiliki aktivitas yang dapat menghidrolisis berbagai lemak dan minyak, setiap satu unit per mL (U/mL) dari aktivitas enzim lipase dapat membebaskan 1 μ mol asam lemak bebas per menit. Aktivitas enzim lipase pada kondisi optimum yang diperoleh dari pengukuran aktivitas enzimatis pada modifikasi suhu serta pH. Enzim lipase dapat ditemukan pada tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Kelapa (*Cocos nucifera* L.) merupakan salah satu tanaman penghasil enzim lipase yang dapat menghasilkan Virgin Coconut Oil (VCO). VCO dapat diubah menjadi diacylglycerol (DAG) dengan hidrolisis ataupun trans-esterifikasi memakai metode kimiawi atau enzimatis. DAG adalah jenis minyak sehat yang dapat mengurangi kandungan Low Density Lipoprotein (LDL), trigliserida (TG) serta menjadi penghambat plasminogen.

Kata kunci : Lipase, Diacylglycerol (DAG), Virgin Coconut Oil (VCO)

Abstract. Lipase enzyme is an acyl hydrolase that functions in the digestion and processing of fat. Lipase enzyme have activities that can hydrolyze various fats and oils, each one unit per mL (U/mL) of lipase enzyme activity can release 1 μ mol of free fatty acids per minute. Lipase enzyme activity at optimum conditions obtained from measurements of enzymatic activity at modification of temperature and pH. Lipase enzyme can be found in plants, animals, and microorganisms. Coconut (*Cocos nucifera* L.) is a plant that produces lipase enzymes which can produce Virgin Coconut Oil (VCO). VCO can be converted into diacylglycerol (DAG) by hydrolysis or trans-esterification using chemical or enzymatic methods. DAG is a type of healthy oil that can reduce the content of Low Density Lipoprotein (LDL), triglycerides (TG) and become a plasminogen inhibitor.

Key words: Lipase, Diacylglycerol (DAG), Virgin Coconut Oil (VCO)

Pendahuluan

Enzim lipase ialah hidrolase asil yang mempunyai peran dalam pencernaan lipid dan penyerapan lemak [1]. Enzim lipase oleh *Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry* telah diklasifikasikan ke dalam kelompok enzim gliserol ester hidrolase (EC 3.1.1.3) [2]. Enzim lipase merupakan pemecah lemak, gliserol ester hidrolase atau triasilgliserol asilhidrolase dan termasuk dalam kelas enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis. Enzim lipase memiliki aktivitas yang dapat menghidrolisis berbagai lemak dan minyak dalam satu satuan waktu. Aktivitas enzim lipase setiap satu unit per

mL (U/mL) dapat membebaskan 1 μ mol asam lemak bebas per menit. Enzim lipase mempunyai aktivitas pada kondisi optimum yang diperoleh dari pengukuran aktivitas enzimatis pada modifikasi suhu serta pH. Aktivitas enzim lipase dapat ditentukan dengan beberapa cara yaitu dengan metode *interfacial*, tensiometri, kromatografi, konduktometri, titrimetri, dan spektrofotometri [3]. Enzim lipase telah banyak ditemukan dalam tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme [4]. Tumbuhan sebagai salah satu sumber enzim lipase di antaranya terdapat pada biji *Caesalpinia bonducella* L. [5], biji *Brassica napus* L. [4], daging kelapa (*Cocos*

nucifera L.) [6], dan dedak padi (*Oryza sativa* L.) [7].

Kelapa merupakan salah satu sumber penghasil enzim lipase yang berasal dari tumbuhan yang dapat menjadi produk bermanfaat, salah satunya merupakan minyak kelapa murni atau disebut juga *Virgin Coconut Oil* (VCO) [8]. VCO berasal dari daging kelapa di mana produksinya dilakukan pada temperatur yang relatif rendah. VCO dapat diproduksi melalui metode pemanasan bertahap, metode *oil-fishing* dan metode fermentasi [9]. VCO memiliki kandungan asam lemak golongan rantai pendek (C₆₋₁₀), rantai sedang (C₁₂₋₁₆), dan rantai panjang (C₁₈₋₂₀). VCO dapat dikatalisis oleh enzim lipase spesifik 1,3-triasilgliserol dan spesifik 2-triasilgliserol menjadi monolaurin dan dilaurin yang digunakan sebagai pengemulsi makanan dan kosmetik serta dalam pembuatan sabun alami karena berfungsi sebagai antivirus, antibakteri, dan antiprotozoal [10]. VCO juga dapat dikonversikan menjadi *monoacylglycerol* (MAG), *diacylglycerol* (DAG), asam lemak, metil ester asam lemak, dan gliserol [11].

DAG merupakan sejenis minyak sehat (*healthy oil*) yang dijadikan makanan diet oleh penduduk Jepang. DAG juga berfungsi sebagai pengemulsi dan surfaktan makanan serta digunakan dalam bidang kesehatan [12]. Riset yang telah dilakukan di Jepang memaparkan bahwa 1,3-diasilgliserol (1,3-DAG) dalam minyak dan lemak alami dengan jumlah terbatas dapat mengurangi kandungan lemak yang meningkat dalam darah sesudah mengkonsumsi emulsi lemak [13]. Minyak yang kaya akan 1,3-DAG dalam jangka yang panjang mampu menurunkan kandungan lemak tubuh [14] dan kelebihan berat badan [15] sehingga cenderung digunakan dalam pencegahan terjadinya kelebihan berat badan serta penyakit yang berhubungan dengan pola hidup [16]. DAG sebagai minyak sehat karena proses metabolismenya saat menjadi energi berlangsung efektif, sehingga dapat mencegah penumpukan lemak dalam tubuh. DAG juga dapat mengurangi kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL), trigliserida (TG) serta menjadi penghambat plasminogen [17].

DAG dapat dihasilkan dari VCO melalui hidrolisis ataupun trans-esterifikasi dengan memakai metode kimiawi atau enzimatik [18]. Enzim lipase mikrobial digunakan dalam memproduksi DAG dari VCO pada metode

enzimatik. Alternatif lain dalam memproduksi DAG melalui proses gliserolisis dengan mereaksikan *tryacylglycerol* (TAG) dengan gliserol atau esterifikasi antara asam lemak serta gliserol dengan katalis senyawa anorganik [19]. Produk DAG yang dihasilkan dari metode kimiawi melalui proses gliserolisis dengan menggabungkan gliserol, minyak atau lemak alami, dan katalis alkali yang berwarna gelap dengan rasa tidak sedap dan terbentuk senyawa beracun [20]. Enzim lipase yang digunakan sebagai biokatalis dalam proses gliserolisis menghasilkan produk berkualitas lebih bagus serta membutuhkan energi yang cukup rendah. Produk dari proses gliserolisis relatif terjamin sebab berlangsung pada temperatur ruang serta tekanan 1 atm [21].

Review ini dilakukan karena kelapa sebagai salah satu sumber penghasil enzim lipase memiliki potensi besar menjadi produk olahan yang bermanfaat yaitu VCO yang dapat diproses menjadi DAG melalui hidrolisis ataupun trans-esterifikasi dengan memakai metode kimiawi atau enzimatik. DAG yang diperoleh memiliki beberapa manfaat sebagai pengemulsi dan surfaktan pada makanan. Review ini juga belum pernah dilakukan sebelumnya. Pada review ini akan dibahas beberapa topik, yaitu enzim lipase, sumber enzim lipase, peranan enzim lipase, *diacylglycerol* (DAG), produksi *diacylglycerol* (DAG), *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan sifat bioaktifnya, dan produksi *Virgin Coconut Oil* (VCO).

Enzim Lipase

Enzim lipase menghidrolisis ikatan ester seperti trigliserida. Trigliserida oleh enzim lipase dihidrolisis ikatan asam lemaknya dengan gliserol pada posisi 1 atau posisi 2 [4]. Berdasarkan posisinya yang spesifik (*regiospecificity*), enzim lipase dibagi 3, yaitu lipase non-spesifik, 1,3-lipase spesifik, dan asam lemak-lipase spesifik. Pada enzim lipase non-spesifik dapat mengkatalisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol dengan monogliserida dan digliserida sebagai perantara serta dapat menghilangkan asam lemak dari posisi manapun pada substrat. Monogliserida dan digliserida juga dihidrolisis lebih cepat daripada trigliserida. Enzim 1,3-lipase spesifik dapat melepaskan asam lemak pada posisi 1 dan posisi 3 dari trigliserida dan tidak dapat menghidrolisis ikatan ester pada

posisi sekunder. Diglisericida yang dihidrolisis triglisericida oleh enzim lipase spesifik 1,3 jauh lebih cepat dibandingkan dengan yang menjadi monoglisericida. Enzim asam lemak-lipase spesifik menunjukkan selektivitas asam lemak dan katalisis hidrolisis ester yang mempunyai asam lemak rantai panjang dengan ikatan rangkap pada posisi cis antara C-9 dan C-10 [22].

Enzim lipase dapat larut dalam air serta dapat mengkatalisis reaksi dalam dua jenis sistem yaitu media berair dan organik, tetapi enzim lipase harus dilarutkan dalam pelarut organik karena substratnya (rantai panjang triasilgliserol) tidak dapat larut dalam air. Pelarut organik dapat mengubah sifat serta dapat menyebabkan perubahan struktur enzim lipase dan dapat mempengaruhi aktivitas fungsional dan katalitiknya [23]. Enzim lipase memiliki aktivitas yang dapat menghidrolisis berbagai lemak dan minyak, setiap satu unit per mL (U/mL enzim lipase dapat menghidrolisis 1 μmol asam lemak bebas per menit. Aktivitas enzim lipase dapat ditentukan dari karakterisasi berdasarkan pH optimum dan temperature optimum [3].

Sumber Enzim Lipase

Enzim lipase dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme [4]. Enzim lipase yang berasal dari mikroorganisme telah diproduksi ditingkat industri serta paling banyak digunakan dalam aplikasi bioteknologi dan kimia organik karena aktivitas katalitik yang lebih tinggi, waktu produksi yang dapat dikontrol, manipulasi genetik yang mudah untuk karakteristik yang diinginkan, dapat produksi dalam jumlah besar serta penggunaan media kultur pertumbuhan yang lebih murah [24].

Enzim lipase yang berasal dari mikroorganisme dapat dihasilkan dari golongan bakteri, jamur, dan khamir serta dapat diproduksi dari famili hidrolase, misalnya, esterase [25]. Isolasi dari lumpur aktif pada pengolahan air limbah industri tekstil menghasilkan bakteri *Erwinia chrysantemi* yang termasuk golongan bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dengan aktivitas sebesar 4,75 U/mL dengan pH 9 [26].

Enzim lipase ekstraseluler yang diperoleh dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memanfaatkan induser minyak jagung dengan penambahan kofaktor Na^+ dan Co^{2+} ke dalam media pembuatan menghasilkan aktivitas enzim

yang meningkat. Enzim lipase memiliki aktivitas tertinggi pada konsentrasi induser 8% dengan penambahan kofaktor Na^+ yaitu sebesar 478,5026 $\mu\text{mol/mL}/\text{menit}$. Setiap enzim lipase dengan konsentrasi induser 8% serta penambahan kofaktor Na^+ dan Co^{2+} memiliki suhu optimum 40°C dan pH optimum 7 [27]. Riset lain mengungkapkan enzim lipase ekstraseluler yang diperoleh dari ekstraksi dari *Yarrowia lipolytica* mempunyai aktivitas pada suhu optimum sebesar 40°C [28].

Enzim lipase dari bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang aktivitasnya diuji memanfaatkan substrat para-nitrofenil palmitat menghasilkan bagian kecil dengan aktivitas tertinggi pada fraksi sekitar 20-40% sebesar 215,799 unit/mg protein dengan aktivitas optimum pada suhu 70°C dan pH optimum 7 [29].

Jamur *Aspergillus niger* dengan menginduksi minyak goreng sawit melalui proses fermentasi menghasilkan karakterisasi kinetik enzim lipase aktivitas tertinggi pada pH 7 dan temperatur 30°C . Garam amonium sulfat dengan konsentrasi 90% digunakan untuk mengisolasi enzim yang menyebabkan meningkatnya aktivitas enzim yang awalnya 0,9167 U/mL menjadi 4 U/mL [3]. Enzim lipase yang dihasilkan dari kecambah biji alpukat memiliki aktivitas sebesar 144,1 U/mg dengan pH optimum 6 yang direaksikan pada suhu 35°C [30].

Enzim lipase pada tumbuhan yang selama ini dianggap umum diperoleh dari biji-bijian yang mengandung lemak yang tinggi [31]. Triglisericida pada posisi sn-1,3 juga dapat dihidrolisis oleh enzim lipase yang berasal dari biji-bijian [32]. Enzim lipase yang ada disebagian besar biji [33], seperti biji jagung, biji jarak, biji bunga matahari, kelapa, kelapa sawit, kacang tanah, [34], biji wijen [35] serta dapat dibuat dari dedak padi [7].

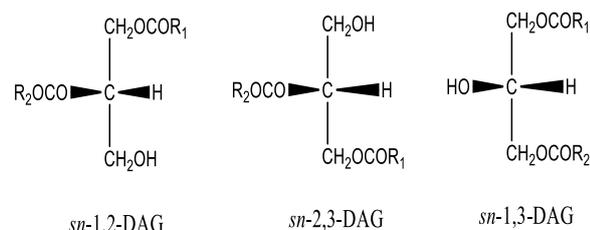
Peranan Enzim Lipase

Enzim lipase selain memiliki kemampuan menghidrolisis juga dapat mengkatalisis reaksi interesterifikasi. Reaksi interesterifikasi berperan dalam pembentukan lipid terstruktur [5]. Enzim lipase digunakan untuk mengkatalisis proses esterifikasi, interesterifikasi, transesterifikasi, asidolisis dan aminolisis [36]. Reaksi transesterifikasi dengan katalis lipase dalam produksi biodiesel merupakan proses yang efisien, hemat energi, ramah lingkungan serta alternatif untuk katalisis kimia konvensional [37].

Enzim lipase memiliki kemampuan untuk mengkatalisasi reaksi heterogen yang larut maupun tidak larut dalam air. Sifat katalitik enzim lipase lebih luas, sehingga banyak digunakan sebagai biokatalis di berbagai industri seperti agrokimia, farmasi, deterjen, penyamakan, makanan dan industri penghasil surfaktan [38]. Aplikasi komersial utama dari enzim lipase hidrolitik yaitu kegunaannya sebagai deterjen [39] karena kemampuannya dalam menghidrolisis lemak, sehingga enzim lipase secara luas digunakan untuk industri *laundry* dan deterjen rumah tangga. Enzim lipase deterjen secara khusus dipilih karena spesifisitas substrat yang rendah, sehingga mampu menghidrolisis lemak dari berbagai komposisi, memiliki kemampuan untuk bertahan pada kondisi pencucian yang ekstrim yakni pada pH 10-11 dan pada suhu 30-60°C serta memiliki kemampuan untuk bertahan dari kerusakan karena surfaktan dan enzim-enzim lain yang merupakan komponen penting dari deterjen enzim [40].

Pada industri pangan [41], lemak susu dihidrolisis oleh enzim lipase menjadi lemak bebas dengan rasa keju yang khas [42]. Industri deterjen juga memanfaatkan enzim sebagai zat tambahan karena mampu menghidrolisis lipid [4]. Enzim lipase diketahui dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tumor karena kemampuannya mengaktivasi faktor nekrosis tumor [43].

Diacilglycerol (DAG)



Gambar 1. Struktur isomer DAG [44].

DAG merupakan gliserida memiliki dua rantai asam lemak yang terhubung secara kovalen pada molekul gliserol melalui ikatan ester. DAG adalah ester gliserol dimana dua gugus hidroksida diesterifikasi dengan asam lemak rantai panjang yang memiliki tiga bentuk stereokimia. Seperti pada gambar 1, DAG memiliki dua jenis isomer, yaitu 1,2-DAG dan 1,3-DAG. Isomer 1,2-DAG memiliki atom karbon asimetris pada posisi 2 yang sering dikenal sebagai *sn*-1,2-DAG dan *sn*-2,3-DAG [44].

DAG memiliki pencernaan dan nilai energi yang serupa dengan triasilgliserol (TAG) [16], tetapi studi terbaru yang dilakukan pada manusia dan hewan menunjukkan DAG terutama 1,3-DAG berbeda dengan TAG yang secara signifikan menekan penumpukan lemak perut dan visceral, dapat menurunkan berat badan [14], dan penurunan level TAG serum postprandial [13]. Efek menguntungkan dapat disebabkan oleh perbedaan dalam metabolisme TAG dan DAG [45]. Tubuh secara produktif memetabolisme DAG sebagai sumber energi untuk menghindari terjadinya penumpukan lemak dalam tubuh. DAG juga dimanfaatkan untuk mengurangi *Low Density Lipoprotein* (LDL), TAG dan sebagai penghambat plasminogen. DAG yang direaksikan dengan MAG dapat dimanfaatkan sebagai surfaktan makanan dan anti mikroba, utamanya yang mempunyai asam lemak rantai sedang [10]. Aktivitas permukaan DAG dengan hidrofobik dan hidrofilik dalam struktur molekul serta secara luas telah dimanfaatkan dalam industri makanan sebagai pengemulsi. DAG juga memiliki titik leleh yang lebih tinggi dibandingkan dengan TAG yang dapat memperbaiki tekstur makanan. [46]. Status GRAS (*Generally Recognized As Safe*) dalam industri makanan, menjamin makanan aman untuk dikonsumsi. Di seluruh dunia DAG beserta turunannya diproduksi sebanyak 70% sebagai pengemulsi makanan [47].

DAG memiliki gugus hidroksil bebas, yang menjelaskan sifat kimia dari antarmuka dan aktivitas permukaan yang lebih tinggi dibandingkan dengan TAG, menjadikannya lebih umum sebagai pengemulsi dan penstabil dalam kosmetik dan makanan [48], seperti dalam produk roti, margarin, produk susu, dan *confectionary* [49]. Organel, *water in oil*, nanostruktur emulsi, struktur lamellar dalam larutan hidrofobik, seperti minyak ikan cod, tetradekan, minyak kemiri merupakan struktur fisik yang dibentuk oleh DAG sebab mengandung ester gliserol dari triasilgliserol. DAG juga digunakan sebagai pengganti lemak serta karakteristiknya cocok digunakan sebagai pengawet makanan dan pembersih [49].

Di Jepang, minyak goreng yang telah diolah dengan minyak DAG digunakan dalam makanan khusus kesehatan. Penelitian pada hewan dan manusia yang menunjukkan bahwa asupan minyak DAG aman untuk dikonsumsi manusia bila digunakan dengan cara yang mirip dengan minyak nabati lainnya, salah satunya

sebagai menu diet [15]. Diet yang menggunakan minyak DAG telah terbukti dapat mencegah penumpukan lemak tubuh serta berguna dalam penanganan maupun gangguan terkait obesitas [50]. Diet DAG mengurangi berat badan dan massa lemak visceral, sebagaimana ditentukan oleh analisis semi-kuantitatif menggunakan *computed tomography* pada pria sehat mengalami sedikit penurunan trigliserida serum dan kadar kolesterol [51].

Produksi Diacylglycerol (DAG)

DAG dapat diproduksi melalui berbagai metode, seperti gliserolisis antara TAG dan gliserol [19], hidrolisis atau trans-esterifikasi memakai metode kimiawi ataupun enzimatis [18]. DAG secara komersial dibuat dengan temperatur tinggi melalui proses gliserolisis secara *batch* dengan mereaksikan antara gliserol atau esterifikasi antara asam lemak serta gliserol dengan triasilgliserol (TAG) dengan bantuan katalis senyawa anorganik, namun proses tersebut memiliki kelemahan dalam penggunaan temperatur yang tinggi sehingga membutuhkan energi besar, terbentuknya produk samping yang beracun serta menghasilkan warna serta rasa yang tidak diinginkan. Proses gliserolisis secara enzimatis memanfaatkan enzim lipase sebagai alternatif dalam pembuatan DAG. Proses tersebut mempunyai beberapa keunggulan, yaitu, penggunaan energi yang rendah, spesifitas tinggi, lebih aman, dan ramah lingkungan [19].

Proses gliserolisis dilakukan pada suhu yang relatif lebih rendah sekitar 0-25°C. Produk DAG yang dihasilkan dihilangkan dengan cara kristalisasi selama reaksi berlangsung. Pemisahan DAG dengan metode ini tidak hemat biaya dalam produksi skala besar karena waktu reaksi yang diperlukan lebih lama antara 20–100 jam [52]. Proses gliserolisis untuk menghasilkan minyak DAG dari TAG dan gliserol menggunakan kalium asetat sebagai katalis. Produk DAG dengan proses ini telah sdiakui dapat menghasilkan produk DAG mentah dengan warna yang bagus. Akan tetapi, proses tersebut memerlukan suhu reaksi yang relatif tinggi yaitu 190–240°C dan membutuhkan biaya energi yang cukup signifikan, tetapi proses ini menggunakan bahan baku dan katalis berbiaya rendah [53].

DAG juga dapat diproduksi dari hidrolisis parsial TAG. Proses enzimatis untuk hidrolisis parsial TAG untuk menghasilkan DAG

dengan menggunakan enzim lipase amobil komersial untuk mengkatalisis hidrolisis TAG dalam kondisi terkontrol untuk menghasilkan minyak DAG. Kontrol yang tepat dari kadar air dalam sistem reaksi diperlukan untuk hasil DAG yang optimal [54].

Proses lain untuk produksi DAG melibatkan kombinasi reaksi hidrolisis dan esterifikasi yang terdiri dari hidrolisis minyak TAG untuk mendapatkan asam lemak bebas, dilanjutkan dengan asam lemak yang diesterifikasi tanpa pemurnian lebih lanjut dengan gliserol untuk menghasilkan DAG. Pada tahap esterifikasi diperlukan enzim lipase untuk katalisis. Dibandingkan dengan proses enzimatis lain, proses ini lebih berpotensi untuk industri. Minyak DAG dengan kemurnian tinggi dapat diproduksi dengan hasil tinggi dan dalam jangka waktu singkat melalui reaksi esterifikasi asam lemak dengan gliserol dengan memanfaatkan enzim lipase [55].

Produk DAG juga dapat disintesis melalui proses gliserolisis atau esterifikasi. Pada reaksi ini sebagian besar dapat dipercepat dengan menggunakan komponen basa anorganik atau enzim lipase [56]. Produk DAG dibuat dengan proses gliserolisis minyak atau lemak dengan gliserol memakai katalis alkali seperti natrium atau kalsium hidroksida. Reaksi gliserol merupakan salah satu reaksi interesterifikasi yang meliputi perpindahan gugus asil yang terdapat dalam gliserol dan minyak dalam triasilgliserol. Perbedaan rasio campuran antara jumlah asam lemak dalam triasilgliserol dengan gliserol akan mempengaruhi kondisi kesetimbangan reaksi interesterifikasi. Tingkat kelarutan gliserol dalam campuran juga sangat dipengaruhi oleh suhu reaksi [57].

Virgin Coconut Oil (VCO) dan Sifat Bioaktifnya

VCO adalah sejenis minyak kelapa yang mempunyai banyak keunggulan serta bermanfaat sebagai bahan baku industri [58]. VCO dapat dikategorikan sebagai minyak dan bahan pangan fungsional terbaik, sehingga dapat dikonsumsi secara langsung ataupun dalam wujud olahan dari VCO, misalnya, es krim, minuman berkafein dan madu, VCO dengan rasa sari nanas serta biskuit untuk bayi [59]. Kaprilat, kaprat, dan laurat tergolong asam lemak rantai pendek dan sedang yang terkandung didalam VCO, beberapa asam

lemak tersebut dalam tubuh manusia memiliki fungsi secara biologis [60]. Komposisi asam lemak pada VCO dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi asam lemak yang terkandung dalam VCO [61].

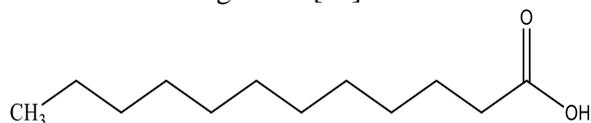
Asam Lemak	Rumus Kimia	Kelapa (%)
Asam lemak jenuh		
Asam kaproat	C ₃ H ₁₁ COOH	0,0-0,8
Asam kaprilat	C ₇ H ₁₇ COOH	5,5-9,5
Asam kaprat	C ₉ H ₁₉ COOH	4,5-9,5
Asam laurat	C ₁₁ H ₂₃ COOH	44,0-52,0
Asam miristat	C ₁₃ H ₂₇ COOH	13,0-19,0
Asam palmitat	C ₁₅ H ₃₁ COOH	7,5-10,5
Asam stearat	C ₁₇ H ₃₅ COOH	1,0-3,0
Asam arachidat	C ₁₉ H ₃₉ COOH	0,0-0,4
Asam lemak tidak jenuh		
Asam palmitoleat	C ₁₅ H ₂₉ COOH	0,0-1,3
Asam oleat	C ₁₇ H ₃₃ COOH	5,0-8,0
Asam linoleat	C ₁₇ H ₃₁ COOH	1,5-2,5

VCO merupakan salah satu olahan berbahan dasar santan kelapa dimana proses pembuatannya tidak menggunakan bahan pengawet serta pemanasan tinggi, sehingga warna dari VCO tetap jernih dan beraroma khas kelapa [62]. VCO memiliki parameter mutu yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter mutu VCO sesuai Standar Nasional Indonesia 7381-2008 [63].

Jenis Uji	Parameter
Penampakan fisik minyak (keadaan minyak):	
1. Bau	1. Khas kelapa segar, tidak tengik
2. Rasa	2. Normal, khas minyak kelapa
3. Warna	3. Tidak berwarna hingga kuning pucat
FFA (%) (dihitung sebagai asam laurat)	Maksimal 0,2
Bilangan iod (g Iod/100 g minyak)	4,1-11
Bilangan penyabunan (Mg-KOH/g minyak)	250-260
Densitas (kg/m ³)	915,0-920,0

VCO mempunyai kandungan alami yang dapat dipertahankan sebab diproses dengan jangka waktu yang singkat. Kandungan alami dalam kelapa mempunyai banyak khasiat, khususnya sebagai pereda nyeri, analgesik serta antipiretik. Hal ini disebabkan VCO dapat mengurangi penyusutan *transudate*, penyusutan granuloma serta aktivitas serum alkali fosfatase [64]. VCO sebagai bahan baku pembuatan kosmetik, obat-obatan, makanan maupun minuman memiliki nilai tambah karena mengandung 64% asam lemak jenuh rantai sedang (C₁₈₋₂₀) ataupun *medium chain saturated fatty acids* (MCFA) yang terdiri lebih dari 50% asam laurat (C12), 6-7% asam kaprat (C10) serta 8% asam kaprilat (C8) [62]. VCO dapat diubah menjadi MAG, DAG, asam lemak, metil ester asam lemak serta gliserol [11].



Gambar 2. Struktur asam laurat [61].

VCO memiliki sifat antimikroba sebab terdapat asam laurat dalamnya yang mengandung asam lemak dominan sehingga selain sebagai antimikroba mempunyai sifat menenangkan, menjaga sistem imun, antivirus, antijamur serta antiprotozoa. Struktur asam laurat dapat dilihat pada gambar 2, asam laurat adalah asam lemak rantai sedang yang dapat membunuh bakteri tanpa menyebabkan bahaya pada jaringan manusia dengan cara menghancurkan membran lemaknya [65]. VCO juga mempunyai sifat sebagai antibakteri yang teruji dapat menekan [66] terjadinya infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang diperoleh pasien setelah masuk rumah sakit yang dapat disebabkan oleh bakteri [67] seperti bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25619) [66] yang dapat menyebabkan infeksi terutama pada pasien dengan imunitas yang menurun [68] umumnya dialami oleh penderita septikemia, sistik fibrosis, luka bakar serta luka yang terkontaminasi [69], bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737) [66] menyebabkan infeksi yang dapat terjadi pada luka-luka terbuka, saluran pernapasan dan kulit manusia [70], bakteri *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) dan bakteri *Propionibacterium acnes* (ATCC 6918) [66] dapat menyebabkan infeksi pada jerawat [71]. Asam lemak akan mengganggu produksi energi seluler seperti rantai transport elektron dan

fosforilasi oksidatif. Aktivitas enzim yang terhambat, kegagalan dalam mengambil nutrisi, penyusunan peroksidasi serta kerusakan auto-oksidasi ataupun hancurnya sel bakteri akan menentukan aktivitas asam lemak [66].

VCO juga berfungsi sebagai antijamur yang efisien terhadap beberapa jenis jamur, seperti *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida stellatoidea* serta *Candida krusei*. Resistensi jamur dapat dicegah dan usia hidupnya dapat dipersingkat sebab asam lemak yang langsung memasuki lapisan lemak pada membran sel dan merusak lapisan tersebut, sehingga menyebabkan peningkatan fluiditas membran [66].

Produksi Virgin Coconut Oil (VCO)

Minyak kelapa murni dapat diperoleh melalui proses hidrogenasi dari asam lemak bebas. Proses hidrogenasi dapat dihindari melalui ekstraksi minyak kelapa dengan proses dingin seperti fermentasi, pancingan, sentrifugasi, pemanasan terkontrol serta parutan kelapa yang dikeringkan secara cepat [72]. Minyak kelapa diperoleh dari daging buah kelapa dengan ekstraksi kering maupun basah. Kelapa kering yang digunakan sebagai bahan baku ekstraksi kering menghasilkan minyak berkualitas tinggi, khususnya VCO. Ekstraksi kering harus diproduksi dalam skala industri, sebab dibutuhkan modal yang besar serta bahan baku yang tidak sedikit. Pada metode kering, bahan baku yang digunakan belum siap konsumsi, sehingga minyak yang dihasilkan masih berbentuk minyak kelapa kasar atau *Crude Coconut Oil* (CCO). CCO mempunyai kandungan asam lemak bebas yang relatif tinggi sehingga tidak dapat dikonsumsi secara langsung, CCO harus melewati tahapan proses pemurnian, yakni *refining*, pemutihan, dan *deodorizing* [9]. Ekstraksi basah dapat dilakukan untuk skala rumah tangga dengan dengan tahapan awal menyiapkan santan, setelah itu dilakukan metode pemanasan untuk mengekstraksi ekstrak minyak dari santan, fermentasi serta sentrifugasi [59]. Perbandingan mendasar antara kedua proses ini adalah minyak yang dihasilkan. [9]. Minyak kelapa dengan ciri-ciri kekuningan, tidak berasa serta tidak berbau dihasilkan melalui metode kering, sedangkan produksi dengan metode basah diperoleh minyak kelapa yang dapat konsumsi

secara langsung tanpa melalui proses pemurnian [73].

Pada sebuah riset, VCO dapat diproduksi melalui metode inkubasi daging kelapa kering dan inkubasi santan hingga temperatur 40°C serta metode pembekuan dan pencairan santan dimana temperatur paling tinggi dicapai pada 47°C. Riset ini memaparkan VCO yang diproduksi melalui metode-metode tersebut atau memakai berbagai varietas berbeda menghasilkan perbedaan mutu serta sifat kimia [74]. Pada riset lain VCO dapat diproduksi melalui metode fermentasi dengan memakai ragi tempe, ragi roti, dan ragi tape. Hasil riset menunjukkan rendemen terbaik, kandungan air serta kandungan asam lemak bebas terbaik diperoleh dari teknik fermentasi dengan memakai ragi roti [75].

Proses pembuatan VCO juga dapat dilakukan dengan metode pemikseran yang merupakan salah satu proses pembuatan VCO secara mekanik. Selama proses tersebut terjadi pemisahan ikatan kimia dalam santan kelapa [76]. Sebuah riset dengan menggunakan metode pemikseran, menghasilkan kualitas VCO berupa asam laurat sebesar 50,86%, asam miristat adalah 16,53%, asam kaprilat adalah 7,16%, asam palmitat sebesar 5,92%, asam oleat sebesar 6,75% serta asam lemak bebas sebesar 0,22%. Kandungan asam laurat telah memenuhi standar APCC yakni 43-53%, serta memenuhi standar mutu VCO menurut SNI 7381 yaitu sebesar 45,1-53,2% [77].

Kesimpulan

Enzim lipase dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai biokatalis. Enzim lipase dari tumbuhan salah satunya dapat diperoleh dari daging kelapa yang dapat menghasilkan *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang kemudian dapat diubah menjadi *diacylglycerol* (DAG). Enzim lipase memiliki karakteristik yang dapat dikaji berdasarkan pH dan temperatur optimum untuk menentukan aktivitasnya. Enzim lipase juga memiliki peranan sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis.

Daftar Pustaka

- [1] Svendsen, A. 2000. *Biochim. Biophys Acta* 2(2000): 223.
- [2] Kurnia. 2010. *Produksi Enzim Lipase dari*

- Aspergillus Niger untuk Menghasilkan Monoasilgliserol. Semarang: Universitas Diponegoro.
- [3] Murni, S. W., Kholisoh, S. D., and Petrissia, E.M. 2011. Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari Aspergillus niger. 104(2011): 62-274.
- [4] Sana, Hossin, I., Haque, E., and Shaha, R. 2004. Identification, Purification and Characterization of Lipase from Germination Oil Seed (Brassica napus L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7(2004): 246–252.
- [5] Pahoja, V., Dahot, M., and Sethar, M. 2001. Characteristic Properties of Lipase Crude Extract of Caesalpinia bounducella L. Seeds. *Journal of Biological Sciences* 1(8): 775–778.
- [6] Tanasale, M. L. 2013. Aplikasi Ragi Tape terhadap Rendemen dan Mutu VCO. *Journal Ekosains* 2(2013): 47–52.
- [7] Dali, S. and Rusman, H. J. 2017. Produksi DAG dari Virgin Coconut Oil (VCO) melalui Reaksi Trans-Esterifikasi Menggunakan Enzim Lipase Dedak Padi (Oryza Sativa L.) Spesifik C18-20 Terimobilisasi Karbon Aktif sebagai Biokatalis DAG. *Indonesian Journal of Chemical Reseach* 5(1): 37-46.
- [8] Setiaji, B. and Prayogo, S. 2006. Membuat VCO Berkualitas Tinggi. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- [9] Pontoh, J., Surbakti, M., and Papilaya, M. 2008. Kualitas Virgin Coconut Oil dari Beberapa Metode Pembuatan. *Jurnal Chemical Program* 1(2008): 60–65.
- [10] Dwiyni, M. 2006. Kajian Sifat Fisiko-Kimia Ekstraksi Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil, VCO) dengan Metode Pembekuan Krim Santan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [11] Mappiratu and Ijirana. 2010. Penelitian Pembuatan Metil Ester Asam Lemak Rantai Sedang Dan Rantai Panjang Serta Pemurnian Gliserol dari Minyak Kelapa Murni. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* 28(4): 415–426.
- [12] Anggirasti, H. P. 2008. Gliserolisis RBDPO (Refined Bleached Deodorized Palm Oil) dengan lipase untuk sintesis MDAG (Mono-diassilgliserol). Palembang: Prosiding Seminar PATPI.
- [13] Tada, N., Watanabe, H., Matsuo, N., Tokimitsu, I., and Okazaki, M. 2001. Dynamics of Postprandial Remnant-like Lipoprotein Particles in Serum After Loading of Diacylglycerols. *Clinica Chimica Acta* 311(2001): 109–117.
- [14] Maki, K., Davidson, M., Tsushima, R., Matsuo, N., Tokimitsu, I., Umporowicz, D.M., Dicklin, M.R., Foster, G.S., Ingram, K.A., Anderson, B.D., Frost, S.D., Bell, M. 2002. Consumption of Diacylglycerol Oil as Part of A Mildly Reduced-energy Diet Enhances Loss of Body Weight and Fat Compared with A Triacylglycerol Control Oil. *American Journal of Clinical Nutrition* 76(2002): 1230–1236.
- [15] Nagao, T. Watanabe, H., Goto, N., Onizawa, K., Taguchi, H., Matsuo, N., Yasukawa, T., Tsushima, R., Shimasaki, H., Itakura, H. 2000. Dietary Diacylglycerol Suppresses Accumulation of Body Fat Compared to Triacylglycerol in Men in A Double-blind Controlled Trial. *Journal of Nutrition* 130(2000): 792–797.
- [16] Flickinger, B. and Matsuo, N. 2003. Nutritional Characteristic of DAG Oil. *Lipids* 38(2003): 129–132.
- [17] Yuan, Q., Ramprasath, V., Harding, S., Rideout, T., Chan, Y., and Jones, J. 2010. Diacylglycerol Oil Reduces Body Fat but Does Not Alter Energy or Lipid Metabolism in Overweight, Hypertriglyceridemic Women. *Journal of Nutrition* 140(6): 1122–1126.
- [18] Lestari, S. P., Harjono, and Supartono. 2012. Sintesis Askorbil Laurat melalui Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Enzim Lipase. *Indonesian Journal of Chemical Science* 1(2): 170-174.
- [19] Suharyanto, Tri-Panji, and Perwitasari, U. 2011. Optimasi Produksi Diasilgliserol dari Crude Palm Oil Menggunakan Lipase Spesifik 1-3 Gliserida dari Rhizopus Oryzae TP-2. *Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Menara Perkebunan* 79(1): 23–29.
- [20] Jamlus, N., Salimon, J., and Derawi, D. 2016. Enzymatic Glycerolysis of Methyl Laurate Utilizing Candida antarctica Lipase b. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 20(6): 1365–1372.
- [21] Zhong, N., Li, L., Xu, X., Cheong, L. Z., Xu, Z., and Li, B. 2013. High Yield of Monoacylglycerols Production Through

- Low-temperature Chemical and Enzymatic Glycerolysis. *European Journal of Lipid Science and Technology* 115(6): 684-690.
- [22] Kapoor, M. and Gupta, M. 2012. Lipase Promiscuity and Its Biochemical Applications. *Process Biochem* 47(2012): 555–569.
- [23] Guo, J., Chen, C., Wang, S., and Huang, X. 2015. A Convenient Test for Lipase Activity in Aqueous-based Solutions. *Enzyme and Microbia Technology* 71(2015): 8–12.
- [24] Ullah, N., Daud, M., Shabir, M., Ozkan, T., and Qasim, M. 2015. Screening Identification and Characterization of Lipase Producing Soil Bacteria from Upper Dir and Mardan Khyber Pakhtunkhwa. *International Journal of Biosciences* 6(2015): 49–55.
- [25] Saxena, R., Sheoran, A., Giri, B., and Davidson, W. 2003. Purification Strategies for Microbial Lipases. *Journal of Biotechnology Method* 52(2003) 1–18.
- [26] Kasipah, C., Rismayani, S., Ihsanawati, and Nurachman, Z. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Ekstraseluler dari Lumpur Aktif Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil* 28(1): 1–46.
- [27] Pratiwi, D., Sebayang, F., and Jamilah I. 2013. Produksi dan Karakterisasi Enzim Lipase dari *Pseudomonas aeruginosa* dengan Menggunakan Induser Minyak Jagung serta Kofaktor Na^+ dan Co^{2+} . *Jurnal Saintia Kimia* 1(2): 1-5.
- [28] Yu, G., He, P., Shao, L., and Lee, D. 2007. Enzyme Activities In Activated Sludge Floccs. *Applied Microbiology And Biotechnology* 77(1): 605–612.
- [29] Telussa, I. 2013. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase dari Coco Butter Substitute dan Karakterisasi Lipasnya. *Prosiding FMIPA Universitas Pattimura* 1(2013): 134-143.
- [30] Sya'bani, N. Astuti, W., Ryn Pratiwi D. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Lipase dari Kecambah Biji Alpukat (*Persea americana* Mill). *Jurnal Atomic* 2(2): 209–212.
- [31] Lotti, M. and Alberghina, L. 2007. Lipases : Molekular Structure and Function. Neteherland: Springer.
- [32] Enujiugh, V. N., Thani, F. A., Sanni, T. M., and Abigor, R. D. 2004. Lipase Activity in Dormant Seeds of The African Oil Bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 88(2004): 405–410.
- [33] Su'i, M., Harijono, Yunianta, and Aulani'am. 2010. Aktivitas Hidrolisis Enzim Lipase dari Kentos Kelapa terhadap Minyak Kelapa. *AGRITECH* 30(3): 164-167.
- [34] Arifan, F., Yulianto, M., Wikanta, D., and Damayanti, N. 2011. Pengembangan Bioreaktor Enzimatik Untuk Produksi Asam Lemak dari Hasil Samping Penggilingan Padi Secara In Situ. Semarang: Jurusan Teknik Kimia PSD III UNDIP.
- [35] Arbianti, R. U., Hermansyah, H., and Handayani, W. 2008. Pemanfaatan Biji Wijen Sebagai Sumber Enzim Lipase untuk Reaksi Esterifikasi Gliserol-Asam Laurat pada Pembuatan Agen Pengemulsi. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia Proses* 1(2008): 1411–4216.
- [36] Hasan, F., Shah, A., and Hameed, A. 2009. Methods for Detection and Characterization of Lipases: A Comprehensive Review. *Biotechnology Advances* 27(2009): 782–798.
- [37] Fjerbaek, L., Christensen, K., and Norddahl, B. 2009. A Review of The Current State of Biodiesel Production Using Enzymatic Transesterification. *Biotechnolog and Bioengineering* 102(2009): 1298–1315.
- [38] Ananthi, S., Ramasubburayan, R., Palavesam, A., and Immanuel, G. 2014. Optimization and Purification of Lipase through Solid State Fermentation by *Bacillus cereus* MSU as Isolated from the Gut of A Marine Fish *Sardinella longiceps*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 1(2014): 291–298.
- [39] Verma, N., Thakur, S., and Bhatt, A. 2012. Microbial Lipases: Industrial Applications and Properties (A Review). *International Research Journal of Biological Sciences* 1(2012): 88–92.
- [40] Hasan, F., Shah, A., Javed, S., and Hameed, A. 2010. Enzymes Used in Detergents: Lipases. *African Journal of Biotechnology* 9(2010): 4836–4844.
- [41] Sharma, S. and Kanwar, S. S. 2014. Organic Solvent Tolerant Lipases and Applications. *Scientific World Journal* 1(2014). 1–16.
- [42] Nurhasanah. 2015. *Kloning, Karakterisasi dan Ekpresi Gen Pengkode Lipase Termotabil dari Kompos melalui Pendekatan Metagenom*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- [43] Jagtap, S., Gore, S., Yavankar, S., Pardesi, K., and Chopade, B. 2010. Optimization of Medium for Lipase Production by *Acinetobacter haemolyticus* from Healthy Human Skin. *Indian Journal Experimental Biology* 48(2010): 936–941.
- [44] Malanowski, A., Rostocki, A. J., Kiełczyński, P., Szalewski, M., Balcerzak, A., Kościeszka, R., Tarakowski, R., Ptasznik, S., Siegoczyński, R. M. 2013. Viscosity and Compressibility of Diacylglycerol Under High Pressure. *High Pressure Research* 33(1): 178–183.
- [45] Kondo, H., Hase, T., Murase, T., and Tokimitsu, I. 2003. Digestion and Assimilation Features of Dietary DAG in the Rat Small Intestine. *Lipids* 38(2003): 25–30.
- [46] Miklos, R., Xu, X. B., and Lametsch, R. 2011. Application of Pork Fat Diacylglycerols in Meat Emulsions. *Meat Science* 87(2011): 202–205.
- [47] Purba, R. D., Margareth, M., and Yusuf, M. R. 2014. Pengaruh Rasio Pelarut Tert-Butanol terhadap Minyak dan Suhu Reaksi Gliserolisis pada Pembuatan Mono dan Diasilgliserol (MDAG) Menggunakan Katalis Abu Cangkang Telur Ayam. *Jurnal Teknologi Kimia USU* 3(4): 1-7.
- [48] Gonçalves, K., Sutili, F., Leite, S., de Souza, R., and Leal, I. 2012. Palm Oil Hydrolysis Catalyzed by Lipases Under Ultrasound Irradiation-The Use of Experimental Design As A Tool for Variables Evaluation, Ultrason. *Sonochemistry* 19(2012): 232–236.
- [49] Luna, P. and Nuri, A. 2013. Potensi Produk Monoasilgliserol sebagai Emulsifier Nabati. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian* 9(2) 108–116.
- [50] H. Yanai, H. Yoshida, Y. Hirowatari, and Tada, N. 2012. Therapeutic Application of Diacylglycerol Oil for Obesity: Serotonin Hypothesis. *Functional Foods in Health Disease* 2(1): 1-10.
- [51] Hibi, M., Takase, H., Yasunaga, K., Yamaguchi, T., Harada, U., Katsuragi, Y., Tokimitsu, I. 2008. Fat Utilization in Healthy Subjects Consuming Diacylglycerol Oil Diet: Dietary and Whole Body Fat Oxidation. *Lipids* 43(6): 517–524.
- [52] Sugiura, M., Shimizu, M., Yamada, Y., Mine, K., Maruyama, E., and Yamada, N. 2002. US Paten No. 6337414.
- [53] Jacobs, L., Lee, I., & Poppe, G. 2003. PCT International Patent No. WO03029392.
- [54] Long, K., Tan, C. P., and Lim, J. W. 2006. PCT International Patent No. PCT/MY2006/000034.
- [55] Sugiura, M., Yamaguchi, H., & Yamada, N. 2002. US Paten No. 6361980.
- [56] Nitbani, F., Juminaa, Siswanta, D., and Solikha, E. 2015. Reaction Path Synthesis of Monoacylglycerol from Fat and Oils. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review Reseach* 35(2015): 126–136.
- [57] Gonstone, F. and Harwood, J., Dijkstra, A.J. 2013. The Lipid Handbook. The 3rd Boca Raton, Florida 323-327.
- [58] Pontoh, J. and Buyung, N. T. 2011. Analisa Asam Lemak dalam Minyak Kelapa Murni (VCO) dengan Dua Peralatan Kromatografi Gas. *Jurnal Ilmiah Sains* 15(1) 274.
- [59] Karouw, S., Indrawanto, C., and Kapu'allo, M. L. 2016. Karakteristik Virgin Coconut Oil dengan Metode Sentrifugasi pada Dua Tipe Kelapa. *Buletin Palma* 15(2): 128–133.
- [60] Ma, Z. F. and Lee, Y. Y. 2016. Virgin Coconut Oil and Its Cardiovascular Health Benefits. *Natural Product Communications* 11(8): 1151–1152.
- [61] Maulinda, L., Nasrul, Z.A., and Nurbaity. 2017. Hidrolisis Asam Lemak dari Buah Sawit Sisa Sortiran. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal* 6(2): 1–15.
- [62] Arniah. 2015. Pengaruh Kecepatan Putar Pengadukan dan Waktu Pendiaman terhadap Rendemen dan Kualitas Minyak Kelapa Murni (VCO). Kendari: FMIPA UHO.
- [63] Standar Nasional Indonesia (SNI). 2008. SNI 7381: 2008 Minyak Kelapa Murni (VCO).
- [64] Wallace, T. C. 2019. Health Effects of Coconut Oil—A Narrative Review of Current Evidence. *Journal of American College of Nutrition* 38(2): 97–107.
- [65] Novilla, A., Nursidika, P., and Mahargyani, W. 2010. Potensi Asam Lemak pada Minyak Kelapa Murni dalam Menghambat Virgin Coconut Oil Fatty Acid Potential for Inhibiting the Growth of In Vitro. *Majalah Kedokteran Bandung* 48(4): 200–204.
- [66] Novilla, A., Nursidika, P., and Mahargyani, W. 2017. Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil) yang Berpotensi sebagai Anti Kandidiasis. *EduChemia* 2(2): 161.

- [67] Brooks, G., Butel, J., Morse, S., Jawetz, Melnick, and Adelberg. 2004. Medical Microbiology. The 23rd 343.
- [68] Sharma, G., Rao, S., Bansal, A., Dang, S., Gupta, S., and Gabrani, R. 2014. Pseudomonas aeruginosa Biofilm: Potential Therapeutic Targets. *Biologicals* 42(2014): 1–7.
- [69] Article, O., Biswal, I., Arora, B. S., and Kasana, D. 2014. Incidence of Multidrug Resistant Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Burn Patients and Environment of Teaching. 8(5): 5–8.
- [70] Jawetz, Melnick, and Adelberg. 2005. Mikrobiologi Kedokteran, Jilid 1. Jakarta: Salemba Medika.
- [71] Dhillon, K. and Varshney, K. 2013. Study of Microbiological Spectrum in Acne Vulgaris: An in Vitro Study. *Scholars Journal Applied of Medical Sciences* 1(6): 724–727.
- [72] Darmoyuwono, W. 2006. Gaya Hidup Sehat dengan Virgin Coconut Oil. Cetakan Pertama. Jakarta: Penerbit Indeks-Kelompok Gramedia.
- [73] Ghani, N. A., Channip, A. A., Chok Hwee Hwa, P., Ja'afar, F., Yasin, H. M., and Usman, A. 2018. Physicochemical Properties, Antioxidant Capacities, and Metal Contents of Virgin Coconut Oil Produced by Wet and Dry Processes. *Food Science and Nutrition* 6(5): 1298–1306.
- [74] Dia, V. P., Garcia, V. V., Mabesa, R. C., and Tecson-Mendoza, E. M. 2005. Comparative Physicochemical Characteristics of Virgin Coconut Oil Produced by Different Methods. *Philippine Agricultural Scientist* 88(4): 462–475.
- [75] Mujdalipah, S. 2016. Pengaruh Ragi Tradisional Indonesia dalam Proses Fermentasi Santan terhadap Karakteristik Rendemen, Kadar Air, dan Kadar Asam Lemak Bebas Virgin Coconut Oil (VCO). *Edufortech* 1(1): 10–15.
- [76] Dali., A., Harimu, L. M., and Simbiti, C. 2015. Pengaruh Kecepatan Putar Pengadukan dan Waktu Pendiaman Terhadap Rendemen Dan Kualitas Minyak Kelapa Murni (VCO). Kendari: Jurusan PMIPA FKIP Universitas Halu Oleo.
- [77] Sipahelut, G. 2011. Sifat Kimia dan Organoleptik Virgin Coconut Oil Hasil Fermentasi Menggunakan Teknik Pemecah Rantai. Ambon: Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Pattimura.