

ANALISIS ASAM AMINO PADA MINYAK KELAPA DENGAN PROSES PENGASAMAN MENGGUNAKAN HPLC

Imas Eva Wijayanti

*Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa,
Jl. Raya Ciwaru No. 25 Serang-Banten, Indonesia*

Email: imas@untirta.ac.id

Abstract: Study of the success of producing coconut oil processed by acidification method based on analysis of amino acids in fatty cream using HPLC has been carried out. Purpose of this study was to determine the quality of coconut oil that is made by acidification methods to fit the SNI and APCC standard. Successful method of acidification can be seen from the types of amino acids were analyzed using HPLC instrument. Whereas, the protein content of fatty cream were analyzed by Kjeldahl method and type of amino acid that is formed using HPLC. Research results showed that the samples made of coconut oil has a FFA content of 0,36%, protein content of 21,81%, color and smell are normally. This results in accordance with the SNI standard, but still below the standard of APCC. HPLC analysis showed that the profile of amino acids formed from the sample failed and successful is different from the non-lysine and leucine in the sample that caused the high failure rate of rancidity.

Keywords: Coconut oil; amino acids; Free Fatty Acid; High Performance Liquid

Abstrak: Telah dilakukan pembuatan minyak kelapa yang diproses dengan metode pengasaman melalui analisis asam amino dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas minyak kelapa yang dibuat dengan metode pengasaman agar sesuai dengan standar SNI dan APCC. Keberhasilan metode pengasaman dapat dilihat dari jenis asam amino yang dianalisis menggunakan HPLC dari sampel minyak yang diperoleh. Sedangkan residu dianalisis kadar proteinnya dengan metode Kjeldahl dan jenis asam amino yang terbentuk dengan menggunakan HPLC. Penelitian menunjukkan bahwa sampel minyak kelapa yang dibuat memiliki kadar FFA sebesar 0,36%, kadar protein sebesar 21,81%, warna dan bau yang normal. Hasil ini sesuai dengan standar SNI, namun masih di bawah standar APCC. Analisis HPLC menunjukkan bahwa profil asam-asam amino yang terbentuk dari sampel gagal dan berhasil adalah berbeda yaitu ketidakberadaan lisin dan leusin pada sampel gagal yang menyebabkan tingginya tingkat ketengikan.

Kata kunci: Minyak kelapa; metode pengasaman; asam amino; HPLC

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kebun kelapa (*Cocos nucifera*) terluas di dunia yaitu 3.712 hektar, yang hampir seluruhnya adalah perkebunan rakyat dan merupakan sumber penghasilan sekitar dua setengah juta keluarga petani. Kelapa dapat diolah menjadi suatu produk yang bernilai lebih. Salah satunya adalah *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan juga minyak kelapa biasa yang memiliki fungsi sebagai obat dan dapat dijadikan sebagai pengganti minyak kelapa sawit. Namun, nilai ekspor minyak kelapa Indonesia (32,2%) masih di bawah Filipina (45,6% dari total ekspor dunia). Konsumsi minyak kelapa terbesar adalah negara-negara Eropa Barat sebesar 570.000 ton atau 20,3%, kemudian AS sebesar 467.000 ton (16,6%) dan India sebesar 451.000 ton (16,1%) (Dirjen Perkebunan, 2015). Padahal, jika kita melihat berbagai keunggulan minyak kelapa dibandingkan dengan minyak kelapa sawit atau minyak sayur seperti kedelai dan jagung, masyarakat patut kembali mempertimbangkan penggunaan minyak kelapa dalam menu hariannya. Minyak kelapa memiliki asam lemak jenuh kuat menahan serangan oksidasi saat penggorengan sehingga tidak menjadi penyumbang radikal bebas, suatu senyawa sangat berbahaya bagi kesehatan

(Marina *et al*, 2009). Minyak kelapa juga tidak berperan sebagai *Trans Fatty Acids* (TFA) sehingga aman dikonsumsi karena tidak meningkatkan *Low Density Cholesterol* (LDL) (Fadhlan, 2008).

Pada penelitian ini, pembuatan minyak kelapa dilakukan melalui metode pengasaman. Penggunaan asam dalam proses pengolahan minyak kelapa murni dapat menghasilkan asam lemak bebas yang tinggi (Susilowati, 2009). Rasio kelapa parut dengan air pada pembuatan minyak kelapa murni akan cenderung mempengaruhi kadar asam lemak bebas. Hal ini akan menurunkan fungsi dan kualitas minyak kelapa dan memperbesar kemungkinan kegagalan pembuatan minyak kelapa (Widiandani, 2010). Dengan diketahui penyebab kegagalan dan keberhasilan dalam pembuatan minyak kelapa, diharapkan produksi minyak kelapa semakin meningkat sehingga bisa melakukan ekspor dengan kualitas dan kuantitas lebih baik. Selama ini, ekspor Indonesia masih dalam bentuk minyak kelapa biasa, sedangkan Filipina sudah mulai menjangkau dunia dengan *Virgin Coconut Oil*-nya dengan harga yang tiga atau empat kali minyak kelapa biasa. Maka, sudah saatnya kekayaan kelapa dimanfaatkan untuk menghasilkan *Virgin Coconut Oil* yang bukan hanya meningkatkan kesehatan masyarakat,

tetapi juga meningkatkan kemakmurannya.

METODE

Penelitian ini diawali dengan membuat santan yang kemudian dibuat menjadi minyak kelapa murni menggunakan bahan baku kelapa yang masih dengan kulit ari. Minyak kelapa murni yang diperoleh kemudian dianalisis diasamkan dengan asam cuka dan didiamkan selama 12 jam. Kemudian dihitung kandungan asam lemak bebasnya dengan metode titrasi, kandungan protein dengan metode Kjeldahl, dan analisis asam-asam amino menggunakan HPLC dari sampel gagal dan berhasil untuk mengetahui bahwa kandungan asam amino berbeda (Ariffin

et al, 2014). Kualitas kemurnian minyak kelapa dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil analisis minyak kelapa yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan standar dari SNI dan APCC yang telah ditetapkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas minyak kelapa yang dibuat dengan pengasaman. Hal ini dimaksudkan untuk membakukan kualitas dan kuantitas dari minyak kelapa yang dibuat dengan proses pengasaman serta menganalisis asam-asam amino dari sampel menggunakan HPLC. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh sepuluh sampel yang digunakan, yang ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Kualitas Minyak Kelapa Menggunakan Metode Pengasaman

Parameter yang diamati	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume aquades yang digunakan (L)	10	9	10	10	9	10	9	10	10	9
FFA santan (%)	1,03	0,94	0,85	0,65	0,83	0,85	0,85	0,89	0,97	0,81
pH krim sebelum pengasaman	5,8	5,9	5,8	5,8	5,7	5,7	5,2	5,3	5,7	5,7
pH krim setelah pengasaman	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
pH air setelah pengasaman semalam	4	4	4,2	4,2	4	4,2	4	4	4	4
Volume air setelah pengasaman (L)	1,17	1,21	1,18	0,9	1,2	0,9	0,83	1,25	1,04	0,9
FFA minyak (%)	0,46	0,55	0,20	0,32	0,36	0,36	0,44	0,36	0,32	0,36
Volume minyak (L)	1,17	1,21	1,18	0,9	1,2	0,905	0,83	1,25	1,04	0,9
Rendemen (%)	30	30,5	32,3	18,75	25	26,93	14	30	25,75	21,71
Warna minyak	jernih	jernih	jernih	jernih	jernih	keruh	Jernih	jernih	jernih	jernih
Aroma minyak	khas	khas	khas	khas	Khas	Khas	Khas	khas	khas	khas
Kadar Protein (%)	21,81	12,68	17	17,34	19,49	19,41	10,31	17,3	9,09	17,59

Pengukuran kadar protein dan jenis asam-asam amino adalah untuk mengetahui protein apa yang pecah ketika emulsi santan karena di dalam santan masih terdapat protein, air dan lemak. Semakin banyak air atau suatu asam amino tertentu, akan mempengaruhi kualitas minyak, sehingga dapat dipahami bahwa beberapa uji yang akan dilakukan dalam penelitian inilah yang akan mempengaruhi kualitas minyak.

Pada metode pengasaman, penambahan asam asetat yang ditambahkan sampai pH 4,5 mempengaruhi proses terbentuknya minyak. Pada kondisi asam, krim kelapa akan lebih banyak mengeluarkan minyak, pemecahan emulsi ada pada kondisi ini. Metode untuk merusak emulsi protein dapat dilakukan dengan menaikkan atau menurunkan pH bahan mendekati pH isoelektrik dan pemanasan sehingga terdenaturasi. Penurunan pH dengan penambahan asam cuka atau asam asetat tidak dapat menggumpalkan residu meskipun pH mendekati isoelektrik. Hal ini dikarenakan residu minyak kelapa pada residu yang menghalangi kontak antara asam dan protein. Protein dapat terdenaturasi dan terkoagulasi jika mengalami pengaruh fisik seperti pemanasan suhu tinggi, penurunan atau kenaikan pH. Harga pH diukur karena

pada penelitian ini dilakukan penurunan pH minyak kelapa yaitu 4,5. Untuk protein kelapa, pH isoelektriknya adalah 4,5 (Lehninger, 1982).

Kadar air terdapat dalam berbagai bentuk diantaranya adalah air yang terikat secara lemah, air teradsorpsi (terserap) pada permukaan makromolekuler seperti protein, pektin, pati, selulosa dan lain-lain. Asam lemak bebas merupakan salah satu indikator untuk kerusakan minyak. Oleh karena itu, asam lemak bebas harus diukur. Asam lemak bebas timbul karena reaksi hidrolisis yang dipercepat oleh air dalam bahan. Penggunaan asam dalam proses pengolahan minyak kelapa murni dapat menghasilkan asam lemak bebas yang tinggi. Rasio kelapa parut dengan air pada pembuatan minyak kelapa murni akan cenderung mempengaruhi kadar asam lemak bebas. Hal ini akan menurunkan fungsi dan kualitas minyak kelapa.

Protein kelapa dapat bernilai tinggi jika diperoleh dalam keadaan tidak terdenaturasi dan mudah larut dalam air sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan substitusi, bahan makanan sumber protein bernilai gizi tinggi. Kandungan lisin dan leusin merupakan asam amino yang paling reaktif peranannya pada reaksi Maillard yang berlangsung selama

proses destruksi. Reaksi Maillard adalah reaksi pada asam amino reduksi yang menyebabkan terbentuknya polimer nitrogen berwarna coklat (Tangsuphoom & Coupland, 2008). Berkurangnya kandungan lisin dan leusin tergantung pada kondisi destruksi seperti suhu, kadar air, bahan dan waktu proses.

Jenis asam-asam amino penyusun protein yang berkaitan erat dengan kualitas minyak diketahui melalui analisis HPLC. Analisis ini merupakan perkembangan tingkat tinggi dari kromatografi kolom. Prinsip kerja dari HPLC adalah dengan melihat waktu retensi yang diukur berdasarkan waktu dimana sampel diinjeksikan sampai sampel menunjukkan ketinggian puncak yang maksimum dari senyawa itu.

Senyawa-senyawa yang berbeda memiliki waktu retensi yang berbeda. Untuk beberapa senyawa, waktu retensi akan sangat bervariasi dan bergantung pada tekanan yang digunakan, kondisi dari fase diam, komposisi pelarut dan temperatur pada kolom. Senyawa-senyawa polar dalam campuran melalui kolom akan melekat lebih lama pada silika yang polar dibanding dengan senyawa-senyawa non polar. Oleh karena itu, senyawa yang non polar akan lebih cepat melewati kolom.

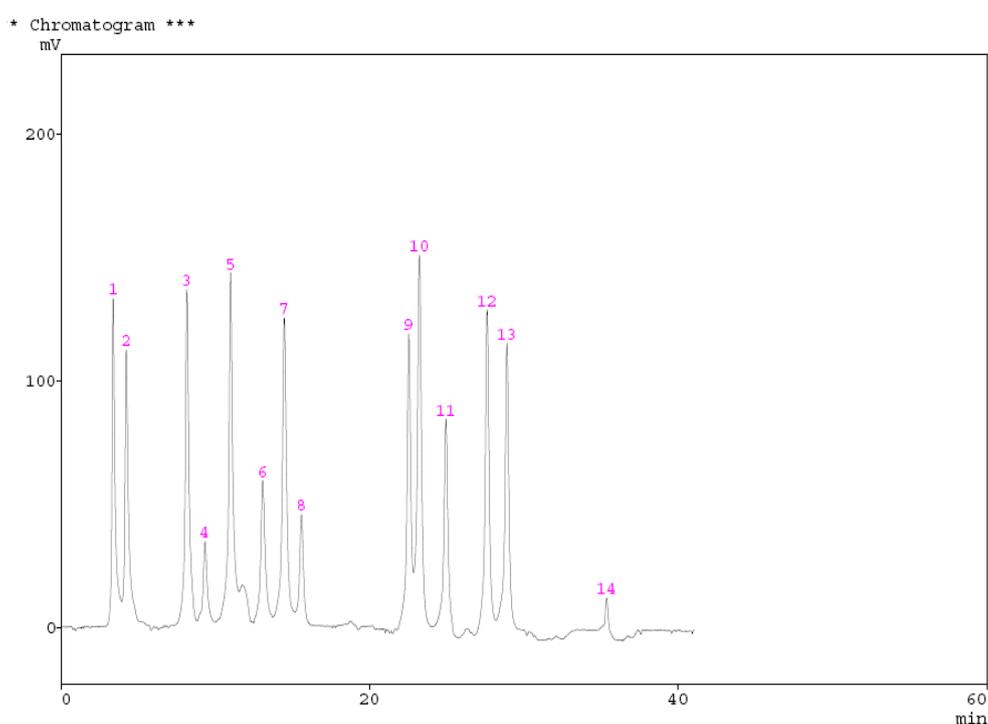
Dari hasil penelitian, digunakan empat sampel pengujian dengan menggunakan HPLC untuk mengetahui profil asam amino yang terbentuk. Hasil analisis HPLC, ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Asam-Asam Amino Dari Sampel Yang Telah Diuji Dengan HPLC

Asam amino percobaan pertama (%)		Asam amino percobaan ketiga (%)		Asam amino percobaan keenam (%)		Asam amino percobaan kesepuluh (%)	
Asam Aspartat	10,11	Asam Aspartat	9,09	Asam Aspartat	11,16	Asam Aspartat	8,89
Glutamin	19,71	Glutamin	18,33	Glutamin	19,37	Glutamin	18,36
Serin	8,52	Serin	7,39	Serin	8,39	Serin	7,78
Histidin	1,67	Histidin	0,82	Histidin	1,37	Histidin	0,58
Glisin	5,67	Glisin	1,93	Glisin	11,17	Glisin	1,59
Arginin	6,16	Arginin	5,91	Arginin	12,12	Arginin	5,23
Alanin	13,32	Alanin	6,79	Alanin	7,93	Alanin	7,23
Tirosin	8,06	Tirosin	12,4	Tirosin	3,24	Tirosin	11,96
Metionin	3,28	Metionin	7,41	Metionin	7,95	Metionin	8,2
Valin	6,91	Valin	2,92	Valin	4,11	Valin	3,19
Fenilalanin	4,25	Fenilalanin	9,11	Fenilalanin	4,4	Fenilalanin	8,65
Isoleusin	3,47	Isoleusin	3,69	Isoleusin	8,78	Isoleusin	4,21
Leusin	8,36	Leusin	4,84	Leusin	-	Leusin	4,64
Lisin	0,5	Lisin	8,61	Lisin	-	Lisin	8,93

Kromatogram HPLC memiliki absis (sumbu x) berupa waktu retensi (menit) dan ordinat (sumbu y) berupa respon detektor berupa potensial (mV). Adapun hasil analisis HPLC dari empat sampel adalah sebagai berikut. Gambar 1 menunjukkan kromatogram standar yang merupakan interpretasi dari asam-asam amino standar, puncak 1 sampai 14

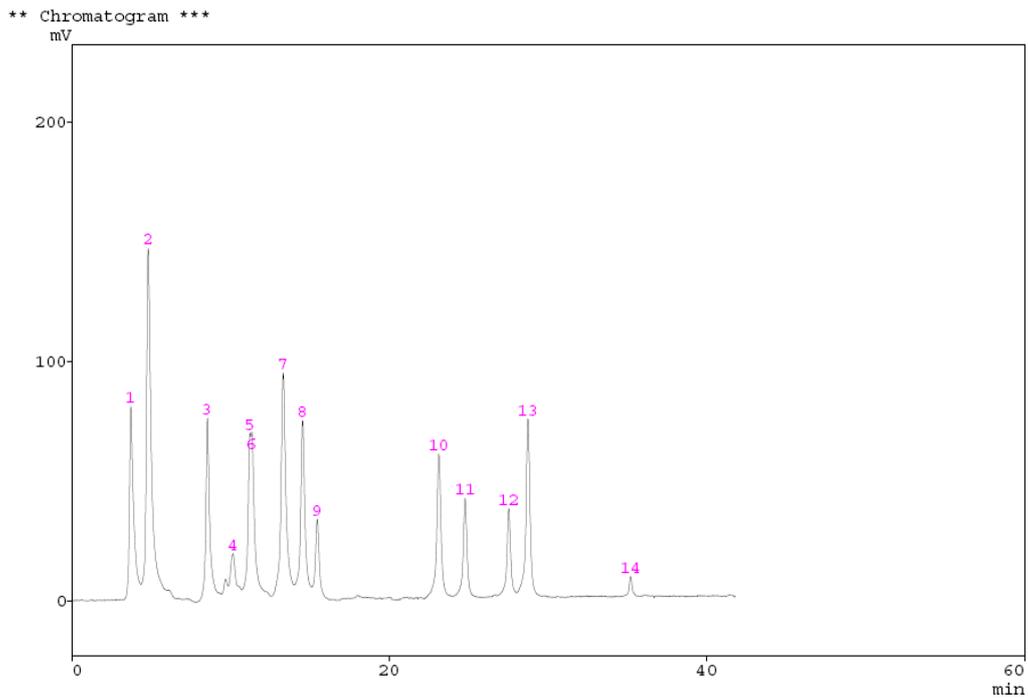
berturut-turut adalah: asam aspartat, glutamin, serin, histidin, glisin, arginin, alanin, tirosin, metionin, valin, fenilalanin, isoleusin, leusin dan lisin. Dengan membandingkan kromatogram sampel dengan standar, maka kromatogram sampel akan dapat diidentifikasi tipe-tipe asam amino yang terbentuk



Gambar 1. Kromatogram Standar

Pada analisis sampel percobaan pertama (yang berhasil dibuat dengan kadar protein paling banyak sebesar 21,81%) terbentuk asam-asam amino sesuai dengan standar, yaitu: asam aspartat, glutamin, serin, histidin, glisin, arginin, alanin, tirosin, metionin, valin, fenilalanin, isoleusin, leusin dan lisin.

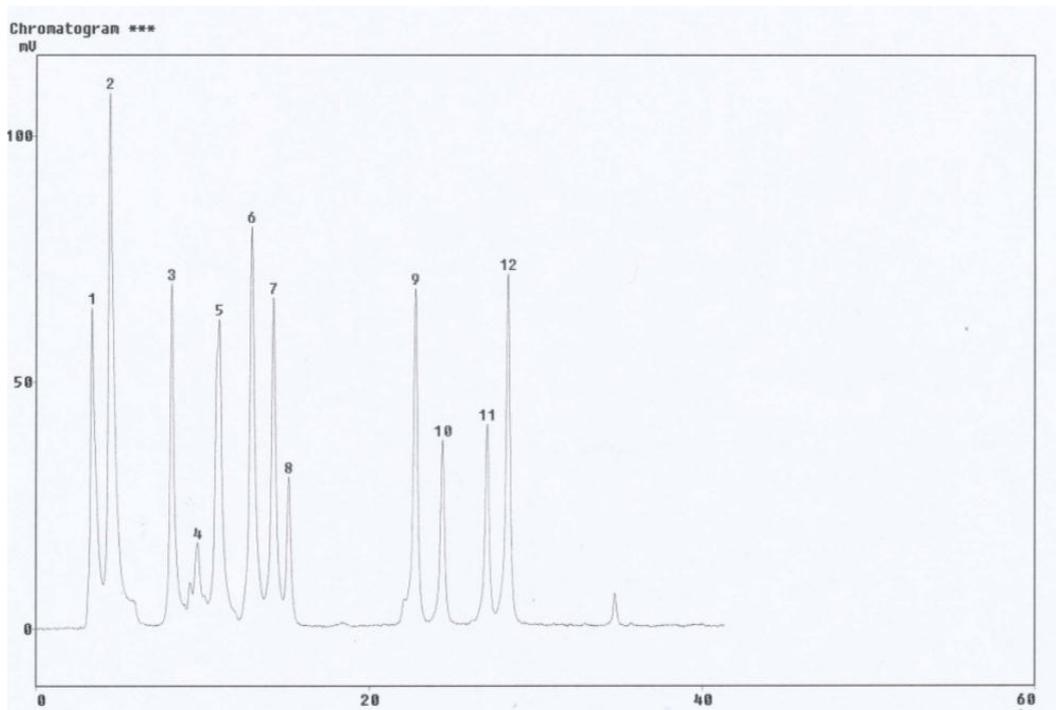
Kromatogram sampel percobaan pertama disajikan pada Gambar 2. Kromatogram menunjukkan bahwa semua asam amino pada sampel ini dapat dideteksi. Ini berarti pada percobaan ini, metode dapat diaplikasikan untuk meningkatkan nilai sampel.



Gambar 2. Kromatogram Sampel Percobaan Dengan Kadar Protein Terbanyak

Selanjutnya, pada sampel percobaan keenam yang gagal dibuat, terbentuk

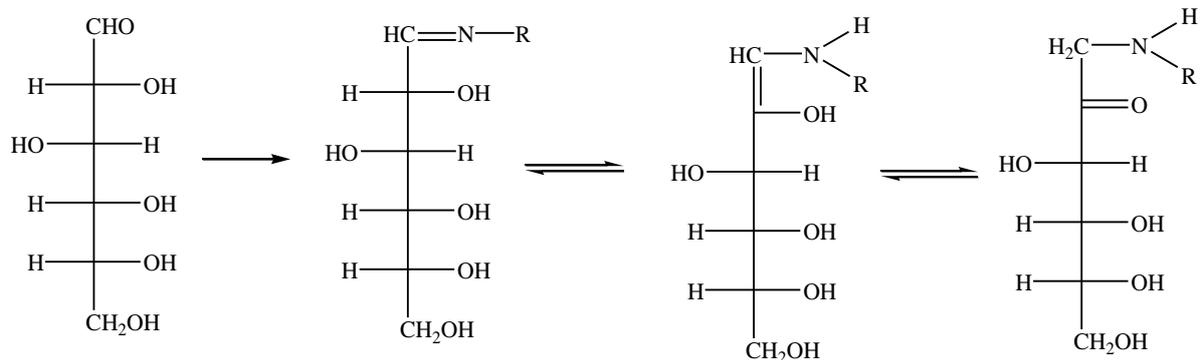
asam-asam amino seperti pada Gambar 3 (tidak terbentuk lisin dan leusin).



Gambar 3. Kromatogram Sampel yang Gagal dan Tengik

Dari tabel dan hasil kromatogram di atas, diketahui bahwa pada sampel percobaan keenam, lisin dan leusin tidak terbentuk. Hal ini memperlihatkan bahwa pada sampel ini, ada asam amino yang tidak akan terbentuk yang mengakibatkan berkurangnya kualitas minyak. Dalam hal ini, ketengikan pada sampel gagal memang berlangsung lebih cepat, warna lebih keruh dan bau tengik lebih terasa. Adanya reaksi Maillard, berperan cukup penting pada fenomena ini dimana akibat reaksi yang terjadi pada asam amino yang menyebabkan terbentuknya polimer

nitrogen berwarna coklat. Kandungan lisin dan leusin merupakan asam amino yang paling reaktif peranannya pada reaksi Maillard yang berlangsung selama proses destruksi. Reaksi Maillard adalah reaksi pada asam amino reduksi yang menyebabkan terbentuknya polimer nitrogen berwarna coklat. Berkurangnya kandungan lisin dan leusin tergantung pada kondisi dekstruksi seperti suhu, kadar air, bahan dan waktu proses. Reaksi Maillard diberikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Maillard

Asam lemak bebas merupakan salah satu indikator bagi kerusakan minyak. Asam lemak bebas dapat ditimbulkan oleh reaksi hidrolisis atau oksidasi. terbentuknya asam lemak bebas oleh reaksi hidrolisis dipercepat oleh air dalam bahan, namun pada minyak kelapa

dimungkinkan berbeda karena proses pengolahannya tanpa pemanasan. Perbandingan antara asam lemak bebas (Free Fatty Acid, FFA) santan dengan asam lemak bebas pada kelapa disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan Nilai FFA Santan dengan FFA Minyak

Percobaan ke-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
FFA santan (%)	1,03	0,94	0,85	0,65	0,83	0,85	0,85	0,89	0,97	0,81
FFA minyak (%)	0,46	0,55	0,20	0,32	0,36	0,36	0,44	0,36	0,32	0,36

Dari data di atas, diketahui bahwa FFA santan selalu lebih besar daripada FFA minyak kelapa. Hal ini terjadi karena pada dasarnya setiap kelapa memiliki nilai asam lemak bebas. Namun, setiap kali kelapa tersebut dibuat minyak, maka nilainya relatif turun karena reaksi oksidasi yang terjadi. Terjadinya reaksi oksidasi adalah karena pemanasan, namun pada penelitian ini reaksi oksidasi hanya sedikit terbentuk karena proses yang dialami adalah pembuatan minyak tanpa pemanasan.

Untuk mengetahui minyak kelapa yang dibuat sudah memenuhi standar atau belum, maka harus dibandingkan dengan syarat mutu yang sudah dibakukan. Syarat kualitas minyak terdapat dalam SNI 01-2902-1994 (syarat kualitas minyak kelapa) dan APCC. Berdasarkan dua standar ini, diketahui bahwa kualitas minyak yang dihasilkan masih di atas standar yang ditetapkan SNI. Namun, jika mengacu pada standar APCC, diketahui ada 1 data asam lemak bebas yang ternyata lebih besar dari

batas maksimal APCC (0,5%) yaitu 0,55%. Ini menjadikan bukti bahwa minyak kelapa yang diproses dengan metode pengasaman memiliki nilai FFA yang relatif tinggi jika dibandingkan dengan standar APCC. Walaupun demikian, minyak kelapa yang diproses dengan metode pengasaman dapat dikatakan cukup untuk menghasilkan minyak kelapa yang berkualitas baik. Oleh karena itu, dalam pembuatan minyak kelapa murni yang paling tepat adalah melalui proses spontan yaitu tanpa penambahan apapun dan tidak melalui proses pemanasan yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi sehingga mengakibatkan tingginya kadar asam lemak bebas.

Warna keruh (seperti pada sampel minyak yang gagal) dikarenakan adanya pigmen pada kulit ari yang dimungkinkan larut dalam air dan tidak larut dalam minyak, sehingga minyak kelapa yang dihasilkan terkontaminasi oleh pigmen tersebut. Kualitas minyak kelapa murni dapat ditingkatkan melalui proses

penjernihan dengan cara melakukan penyaringan. Minyak kelapa yang diperoleh disaring sehingga partikel zat padat yang tersuspensi antara lain protein residu dapat dipisahkan secara sempurna. Penyaringan dapat dilakukan menggunakan kertas saring atau penggunaan zeolit. Warna minyak ditentukan oleh adanya pigmen yang masih tersisa setelah proses pemucatan karena asam-asam lemak dan gliserida tidak berwarna. Warna jingga atau kuning disebabkan adanya pigmen karoten yang larut dalam minyak. Bau dan rasa dalam minyak terdapat secara alami, juga terjadi oleh adanya asam-asam lemak berantai pendek akibat kerusakan minyak.

Pada sampel minyak yang gagal (percobaan keenam), timbul aroma yang tidak enak (tengik). Hal ini dimungkinkan karena adanya reaksi oksidasi. Proses oksidasi dapat berlangsung jika terjadi kontak langsung antara minyak dengan oksigen. Pada proses ini molekul-molekul oksigen akan terikat pada ikatan rangkap dari asam-asam lemak bebas tidak jenuh. Ikatan rangkap dari asam-asam lemak tidak jenuh yang telah mengalami proses oksidasi akan pecah membentuk ikatan asam lemak berantai pendek seperti aldehid dan keton.

Selain faktor kualitas dan lama waktu penyimpanan kelapa, pengadukan cukup berpengaruh pada volume minyak kelapa yang dihasilkan karena pengadukan berfungsi untuk membuat campuran krim santan dan minyak menjadi homogen. Selain itu, pengadukan juga berfungsi untuk membantu merusak emulsi krim santan. Pada saat emulsi minyak dan air diaduk, maka akan terbentuk bermacam-macam ukuran butiran tetesan minyak. Jika semakin kecil tegangan antarmuka maka emulsi pada krim semakin stabil. Kestabilan ini menyebabkan ikatan antara protein, minyak dan air tidak dapat putus. Faktor-faktor inilah yang membuat perbedaan banyaknya volume minyak yang dihasilkan. Meskipun demikian, perbandingan volume sebenarnya tidak bisa dijadikan parameter pengujian kualitas. Hal ini karena kelapa yang dinilai baik maupun kurang, akan memberikan hasil perbandingan yang hampir sama dalam menghasilkan volume minyak kelapa.

Kadar Protein dalam sampel ditentukan melalui analisis Kjeldahl. Analisis Kjeldahl digunakan untuk menentukan kadar protein dalam suatu protein murni atau dalam sampel yang mengandung protein contohnya pupuk urea atau minyak kelapa. Kadar protein hasil penelitian disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar Protein dari Sampel Hasil Penelitian

Parameter yang diamati	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
FFA minyak (%)	0,46	0,55	0,20	0,32	0,36	0,36	0,44	0,36	0,32	0,36
Kadar Protein (%)	21,81	12,68	17	17,34	19,49	19,41	10,31	17,3	9,09	17,59

Dari data di atas, diketahui bahwa minyak kelapa percobaan pertama mempunyai kadar protein paling tinggi. Hal ini juga sesuai dengan kadar FFA minyak kelapa yang tertinggi meskipun pada percobaan yang kedua, memiliki nilai FFA yang paling tinggi. Hal ini membuktikan bahwa kadar protein yang tinggi tidak berarti akan memiliki nilai FFA yang tinggi pula. Artinya bahwa kadar protein tidak mempengaruhi kualitas minyak secara kimiawi, namun secara fisik akan menimbulkan pengaruh terhadap aroma dan warna kejernihan. Hal inilah yang membuat aroma minyak menjadi tengik dan warna menjadi lebih keruh. Kadar protein yang tinggi pada sampel karena sampel mengandung

seluruh protein yang terkandung dalam daging buah kelapa.

KESIMPULAN

Minyak kelapa yang dibuat memiliki kadar asam lemak bebas sebesar 0,36%, kadar protein sebesar 21,81%, warna dan bau yang normal. Metode pengasaman menghasilkan minyak kelapa dengan kadar FFA yang sesuai dengan SNI, namun relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan standar APCC. Minyak kelapa yang diproses dengan pengasaman dapat dikatakan cukup berhasil untuk menghasilkan minyak kelapa yang berkualitas baik, namun belum dapat dikatakan sebagai minyak kelapa murni.

DAFTAR RUJUKAN

APCC Standard. 2006, *APCC Standards Asian & Pacific Coconut Community (APCC)*, diakses 12 Agustus 2006 (http://www.apcc.org.id/apcc_standards.pdf).

Ariffin AA, Ghazali HM, Kavousi P. 2014, Validation of a HPLC method for determination of hydroxymethylfurfural in Crude Palm Oil, *Journal of Food Chemistry* 154, hh. 102–107.

- Direktorat Jenderal Perkebunan 2015, *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Kelapa 2014-2015*, Jakarta, Dirjen Perkebunan Indonesia.
- Lehninger, A. L., 1993, *Dasar-Dasar Biokimia*, Cetakan Kedua, (alih bahasa Maggy Thaenawidjaja), Erlangga, Jakarta.
- Marina AM, Che Man YB, Amin I. 2009, Virgin Coconut Oil: Emerging Functional Food Oil, *Journal of Trends in Food Science & Technology*, 20, hh. 481-487.
- Sulistiyani, I, 2008, *Pengaruh Kadar Fe (III) Terhadap Kestabilan Emulsi Santan*, Skripsi tidak diterbitkan, Yogyakarta, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Susilowati 2009, Pembuatan Virgin Coconut Oil dengan Metode Penggaraman, *Jurnal Teknik Kimia* vol. 3, no. 2.
- Tangsuphoom N, Coupland JN. 2008, Effect of pH and Ionic Strength on the Physicochemical Properties of Coconut Milk Emulsions, *Journal of food science*, vol. 73, no.6, hh.E274-E280.
- Wardhati, H. 2008, *Pengaruh Temperatur Pengabuan Sekam Padi Terhadap Adsorpsi Asam Lemak Bebas dalam Minyak Kelapa*, Yogyakarta, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada.
- Widiandani T, Purwanto, Hardjono S, Tri P B, Susilowati R, Diyah NW. 2010, *Upaya Peningkatan Kualitas Minyak Kelapa yang dibuat dari Cocos Nucifera L dengan Berbagai Metode Kimiawi dan Fisik*, Surabaya, Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.