

**PENGARUH DERAJAD KETENGIKAN, HARGA PERBANDINGAN ASAM LEMAK
"POLYUNSATURATED" DAN "SATURATED" DARI MINYAK KELAPA SAWIT
DAN MINYAK KACANG, SETELAH PENAMBAHAN BUTIL HIDROKSI TOLUEN
DAN ATAU TERSIER BUTIL HIDROKINON TERHADAP
KADAR KOLESTEROL DALAM SERUM DARAH TIKUS**

TF 18/90

Scip

P.



Oleh

SITI SURDIJATI

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS PASCASARJANA
1990**

**PENGARUH DERAJAD KETENGIKAN, HARGA PERBANDINGAN ASAM LEMAK
"POLYUNSATURATED" DAN "SATURATED" DARI MINYAK KELAPA SAWIT
DAN MINYAK KACANG, SETELAH PENAMBAHAN BUTIL HIDROKSI TOLUEN
DAN ATAU TERSIER BUTIL HIDROKINON TERHADAP KADAR
KOLESTEROL DALAM SERUM TIKUS**

**TESIS
TELAH DISETUJUI OLEH PANITIA PENGUJI
PADA TANGGAL 23 MARET 1990
MEMENUHI PERSYARATAN PENDIDIKAN
PASCASARJANA PROGRAM GELAR
PROGRAM STUDI ILMU FARMASI**

**OLEH
SITI SURDIJATI
NIM : 098610235H**

PEMBIMBING UTAMA


DR. M. ZAINUDDIN

PEMBIMBING


DR. PURWANTO

**MENGETAHUI :
KETUA PROGRAM STUDI ILMU FARMASI**


DR. NOOR CHOLIES ZAINI

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan rasa sukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayat-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.

Dengan setulus hati, saya ingin menyampaikan terima kasih saya yang setinggi-tingginya kepada :

1. Pemerintah Republik Indonesia, dalam hal ini Menteri Pendidikan dan Kebudayaan serta Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah memberikan bantuan keuangan melalui Program THPD.

2. Koordinator Perguruan Tinggi Swasta Wilayah VII di Surabaya, serta Rektor Universitas Katolik Widya Mandala, yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk dapat mengikuti Pendidikan Pasca Sarjana.

3. Bapak Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, yang telah memberikan fasilitas tempat, peralatan dan lain-lain yang sangat saya perlukan.

4. Bapak DR. M. Zainuddin, yang telah memberikan bimbingan mulai dari awal sampai selesainya penulisan tesis ini.

5. Bapak DR. Purwanto, yang telah memberikan bimbingan mulai dari awal hingga selesainya penulisan tesis ini.

6. Bapak DR. Noor Cholies Zaini, selaku Ketua Program Studi Ilmu Farmasi, yang telah memberikan pengarahan-pengarahan atau petunjuk-petunjuk yang sangat bermanfaat, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.

7. Bapak Drs. Harjana MSc., yang telah memberikan fasilitas peralatan dan tempat, serta petunjuk-petunjuk, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.

8. Sejawat Dosen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, yang telah memberikan bantuan apapun, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.

9. Seluruh karyawan dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, yang telah, memberikan bantuan yang sangat berarti, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.

10. Bagian PATOLOGI KLINIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan fasilitas tempat, yang telah memberikan fasilitas tempat, peralatan serta tenaga analis, yang sangat membantu dalam penelitian saya.

11. Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan Jawa Timur, yang telah memberikan fasilitas peralatan dan tempat serta tenaga, sehingga penelitian saya ini dapat selesai.

12. Pabrik minyak goreng "BIHOLI" atau PT. Mulyorejo, yang telah memberikan sampel, sehingga dapat memperlancar penelitian ini, serta

13. Semua pihak, yang telah memberikan bantuan, dan tidak sempat, saya sebutkan satu persatu di sini.

Senoga semua bantuan yang telah diberikan, mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah SWT., Amien.

Surabaya, Maret 1990

penyusun.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB : I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar belakang permasalahan	1
I.2. Rumusan permasalahan	4
I.3. Tujuan penelitian	5
I.4. Hipotesis penelitian	5
I.5. Kegunaan penelitian	6
BAB : II. TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1. Minyak dan lemak	7
II.1.1. Trigliserida	7
II.1.2. Asam lemak	8
II.1.2.1. Asam lemak jenuh	8
II.1.2.2. Asam lemak tidak jenuh	8
II.1.3. Komponen non gliserida dari minyak dan lemak	9
II.2. Minyak kacang dan minyak kelapa sawit	10
II.2.1. Minyak kacang	10
II.2.2. Minyak kelapa sawit	11
II.3. Mekanisme ketengikan dari minyak dan lemak	14
II.4. Antioksidan	17
II.4.1. Macam antioksidan	17
II.4.2. Mekanisme kerja antioksidan	18
II.4.3. Tinjauan tentang antioksidan BHT dan TBHQ	20
II.4.3.1. Antioksidan butil hidroksi toluen	20
II.4.3.2. Antioksidan tessier butil hidroquinon	21
II.5. Tinjauan tentang kolesterol	22
II.5.1. Sifat kimia dan fisika kolesterol	22
II.5.2. Metabolisme kolesterol	23
II.5.3. Sintesis kolesterol	23
II.5.4. Transport kolesterol	25
II.5.6. Hubungan antara kolesterol penyakit jantung koroner dan aterosklerosis	28

II.5.7. Pengaruh HDL kolesterol pada pe - nyakit jantung koroner	30
II.5.8. Analisis kadar kolesterol dalam serum darah tikus	32
II.5.8.1. Prinsip reaksi penentuan kadar kolesterol total	33
II.5.8.2. Prinsip reaksi penentuan kadar kolesterol-ADL	33
II.6. Tinjauan tentang kromatografi gas ..	33
II.6.1. Teori dasar	34
II.6.1.1. Keseimbangan destribusi	34
II.6.1.2. Waktu retensi	37
II.6.1.3. Teori "plate".....	39
II.6.1.4. Hukum Van Deenter	41
II.6.1.5. Diagram alat kromatografi gas ..	42
II.6.1.6. Analisis kualitatif dengan kro- matografi gas	43
II.6.1.7. Analisis kuantitatif	45
II.6.1.8. Analisis kromatografi gas dengan program suhu dan isotermal	46
II.6.1.9. Analisis minyak dan lemak dengan kromatografi gas	48
BAB : III. BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN	50
III.1. Bahan dan pereaksi	50
III.2. Alat	51
III.3. Metode	52
III.3.1. Penentuan sifat fisiko kimia minyak	52
III.3.1.1. Penentuan bobot jenis minyak ...	52
III.3.1.2. Penentuan jarak lebur minyak ...	52
III.3.1.3. Penentuan indeks bias minyak ...	52
III.3.1.4. Penentuan bilangan iodium dari minyak	53
III.3.1.5. Penentuan bilangan peroksida da- ri minyak	54
III.3.2. Penentuan harga "P/S" dan derajat ketengikan minyak	55
III.3.2.1. Rancangan penelitian untuk pe- nentuan harga "P/S" dan derajat ketengikan minyak	55
III.3.2.2. Metilasi asam-asam lemah yang berada dalam minyak	56
III.3.2.3. Analisis minyak lemah dengan kromatografi gas	56
A. Dengan kromatografi gas varian aéro- graph model 3700	56
B. Dengan kromatografi gas, Perkin- Elmer F-17	57

III.3.2.4. Penentuan perbandingan kadar komponen "polyunsaturated" dengan komponen "saturated" menggunakan kromatografi gas	59
III.3.2.5. Penentuan derajat ketengikan minyak	59
III.3.3. Penentuan pengaruh minyak terhadap kadar kholesterol	60
III.3.3.1. Seleksi binatang percobaan	60
III.3.3.2. Rancangan penelitian untuk penentuan kadar kholesterol, Control-Group-Post test-Design	61
III.3.3.3. Pemberian diet pada tikus	62
III.3.3.4. Pengambilan sampel darah tikus ..	62
III.3.3.5. Penentuan kholesterol total	63
III.3.3.6. Penentuan kholesterol-HDL	64
BAB : IV. HASIL PERCOBAAN	65
IV.1. Hasil penentuan sifat fisika dan sifat kimia minyak kacang dan minyak kelapa sawit	65
IV.2. Hasil penentuan perbandingan "P/S", minyak kacang dan minyak kelapa sawit ..	66
IV.3. Hasil penentuan derajat ketengikan minyak kacang dan minyak kelapa sawit ..	80
IV.4. Hasil penentuan kadar kholesterol ..	82
BAB : V. PEMBAHASAN	86
BAB : VI. KESIMPULAN	99
BAB : VII. SARAN-SARAN	101
DAFTAR PUSTAKA	102
LAMPIRAN	110

DAFTAR TABEL

	Halaman
I. Hasil penentuan bobot jenis, jarak lebur, indeks bias, bilangan iodium, bilangan peroksida, dari minyak kacang dan minyak kelapa sawit	65
II. Hasil penentuan perbandingan komponen "polyunsaturated" dengan komponen "saturated" minyak kacang segar dan yang disimpan 8 bulan, menggunakan kromatografi gas	66
III. Hasil penentuan perbandingan komponen "polyunsaturated" dengan komponen "saturated" minyak kelapa sawit segar dan yang disimpan 8 bulan, menggunakan kromatografi gas	73
IV. Hasil penentuan derajat ketengikan minyak kacang segar dengan yang disimpan 8 bulan	80
V. Hasil penentuan derajat ketengikan minyak kelapa sawit segar dengan yang disimpan 8 bulan	81
VI. Hasil penentuan kadar kolesterol total dalam serum tikus dengan pemberian minyak kacang yang disimpan 8 bulan, dengan dan tanpa antioksidan, ditambah kolesterol 1 % (dalam mg/dl serum)	82
VII. Hasil penentuan kadar kolesterol total dalam serum tikus dengan pemberian minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa antioksidan, ditambah kolesterol 1 % (dalam mg/dl serum)	83
VIII. Hasil penentuan kadar kolesterol-HDL dalam serum tikus dengan pemberian minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa antioksidan, ditambah kolesterol 1 % (dalam mg/dl serum)	84
IX. Hasil penentuan kadar kolesterol-HDL dalam serum tikus dengan pemberian minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, dengan dan tanpa antioksidan, ditambah kolesterol 1 %, (dalam mg/dl serum) ...	85

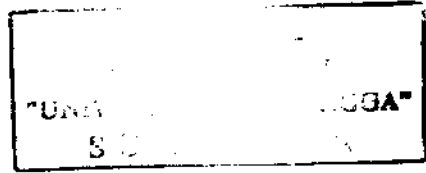
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema reaksi otooksidasi berantai dalam minyak dan lemak	15
2. Biosintesis kholesterol, dari asam mevalonat	27
3. Segmen kolom	35
4. Kromatogram keadaan ideal	38
5. Kromatogram non ideal	38
6. Menghitung jumlah (N) dari kromatogram	40
7. Diagram persamaan Van Deemter	41
8. Diagram alat kromatografi gas	43
9. Kromatogram ester metil asam lemak standar	67
10. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang segar	68
11. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang yang disimpan 6 bulan tanpa antioksidan	69
12. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang yang disimpan 6 bulan dengan ditambah BHT 0,01 %	70
13. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang yang disimpan 6 bulan dengan ditambah TBHQ 0,01 %	71
14. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang yang disimpan 6 bulan dengan ditambah campuran BHT dan TBHQ 0,015 %	72
15. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit segar	74

16.	Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan	75
17.	Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan ditambah BHT 0,01 %	76
18.	Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan penambahan TBHQ 0,01 %	77
19.	Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan penambahan campuran BHT dan TBHQ 0,015 %	78
20.	Kromatogram ester metil asam lemak standard	79

BAB I

PENDAHULUAN



I.1. Latar belakang permasalahan

Minyak dan lemak sangat berguna bagi tubuh manusia. Minyak dan lemak merupakan sumber energi yang lebih efisien bila dibandingkan dengan karbohidrat dan protein. Di samping sebagai sumber energi, minyak dan lemak merupakan pelarut vitamin A, D, E dan K, yang sangat penting bagi tubuh manusia.

Kandungan utama minyak dan lemak, adalah ester gliseril dari asam lemak, yang disebut trigliserida. Asam lemak yang membentuk trigliserida ada dua macam, yaitu asam lemak jenuh ("saturated") dan asam lemak tidak jenuh ("unsaturated"). Asam lemak jenuh tidak mengandung ikatan rangkap, sedangkan asam lemak tidak jenuh mengandung ikatan rangkap. Asam lemak tidak jenuh dapat mempunyai satu ikatan rangkap ("monounsaturated") atau lebih dari satu ikatan rangkap ("polyunsaturated") dan disebut juga asam lemak tidak jenuh jamak. Asam lemak tidak jenuh, terutama asam lemak tidak jenuh jamak seperti asam linoleat, asam linolenat dan asam arakhidonat, sangat berguna bagi kesehatan manusia, dan asam-asam tersebut merupakan asam lemak esensial, yang apabila tidak terdapat dalam diet, akan menyebabkan gangguan kesehatan. Asam lemak tidak jenuh jamak mempunyai efek dapat menurunkan kadar kolesterol

darah, sehingga dapat mencegah atau mengurangi terjadinya penyempitan pembuluh darah atau aterosklerosis.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, dalam menentukan diet lemak, sebaiknya dipilih minyak dan lemak yang mempunyai harga perbandingan asam lemak "polyunsaturated" dan asam lemak "saturated" ("P/S") tinggi. Sebaliknya, minyak dan lemak yang mempunyai harga perbandingan "P/S" yang rendah, akan menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dalam darah, dan oleh karena itu, akan memperbesar resiko terjadinya penyakit aterosklerosis.

Sangat disayangkan bahwa asam lemak tidak jenuh jamak mudah mengalami oksidasi oleh oksigen udara (otooksidasi). Adanya ikatan rangkap, akan menjadi titik pusat serangan otooksidasi. Hasil otooksidasi asam lemak tidak jenuh akan mempercepat oksidasi komponen-komponen lain dalam minyak dan lemak, sehingga timbul bau dan cita rasa yang tengik. Bau tengik tersebut disebabkan oleh karena terbentuknya hasil otooksidasi yang berupa asam-asam, aldehyd-aldehyd dan keton-keton dengan rantai pendek dan mudah menguap. Minyak yang telah berbau tengik tidak disukai konsumen, sehingga akan merugikan produsen. Minyak yang tengik berarti telah mengalami penurunan mutu dan nilai gizinya, karena terjadi kerusakan komponen-komponen esensialnya. Rusaknya komponen asam lemak tidak jenuh jamak akan berakibat turunnya harga "P/S", sehingga efek menurunkan kadar kolesterol darah akan berkurang atau bahkan hilang.

Hal ini akan merugikan konsumen. Oleh karena itu, perlu pemikiran untuk mengatasi hal-hal yang tidak diinginkan tersebut.

Apabila kita telusuri, mekanisme terjadinya ketengikan pada minyak dan lemak merupakan reaksi otooksidasi berantai, yang diawali dengan terjadinya radikal bebas asam lemak. Untuk mempertahankan harga "P/S" dan juga untuk mencegah ketengikan, perlu menambahkan suatu bahan yang dapat mencegah atau menghambat otooksidasi, yaitu antioksidan. Penambahan antioksidan tersebut diharapkan dapat mengikat radikal bebas asam lemak, sehingga akan memutuskan reaksi selanjutnya. Minyak dan lemak dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan (minyak nabati), dan hewan (minyak hewani). Minyak nabati banyak digunakan untuk minyak makan ("edible oil").

Diantara minyak nabati yang banyak digunakan adalah minyak kacang dan minyak kelapa sawit. Minyak kacang banyak diproduksi di Indonesia, oleh karena bahan baku mudah didapat, kadar minyak dalam biji cukup tinggi, penyarian minyak sangat mudah dan sederhana, di samping itu, minyak kacang mempunyai harga "P/S" yang cukup tinggi, kurang lebih 1,8070. Sedangkan minyak kelapa sawit, pemakaiannya sebagai minyak makan baru digalakkan di Indonesia dan sampai saat ini, penggunaannya sudah meluas. Di samping itu, minyak kelapa sawit kasar diproduksi di Indonesia, sayang sekali minyak kelapa sawit mempunyai harga

"P/S" yang rendah, kurang lebih 0,2051.

Di dalam minyak dan lemak nabati, sebenarnya sudah mengandung antioksidan alami, misalnya yang umum dijumpai adalah tokoferol. Tetapi, antioksidan alami ini, jumlahnya sangat sedikit, sehingga untuk minyak dan lemak yang disimpan lama dan juga yang sudah mengalami proses "refining", perlu ditambahkan antioksidan dari luar. Antioksidan buatan atau antioksidan komersial yang banyak digunakan antara lain BHT (Butil Hidroksi Toluen), TBHQ (Tersier Butil Hidrokinon).

I.2. Rumusan permasalahan

Berdasarkan uraian tersebut di atas, dapat dirumuskan permasalahan pokok dari penelitian ini adalah : seberapa jauh pengaruh penambahan antioksidan pada minyak dan lemak, yaitu terhadap harga "P/S", derajat ketengikan, serta efeknya terhadap kadar kolesterol dalam darah.

Dari permasalahan pokok di atas, selanjutnya dapat dipecah menjadi anak permasalahan sebagai berikut :

1. Seberapa jauh perbedaan harga "P/S" minyak kacang dan minyak kelapa sawit dengan dan tanpa penambahan BHT dan atau TBHQ, selama penyimpanan ?

2. Seberapa jauh perbedaan derajat ketengikan minyak kacang dan minyak kelapa sawit, dengan dan tanpa penambahan BHT dan atau TBHQ selama penyimpanan ?

3. Sejauh mana perubahan kadar kholesterol dalam serum darah tikus, yang diberi diet mengandung minyak kacang atau minyak kelapa sawit, dengan dan tanpa BHT dan atau TBHQ setelah disimpan ?

I.3. Tujuan penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah, untuk mengetahui pengaruh BHT dan atau TBHQ dalam minyak kacang dan minyak kelapa sawit yang disimpan, terhadap harga "P/S", derajat ketengikan, dan pengaruh terhadap kadar kholesterol dalam darah

Tujuan khusus penelitian ini adalah :

1. Menentukan perbedaan harga "P/S" minyak kacang dan minyak kelapa sawit dengan dan tanpa penambahan BHT dan atau TBHQ selama penyimpanan 8 bulan.

2. Menentukan perbedaan derajat ketengikan minyak kacang dan minyak kelapa sawit dengan dan tanpa penambahan BHT dan atau TBHQ selama penyimpanan 8 bulan.

3. Menentukan perubahan harga kholesterol dalam darah binatang percobaan, setelah diberi diet yang mengandung minyak kacang dan minyak kelapa sawit dengan dan tanpa BHT dan atau TBHQ dalam penyimpanan.

I.4. Hipotesis penelitian

Hipotesis penelitian ini disusun dengan kerangka teori sebagai berikut :

1. BHT 0,01%, TBHQ 0,01% dan campuran BHT dan TBHQ 0,015% , dapat mempertahankan harga "P/S" dan derajat ketengikan.

2. Harga "P/S" yang tetap, dapat merubah kadar kholesterol total dan kholesterol-HDL.

I.5. Kegunaan penelitian

1. Dapat memilih antioksidan, untuk digunakan sebagai bahan penghambat ketengikan pada minyak dan lemak makan.

2. Dapat memilih minyak yang akan dikonsumsi, yang tidak berpengaruh terhadap kadar kholesterol darah.

BAB II

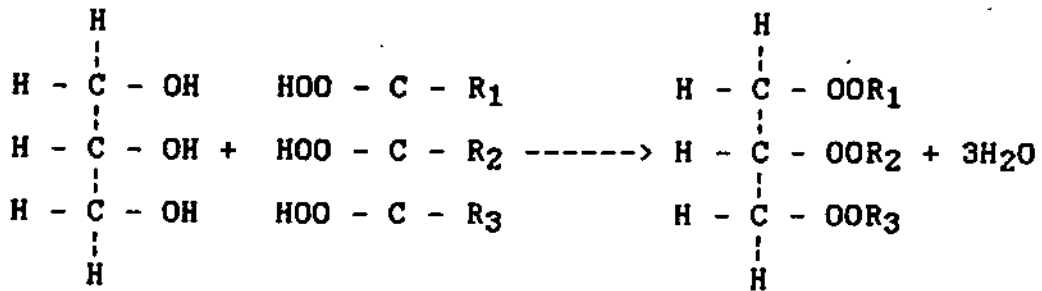
TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Minyak dan lemak

Minyak dan lemak adalah suatu bahan tidak larut dalam air, berasal dari tanaman atau hewan, terdiri dari ester gliseril asam lemak, sebagai kandungan utamanya. Lemak adalah trigliserida yang pada suhu kamar berbentuk padat atau setengah padat, sedangkan minyak adalah trigliserida yang pada suhu kamar berbentuk cair. Komponen-komponen kandungan minyak dan lemak adalah sebagai berikut :

II.1.1. Trigliserida

Trigliserida merupakan ester dari satu molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak.



Apabila ketiga asam lemak yang menyusun trigliserida sama, dinamakan trigliserida sederhana, apabila berbeda, dinamakan trigliserida campuran. Di samping trigliserida, minyak dan lemak juga mengandung sedikit mono- dan digliserida.

II.1.2. Asam lemak

Jenis asam lemak dalam trigliserida sangat mempengaruhi sifat-sifat trigliserida yang dibentuknya. Asam lemak merupakan bagian yang reaktif dari trigliserida. Asam lemak yang terdapat di alam, umumnya adalah senyawa alifatik monobasis normal, yang terdiri dari gugus karboksil tunggal, yang terikat pada ujung rantai hidrokarbon lurus. Pada umumnya, asam lemak yang terdapat di alam, mempunyai jumlah atom karbon genap. Masing-masing asam lemak dibedakan antara satu dengan yang lain berdasarkan jumlah atom karbon dalam rantai, jumlah dan letak ikatan rangkap antara atom karbon. Asam lemak yang tidak mengandung ikatan rangkap, dinamakan asam lemak jenuh ("saturated"), sedangkan asam lemak yang mengandung ikatan rangkap, disebut asam lemak tidak jenuh ("unsaturated") (Swern, D.1964).

II.1.2.1. Asam lemak jenuh

Tiga asam lemak jenuh yang tersebar sangat luas dalam organisme hidup adalah asam laurat (C_{12}), asam palmitat (C_{16}) dan asam stearat (C_{18}). Asam arakhidat (C_{20}), behenat (C_{22}) dan lignoserat (C_{24}), merupakan komponen minor dalam minyak dan lemak pada umumnya (Zapsalis, C.,1985).

II.1.2.2. Asam lemak tidak jenuh

Asam lemak tidak jenuh sangat luas terdapat dalam tanaman dan hewan. Asam lemak "monounsaturated" contohnya

adalah asam oleat ($C_{18:1}$), "diunsaturated" contohnya asam linoleat ($C_{18:2}$), "triunsaturated" contohnya asam linolenat ($C_{18:3}$) dan "tetraunsaturated" contohnya asam arakhidonat ($C_{20:4}$). Asam linoleat, asam linolenat dan asam arakhidonat, termasuk asam lemak tidak jenuh jamak ("polyunsaturated"). Asam lemak "polyunsaturated", terdapat dalam bentuk terkonjugasi atau tidak terkonjugasi. Asam lemak tidak jenuh jamak yang mempunyai $-CH_2-$ yang terletak di antara dua ikatan rangkap, mempunyai reaktifitas yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan ikatan rangkap tunggal atau ikatan rangkap yang terpisah lebih jauh. Reaktifitas asam lemak tidak jenuh, juga dipengaruhi oleh konfigurasi cis atau trans. Bentuk trans kurang reaktif bila dibandingkan dengan bentuk cis. Bentuk trans mempunyai titik leleh yang lebih tinggi daripada bentuk cis. Derajat ketidak jenuhan rata-rata dari asam lemak atau campuran asam lemak dapat dinyatakan dengan bilangan iodium. Asam lemak tidak jenuh kurang stabil bila dibandingkan dengan asam lemak jenuh, dan mudah mengalami isomeri geometri atau isomeri posisional (Zapsalis, C., 1985).

II.1.3. Komponen non gliserida dari minyak dan lemak

Komponen non gliserida yang terdapat dalam minyak kasar adalah fosfatida, karbohidrat, protein, resin, sterol, alkohol lemak, pigmen, antioksidan, (biasanya tokoferol), terpenoid, vitamin dan mineral (Swern, D., 1964).

II.2. Minyak kacang dan minyak kelapa sawit

II.2.1. Minyak kacang

Minyak kacang didapat dari kotiledon biji kacang tanah. Minyak kacang juga disebut minyak "arachis" dan juga minyak "earhnut". Minyak kacang adalah salah satu minyak makan yang penting, yang diproduksi kira-kira 5 milyar pon tiap tahun. Dalam biji kacang, kandungan minyak mencapai 45-55%. Minyak kacang adalah minyak yang berwarna kuning pucat dan mempunyai bau dan cita rasa kacang. Bila dibandingkan dengan minyak biji lain, minyak kacang relatif bebas fosfatida dan bebas kandungan bahan bukan minyak. Minyak kacang perdagangan mengandung asam lemak bebas 0,5-1%, tetapi kadang-kadang lebih tinggi. Minyak kacang terutama digunakan untuk pembuatan "shortening", margarine, mayonaise, minyak goreng dan minyak salad. Standard AOCS yang dianjurkan untuk minyak kacang adalah sebagai berikut:

Bobot jenis pada 25°C/25°C	0,910 - 0,915
Indeks bias pada 25°C	1,467 - 1,470
Bilangan iodium	84 - 100
Bilangan penyabunan	188 - 195
Bahan tak tersabunkan, % tak lebih	1,0
Kenaikan suhu maksimum sementara pada saat pengkristalan lelehan asam lemak yang dihasilkan oleh lemak °C	26 - 32

Bahan yang tidak tersabunkan terdiri dari sterol (0,2%), tokoferol (0,02-0,06) dan antioksidan lain, squalene

(0,03%) dan hidrokarbon lain. Minyak kacang menadat pada suhu almari es (Swern, D., 1964).

Adapun susunan asam lemak dari minyak kacang adalah sebagai berikut :

Asam palmitat	11,0%
Asam stearat	2,3%
Asam oleat	51,0%
Asam linoleat	30,9%
Asam arakh dat	0,7%
Asam behenat	2,3%
Asam lignoserat	0,8%

(Weiss, T.J., 1970)

Berdasarkan susunan asam lemak minyak kacang tersebut dapat diketahui harga perbandingan kadar "polyunsaturated" dibanding "saturated" ("P/S") nya adalah 1,8070.

II.2.2. Minyak kelapa sawit

Minyak kelapa sawit adalah yang dihasilkan oleh tanaman *Elaeis guineensis*. Ada dua macam minyak yang dihasilkan oleh tanaman tersebut yaitu :

1). "Palm kernel Oil" atau minyak inti kelapa sawit, yang dihasilkan dari biji buah kelapa sawit.

2). "Palm oil" adalah minyak kelapa sawit, yang dihasilkan dari kulit buah ("pulp") kelapa sawit (Swern, D., 1964). "Palm kernel oil", kandungan asam lauratnya tinggi, sedangkan "Palm oil", kandungan asam oleat dan asam

linoleatnya tinggi (Swern, D., 1964). Sebenarnya, "Palm oil" tidak mengandung asam laurat, tetapi karena sering terjadi inti kelapa sawit ikut tersari, maka "Palm oil" sering mengandung asam laurat. Untuk selanjutnya, yang disebut minyak kelapa sawit adalah "Palm oil".

Adapun susunan asam lemak dalam minyak kelapa sawit adalah sebagai berikut :

Asam laurat	0,1%
Asam miristat	1,2%
Asam palmitat	46,8%
Asam stearat	3,8%
Asam oleat	37,6%
Asam linoleat	10,0%
Asam arakhidat	0,2%
Asam eicosenoat	0,3%

(Weiss, T.J., 1970).

Berdasarkan susunan asam lemak minyak kelapa sawit tersebut, dapat diketahui harga perbandingan kadar "poly-unsaturated" dibanding "saturated" ("P/S") nya adalah 0,1908.

Minyak kelapa sawit merupakan minyak yang penting dan produksinya di dunia melebihi 2,8 milyar pon. Minyak kelapa sawit digunakan untuk membuat "shortening", margarine dan sabun. Adapun tahap-tahap untuk memperoleh minyak kelapa sawit adalah sebagai berikut :

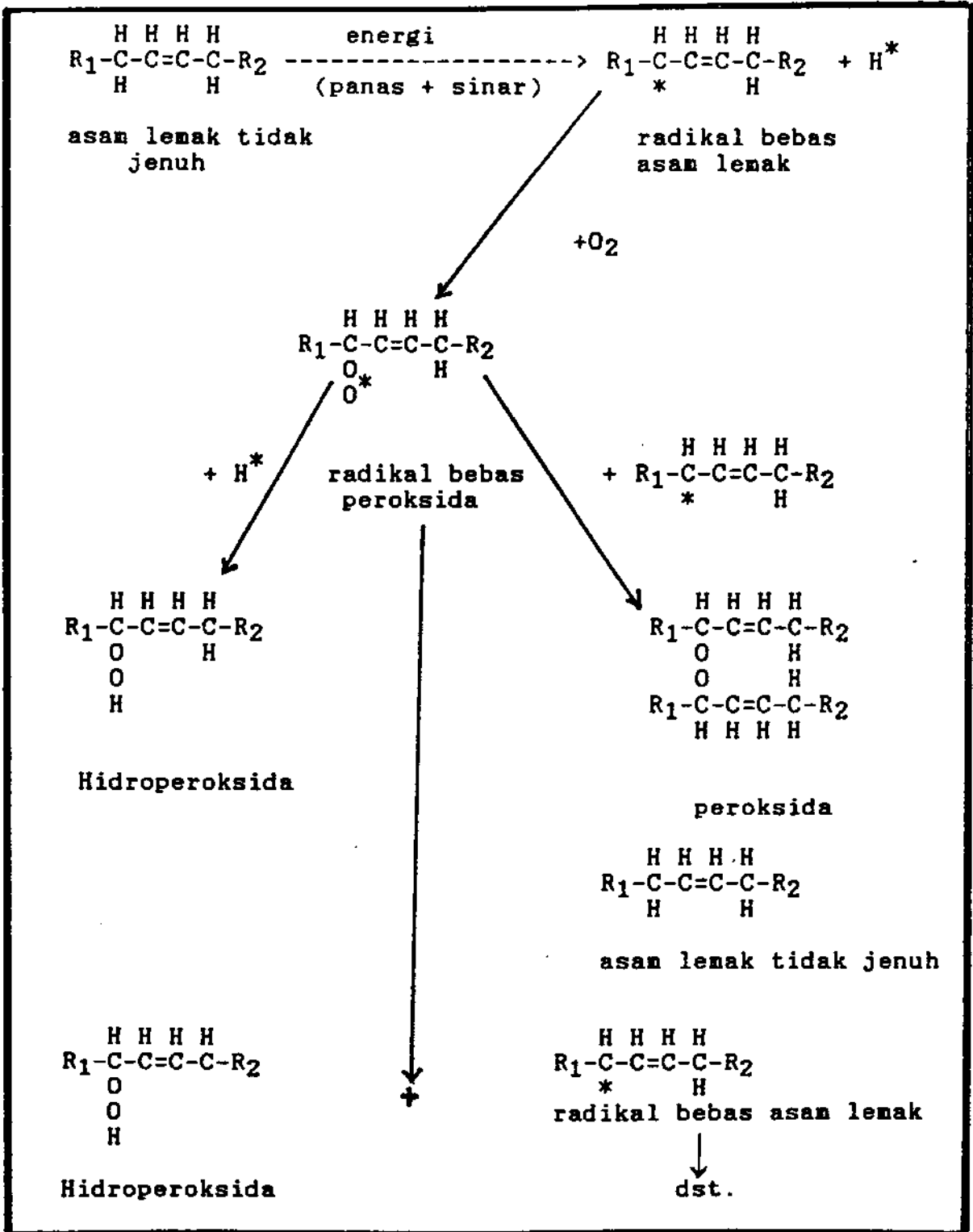
- 1). Pendidihan : untuk membuat enzim tidak aktif, serta memudahkan isolasi minyak dari dalam sel.
- 2). Pemusingan : untuk memisahkan tandan dan buahnya
- 3). Pengepresan.

Minyak kelapa sawit mempunyai bau yang enak dan khas, sangat stabil terhadap oksidasi, dan tidak mempunyai sifat mudah mengering. Pada suhu 21-26°C, berbentuk setengah padat. Konsistensi dan titik lelehnya, tergantung pada asam-asam lemak bebasnya. Minyak kelapa sawit berwarna merah oranye kuat, karena mengandung karotenoid (0,05-0,20%). Karotenoid adalah konstituen non minyak yang sangat penting. Warna tersebut tidak dipengaruhi oleh alkali pada waktu "refining", tetapi dapat dipucatkan oleh hidrogenasi pemanasan saat deodorisasi, dan juga oleh karena oksidasi, baik oleh O₂ udara maupun oleh bahan-bahan kimia. Minyak kelapa sawit juga mengandung sterol dan tokoferol. Adapun standard AOCS untuk minyak kelapa sawit adalah sebagai berikut :

Bobot jenis 25°C/25°C	0,898 - 0,901
Indeks bias 40°C	1,453 - 1,456
Bilangan iodium	44 - 58
Bilangan penyabunan	195 - 205
Bahan yang tak tersabunkan, % tak lebih	0,8%
Kenaikan suhu sementara selama kristalisasi asam lemak yang berasal dari lemak °C 40 - 47	

II.3. Mekanisme ketengikan dari minyak dan lemak

Minyak dan lemak yang tengik atau "rancid", menandakan adanya kerusakan komponen-komponen minyak dan lemak tersebut. Ketengikan atau "rancidity", yang paling sering dan paling penting adalah yang disebabkan karena otooksidasi, atau dinamakan ketengikan oksidatif ("oxidative rancidity"). Sasaran otooksidasi terutama adalah ikatan rangkap dari asam lemak tidak jenuh. Mekanisme ketengikan dari minyak dan lemak, berlangsung dengan mekanisme reaksi rantai. Diawali dengan terlepasnya atom hidrogen dari asam lemak tidak jenuh, sebagai akibat adanya energi panas dan cahaya. Atom hidrogen yang terlepas berasal dari atom karbon metilen, yang berdekatan dengan ikatan rangkap. Senyawa yang terbentuk adalah radikal bebas asam lemak, sebagai penyambung rantai. Radikal bebas asam lemak dengan oksigen udara akan membentuk radikal bebas peroksida, yang reaktif. Radikal bebas peroksida selanjutnya dapat bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh lain, membentuk hidroperoksida, dan radikal bebas asam lemak yang baru. Dalam hal ini, energi yang menyebabkan oksidasi asam lemak tidak terbuang, tetapi digunakan untuk oksidasi asam lemak yang lain, dan proses pun berjalan terus (Charley, H., 1982). Skema reaksi rantai tersebut dapat dilihat pada gambar (1).



Gambar 1 : Skema reaksi ootoksidasi berantai dalam minyak dan lemak (Triebold, 1963).

Hidroperoksida bersifat sangat labil, dan mudah terurai menjadi senyawa dengan rantai karbon lebih pendek, yang mudah menguap, dalam bentuk aldehid, asam dan keton, yang terdapat dalam jumlah sedikit, tetapi dapat menimbulkan bau tengik yang tidak disukai.

Reaksi otooksidasi dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempercepat atau memperlambat laju oksidasi. Adanya asam lemak dengan ketidakteraturan yang tinggi, lebih rentan terhadap otooksidasi. Otooksidasi dari masing-masing asam lemak tidak jenuh, dipengaruhi oleh perbedaan struktur molekular masing-masing, termasuk panjang rantai karbon, adanya 2 macam isomer geometris (cis-trans) dan isomer posisional. Isomer Cis lebih reaktif daripada isomer trans.

Asam linoleat merupakan komponen "polyunsaturated" utama dalam minyak dan lemak, yang mudah mengalami otooksidasi. Asam lemak tidak jenuh jenuh dengan ikatan rangkap lebih banyak, misalnya pada minyak ikan dan minyak binatang laut pada umumnya, yang mengandung 4 sampai 6 ikatan rangkap, laju otooksidasinya lebih tinggi. Dan juga pada metil oleat (dengan satu ikatan rangkap), metil linoleat (dengan dua ikatan rangkap), metil linolenat (dengan tiga ikatan rangkap), menunjukkan laju otooksidasi relatif dengan perbandingan 1 : 12 : 25. Reaktifitas akan meningkat dengan adanya gugus karbon metilen yang mengelilingi ikatan rangkap.

Di samping faktor-faktor yang telah disebutkan di atas, adanya prooksidan seperti cahaya, panas dan spora logam Cu, Fe, Co, Mn dan Ni yang terdapat dalam minyak dan lemak, akan mempercepat laju otooksidasi. Bahan-bahan ini akan memperpendek periode induksi, yaitu saat mulai terjadinya oksidasi, sampai terjadinya bau tengik.

II.4. Antioksidan

II.4.1. Macam antioksidan

Antioksidan ada 2 macam, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetis). Dalam minyak dan lemak, terutama yang berasal dari nabati, terdapat bahan alami, yang menghambat laju otooksidasi, yaitu antioksidan alami. Antioksidan alami yang umum terdapat dalam minyak dan lemak adalah tokoferol (vitamin E), terutama minyak dan lemak yang didapat dari biji tanaman. Tokoferol ini tidak disintesis oleh binatang, termasuk manusia (Zapsalis, C., 1985).

Antioksidan alami jumlahnya sangat sedikit, sehingga pada minyak dan lemak yang disimpan lama maupun minyak dan lemak yang mengalami "refining", banyak yang hilang. Untuk itu sekarang banyak dikembangkan antioksidan sintetis, yang umumnya adalah senyawa fenolik. Antioksidan sintetis dalam perdagangan yang banyak digunakan adalah BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluen), Propil galat, TBHQ (Tersier Butil Hidrokquinon) dan lain-lain

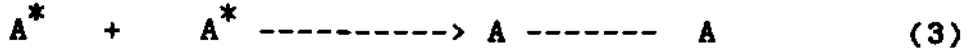
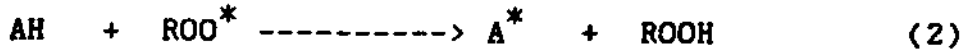
(Sherwin, E.R., 1976).

Efektifitas antioksidan dapat ditingkatkan dengan mengkombinasikan 2 macam antioksidan, misalnya pencampuran BHA dengan BHT, yang akan menghasilkan efek sinergis. Penambahan beberapa jenis asam seperti asam askorbat, asam sitrat, asam fosfat dan lain-lain pada antioksidan, dapat meningkatkan efek antioksidannya. Di samping itu, asam-asam tersebut juga efektif sebagai bahan pengikat logam ("metal chelating agent").

II.4.2. Mekanisme kerja antioksidan

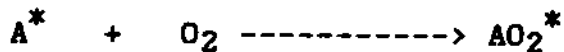
Mekanisme kerja antioksidan dalam hal menghambat reaksi otooksidasi berantai adalah dengan menyediakan atom hidrogen untuk mengikat radikal bebas asam lemak yang baru terbentuk, dan di samping itu juga untuk mengikat peroksida aktif. Jadi, fungsi antioksidan adalah untuk mengakhiri reaksi inisial dan reaksi propagasi. Berdasarkan mekanisme kerja antioksidan tersebut, sebaiknya penambahan antioksidan dilakukan sebelum terbentuknya radikal bebas asam lemak. Mekanisme reaksi antioksidan tunggal dan antioksidan kombinasi dalam mengakhiri tahap inisiasi dan propagasi dapat digambarkan sebagai berikut :

1). Antioksidan tunggal (AH)



tak aktif

2). Antioksidan kombinasi (AH + BH)

Radikal antioksidan dapat bereaksi dengan O_2 Keterangan :

R^* = radikal asam lemak

AH = molekul antioksidan A

BH = molekul antioksidan B

A^* = radikal bebas antioksidan A

B^* = radikal bebas antioksidan B

RH = sistem pentadiena linoleat teraktifasi

ROO^* = radikal bebas yang teroksidasi (peroksida aktif)

ROOH = produk oksidasi primer (hidroperoksida).

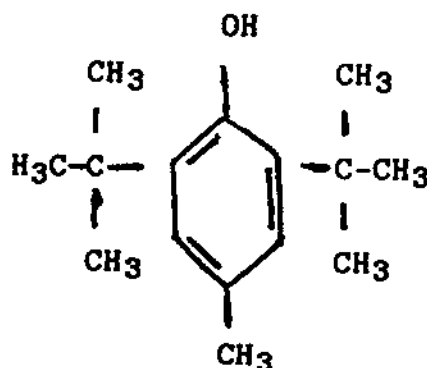
Pada persamaan (1), (2), (4) dan (6) menunjukkan bahwa antioksidan memberikan atom hidrogen pada radikal bebas asam lemak dan radikal bebas peroksida, sehingga tidak dapat meneruskan reaksi selanjutnya. Adanya antioksidan kedua, akan menghambat reaksi (3), sehingga efek antioksidan dapat lebih bertahan lama. Terbentuknya kembali RH

akan memperlambat tahap reaksi selanjutnya, oleh karena pembentukan R^* dari RH adalah lambat (Ketaren, S., 1986).

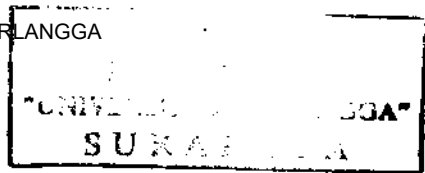
II.4.3. Tinjauan tentang antioksidan BHT dan TBHQ

II.4.3.1. Antioksidan Butil Hidroksi Toluena (BHT)

BHT adalah 2,6-ditertierbutil-4-metil fenol. Secara sterik, BHT adalah suatu "hindered phenol", dengan perilaku antioksidan yang mempunyai aktifitas rendah terhadap minyak nabati. Ketidakefektifan ini, disebabkan karena dua gugus tertier butil yang menghalangi aktifitas antioksidan struktur fenolik. BHT mulai dikenal pada tahun 1954, yang sebelumnya dikenal untuk digunakan sebagai penghambat oksidasi dalam produk petroleum dan karet, dan kemudian digunakan untuk minyak dan lemak. Keistimewaan dari BHT adalah dapat dikombinasi dengan antioksidan lain seperti BHA, propil galat dan asam sitrat. Keempat bahan tersebut dicampur dan ditambahkan ke dalam minyak dan lemak. Struktur BHT adalah sebagai berikut :



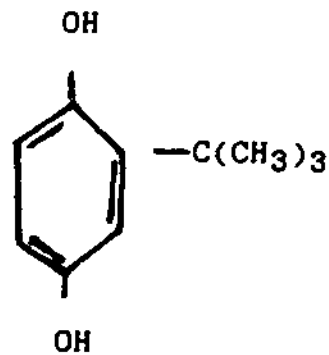
Butil Hidroksi Toluena



BHT merupakan kristal berwarna putih, sangat larut dalam minyak dan lemak, tidak larut dalam air. Sifat ini sangat menguntungkan bagi antioksidan yang digunakan untuk minyak dan lemak. BHT mudah hilang dari minyak dan lemak karena penguapan dan distilasi. Hal ini dapat terjadi pada proses penggorengan atau proses lain yang menggunakan suhu tinggi. Oleh karena itu, penggunaan BHT harus dipertimbangkan (Sherwin, E.R., 1976).

II.4.3.2. Antioksidan Tersier Butil Hidroquinon (TBHQ)

TBHQ sangat efektif sebagai antioksidan dan sebagai penghambat polimerasi berbagai-bagai hasil industri bukan pangan. Sesudah tahun 1972, TBHQ diijinkan untuk digunakan sebagai antioksidan minyak dan lemak makan. Ini didasarkan atas hasil uji yang dilaporkan oleh Thompson dan Sherwin, sebagai jawaban atas tantangan kebutuhan antioksidan yang poten untuk jenis minyak dan lemak "polyunsaturated" yang sedang digalakkan dan banyak digunakan pada saat itu. TBHQ adalah kristal padat yang berwarna putih, cukup larut dalam minyak dan lemak, sedikit larut dalam air. Hal ini merupakan keuntungan pemakaian TBHQ. Adapun struktur TBHQ adalah sebagai berikut :



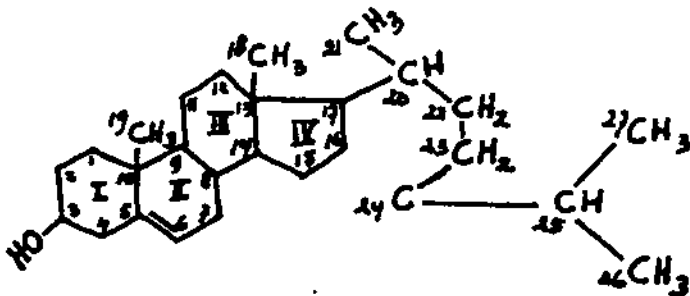
Tersier Butil Hidroquinon
(Sherwin, E.R., 1978).

II.5. Tinjauan tentang kholesterol

II.5.1. Sifat kimia dan fisika kholesterol

Kholesterol merupakan sterol yang terdapat pada hewan maupun manusia. Merupakan serbuk halus atau granul-garnul halus, warna putih agak kekuningan. Titik lebur kholesterol adalah 145-150°C, tidak larut dalam air, sukar larut dalam alkohol, larut dalam pelarut-pelarut lemak dan mampu membentuk ester dengan asam lemak. Kholesterol pertama kali diisolasi dari batu empedu. Kholesterol berada dalam darah dan empedu. Kholesterol dapat memberikan reaksi warna yang spesifik dengan pereaksi Liebermann-Burchard, dengan timbulnya warna biru kehijauan. Reaksi warna ini menjadi dasar penentuan kadar kholesterol. Reaksi warna yang lain adalah reaksi Salkowski, tetapi tidak spesifik.

Rumus bangun kholesterol adalah sebagai berikut :



Kholesterol : Cholest-5-en-3 ol
cholestarin (C₂₇H₄₆O).

II.5.2. Metabolisme kholesterol

Kholesterol dalam tubuh dapat berasal dari produksi kholesterol endogen dari jaringan tubuh, kurang lebih 1 g per hari, sedangkan yang berasal dari makanan kurang lebih 0,3 g per hari. Jaringan yang dapat mensintesa kholesterol adalah hati, kortek adrenal, mukosa usus, testis dan aorta. Keseluruhan sintesis ini terjadi dalam sitoplasma sel, dan mikrosomal sel. Sebagian besar memerlukan enzim yang teradapat dalam retikulum endoplasma.

II.5.3. Sintesis kholesterol

Asetil-koA adalah merupakan sumber atom karbon dalam kholesterol. Sintesis terjadi melalui beberapa tahap. Yang pertama adalah sintesis dari mevalonat, yang merupakan suatu senyawa dengan 6 atom karbon, yang berasal dari asetil-koA. Tahap kedua adalah pembentukan unit-unit isoprenoid dari mevalonat, dengan melepaskan CO₂. Unit iso

prenoid dapat dipandang sebagai "building block" dari kerangka steroid. Dari unit-unit ini berkondensasi membentuk zat antara yaitu squalen, yang kemudian membentuk lanosterol steroid induk. Kolesterol dibentuk dari lanosterol sesudah melalui beberapa tahap lebih lanjut (lihat gambar 6). Ada penurunan β aktifitas hidroksi- β -metilglutaril-koA reduktase yang bermakna, pada tikus yang dipuaskan. Hal ini dapat menjelaskan adanya penurunan sintesis kolesterol selama puasa. Ada perbedaan pengaruh jumlah kolesterol dalam diet terhadap kolesterol endogen pada tikus. Bila 0,05% kolesterol ada dalam diet, sintesa kolesterol dari liver, usus kecil dan kelenjar adrenal adalah 70-80%, sedangkan kalau 2% kolesterol yang berada dalam diet, kolesterol endogen turun menjadi 20-30%. Produksi kolesterol endogen tidak secara menyeluruh ditentukan oleh kolesterol diet yang meningkat. Yang nampak ditekan hanya sintesis hepatic. Pada percobaan dengan "perfused liver" diketahui bahwa serum yang hiperkholesterolemia akan menghambat sintesis kolesterol.

Pada manusia, sintesa ekstra hepatic terutama usus, lebih penting. Sedangkan pada tikus dan anjing, justru liver yang penting. Asam empedu menghambat sintesis kolesterol. Usaha-usaha untuk menurunkan kolesterol plasma pada manusia dengan mengurangi jumlah kolesterol dalam diet. Kenaikan 100 mg. kolesterol dalam diet, menyebabkan kenaikan 5 mg. kolesterol per dl serum (Harper, H.A., 1977).

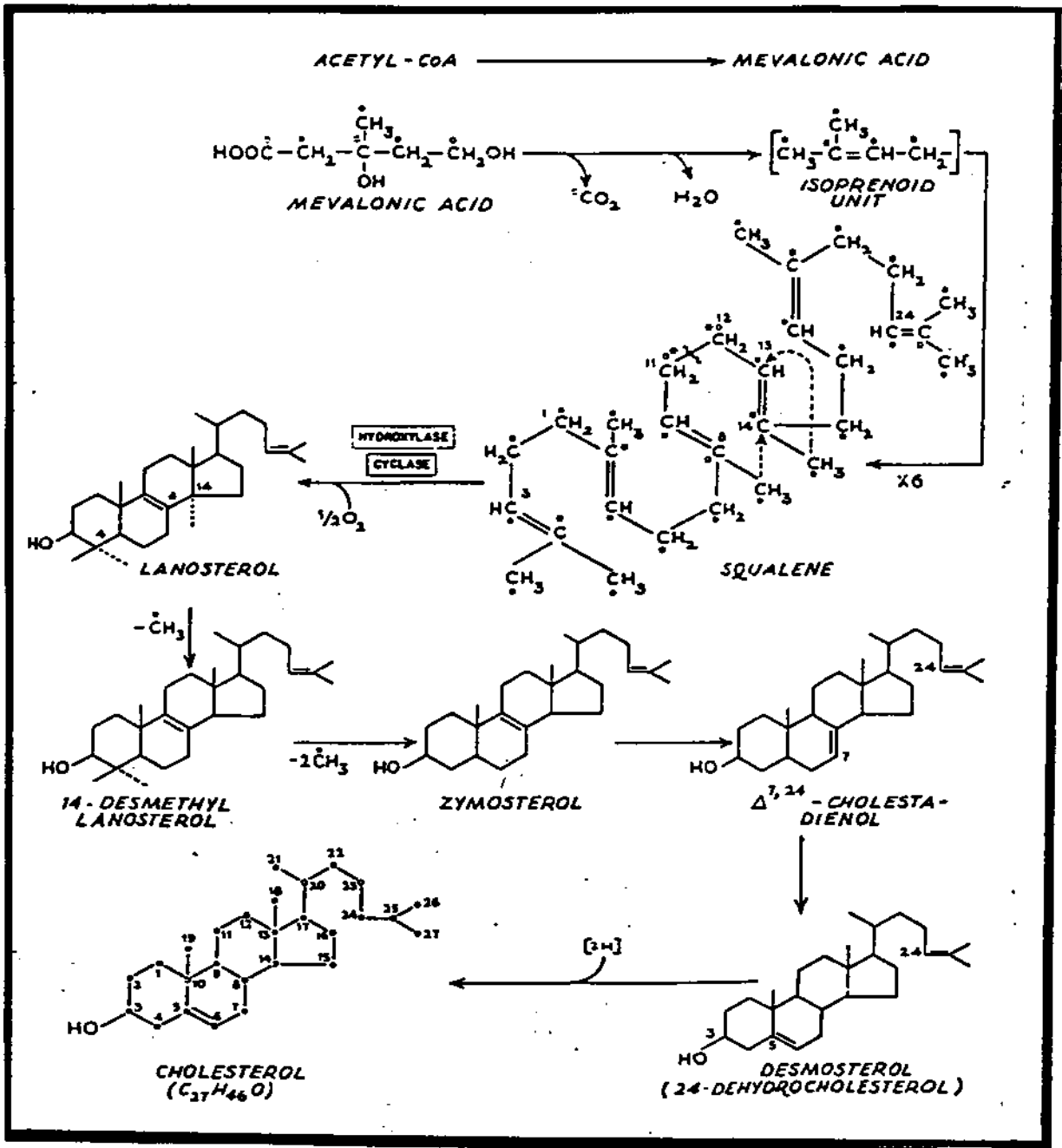
II.5.4. Transport kolesterol

Oleh karena kolesterol tidak larut dalam air, maka agar dapat ditransport, kolesterol membentuk ikatan dengan lipoprotein plasma. Kolesterol dari diet, diabsorpsi oleh usus bersama-sama lipid lain. Sekitar 80-90% kolesterol yang diabsorpsi, dalam limfa diesterifikasi oleh asam lemak rantai panjang. Kolesterol bergabung dengan lipoprotein plasma yang berperan dalam transport kolesterol, yaitu :

1. Khilomikron
 2. VLDL (Very Low Density Lipoprotein = pre beta lipoprotein)
 3. LDL (Low Density Lipoprotein = beta-lipoprotein)
 4. HDL (High Density Lipoprotein = alfa lipoprotein)
- VLDL (Very Low Density Lipoprotein), merupakan bentuk transport lipid yang paling kecil atau paling ringan.

VLDL mengandung kolesterol 10-15%. LDL mengandung kolesterol paling besar, yaitu 45%, dan bertanggung jawab pada kadar kolesterol plasma saat puasa. HDL mengandung lebih kurang 20% kolesterol. Kelebihan salah satu atau lebih dari keempat famili lipoprotein tersebut, akan menghasilkan hiperkholesterolemia (Levy, R.I., 1972). Seseorang pada usia tertentu, yang mempunyai kolesterol dalam darah melebihi 200 mg/dl atau mempunyai kadar trigliserida melebihi 150, memerlukan perhatian. Berdasarkan

studi epidemiologi, risiko penyakit jantung koroner erat hubungannya dengan kadar kolesterol total dalam serum darah. Sebagian besar kolesterol yang ada dalam sirkulasi serum, biasanya dibawa dalam LDL, dan diketahui bahwa LDL merupakan alat peramal yang sangat kuat dari resiko subyek yang umurnya kurang dari 50 tahun, tetapi baru-baru ini juga diketahui bahwa LDL juga menunjukkan andil yang bermakna pada resiko subyek yang umurnya lebih dari 50 tahun, bahkan 80 tahun (Kannel, W.B., 1979).



Gambar 2 : Biosintesis kolesterol, dari asam nevalonat (Harper, H.A., 1977).

II.5.6. Hubungan antara kolesterol, penyakit jantung koroner dan aterosklerosis

Beberapa peneliti menunjukkan bahwa, ada hubungan yang erat antara kadar lipid dalam serum yang meningkat dengan kejadian penyakit jantung koroner dan aterosklerosis. Di antara lipid serum, kolesterol adalah salah satu yang terpenting, dalam hubungannya dengan penyakit jantung koroner dan aterosklerosis. Walaupun demikian, parameter lain seperti perbandingan kolesterol dibanding dengan fosfolipid, konsentrasi lipoprotein Sf 12-400, konsentrasi triasilgliserol serum dan lain-lain juga penting. Aterosklerosis ditandai dengan penimbunan ester kolesterol dan lipid-lipid lain pada jaringan penghubung dinding arteri. Pada penyakit yang disertai dengan peninggian kadar LDL dan VLDL yang berlangsung lama, misalnya pada diabetes mellitus, lipid nephrosis, hypothyroidism dan kondisi lain dari hiperlipidemia, sering disertai dengan aterosklerosis dini. Pada hyperthyroidism, kadar kolesterol dalam darah adalah rendah. Penurunan kadar kolesterol dalam darah dapat disebabkan karena laju daur ulang yang meningkat dan ekskresi yang meningkat. Penggantian diet asam lemak jenuh dengan asam lemak tidak jenuh (terutama asam lemak jenuh janak), banyak dipelajari. Minyak-minyak yang terdapat di alam, yang bermanfaat untuk menurunkan kadar kolesterol plasma adalah minyak kacang, minyak biji kapas, minyak jagung, dan minyak kedele. Minyak kelapa

dan "butter fat" meningkatkan kadar (Harper, H.A., 1977). Minyak biji kapas, minyak jagung, minyak kedele, mempunyai kadar asam lemak tidak jenuh jamak ("polyunsaturated") tinggi, sehingga perbandingan kadar komponen "polyunsaturated" dengan komponen "saturated" atau "P/S" tinggi, kurang lebih 4, sehingga mempunyai pengaruh menurunkan kadar kolesterol darah. Harga perbandingan "P/S" dari minyak kacang lebih rendah, yaitu lebih kurang 1,8 dan untuk minyak kelapa sawit harga perbandingan "P/S"-nya rendah, yaitu lebih kurang 0,2. Harga "P/S" yang rendah, akan mempunyai andil dalam meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Efek yang ditimbulkan oleh asam lemak polyunsaturated dalam diet, mekanismenya belum jelas, tetapi beberapa hipotesis menyebutkan alasan sebagai berikut :

1. Asam lemak "polyunsaturated" merangsang ekskresi kolesterol ke dalam usus, sehingga cepat dikeluarkan bersama dengan feses.
2. Merangsang oksidasi kolesterol menjadi asam empedu.
3. Ester kolesterol asam lemak "polyunsaturated", mudah dimetabolisir oleh liver dan jaringan lain. Dengan demikian, akan meningkatkan laju daur ulang dan ekskresinya.
4. Ada bukti-bukti lain bahwa pengaruh yang paling besar adalah disebabkan adanya pergeseran distribusi kho-

lesterol dari plasma ke jaringan.

5. Asam lemak jenuh menyebabkan laju sekresi VLDL lebih tinggi daripada yang disebabkan oleh asam lemak tidak jenuh.

6. Asam lemak jenuh menyebabkan pembentukan partikel VLDL lebih kecil dan mengandung kholesterol relatif lebih banyak, sehingga pemanfaatan oleh jaringan ekstra hepatic lebih lambat daripada partikel yang lebih besar, yang mengandung kholesterol relatif lebih sedikit (Grundy, S.M., 1975).

Faktor-faktor yang ikut ambil bagian dalam timbulnya aterosklerosis adalah hipertensi, merokok, minum kopi, dan kurang olah raga (Zapsalis, C., 1985). Peningkatan asam lemak bebas dalam plasma, juga akan meningkatkan sekresi VLDL oleh liver, dan juga meningkatkan pengeluaran triasilgliserol dan kholesterol dalam sirkulasi. Faktor-faktor yang menyebabkan peningkatan dan fluktuasi asam lemak bebas dalam darah adalah stres emosional, merokok, minum kopi dan makan sekaligus banyak (Harper, H.A., 1977). Apabila penanggulangan hiperlipoproteinemia dengan cara diet gagal, maka untuk menurunkannya, ditempuh dengan jalan menggunakan obat-obatan.

II.5.7. Pengaruh HDL-kholesterol pada penyakit jantung koroner

Pada penelitian tentang peran lipoprotein plasma ter-

hadap perkembangan penyakit jantung koroner, ditemukan adanya kenyataan bahwa pada laki-laki sehat, kadar HDL kholesterolnya lebih tinggi daripada laki-laki penderita penyakit jantung koroner. Pada wanita, resiko terjadinya penyakit jantung koroner lebih sedikit bila dibandingkan dengan pria, dan kenyataan bahwa pada wanita, kadar HDL-kholesterolnya lebih tinggi 10 mg./dl. daripada pria (Castelli, W.P., 1977). Hal-hal yang dapat mempercepat terjadinya penyakit jantung koroner, tidak hanya didasarkan pada sejarah dietnya, kebiasaan ("habit"), diet lemak jenuh atau lemak tidak jenuh, pengukuran total-kholesterol dalam serum dan sebagainya. Peneliti mencari jawaban atas pertanyaan, mengapa HDL-kholesterol dapat mengurangi resiko penyakit jantung koroner, dan mengapa VLDL dan LDL membantu perkembangan aterosklerosis? Anggapan yang rasional adalah bahwa HDL-kholesterol mentransport komponen steroidnya dari jaringan tepi ke jaringan hepatic dimana komponen steroid tersebut akan dimetabolisir dan diekskresi. Sedangkan fraksi VLDL dan LDL dari lipoprotein, mentransport kholesterol ke tempat penyimpanan/penimbunan. Karena HDL adalah fraksi α -lipoprotein serum, dan LDL dan VLDL adalah fraksi β -lipoprotein serum, maka suatu peningkatan rasio β/α akan meningkatkan resiko penyakit jantung koroner. Rasio β/α yang normal adalah 2,50-2,90, resiko terkena penyakit jantung koroner adalah mempunyai rasio β/α 5,00 atau lebih. Di samping penelitian ini, penelitian

terdahulu menemukan bahwa peningkatan kadar LDL, sejajar dengan serangan penyakit jantung koroner, sedangkan peningkatan HDL, sejajar dengan penurunan serangan penyakit jantung koroner (Zapsalis, C., 1985).

II.5.8. Analisis kadar kolesterol dalam serum darah tikus

Untuk menentukan kadar kolesterol total dan kolesterol-HDL, dilakukan dengan metode enzimatik CHOD-PAP, dengan pereaksi "Cholesterol CHOD-PAP High performance Enzymatic Colorimetric test" (Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica), untuk kolesterol total, yang susunannya sebagai berikut :

- 4 aminophenazon	1 mmol
- Natrium cholat	10 mmol
- Phenol	6 mmol
- 3,4-Dichlorphenol	4 mmol
- Kolesterolin esterase	400 u
- Kolesterolin oxydase	250 u
- Peroxidase	200 u

Dikandung dalam tiap 100 ml.

Untuk penentuan kadar kolesterol-HDL, pereaksi yang digunakan adalah "HDL-Cholesterol Precipitant" dari Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica, yang isinya sebagai berikut :

- asam fosfat	0,55 mmol/liter
- magnesium klorida	25,00 mmol/liter

dalam keadaan belum dilarutkan.

II.5.8.1. Prinsip reaksi penentuan kadar kolesterol total

Prinsip reaksi pada penentuan kolesterol-total adalah berdasarkan reaksi warna, yang terjadi sebagai berikut : kolesterol ester dihidrolisa oleh kolesterol esterase, membentuk kolesterol bebas, kemudian dioksidasi oleh kolesterol oksidase membentuk 4-kholestenon dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida bereaksi dengan 4 amino fenazon, dan dengan adanya fenol dan peroksidase, menghasilkan 4-(p-Benzokinon monoimino)-fenazon, yang mempunyai warna merah muda, dan dibaca pada photometer 4010 dengan panjang gelombang 620 nm (Roschlau P., 1975).

II.5.8.2. Prinsip reaksi penentuan kadar kolesterol-HDL

Khilomikron, VLDL ("Very Low Density Lipoprotein") dan LDL ("Low Density Lipoprotein"), akan diendapkan oleh penambahan asam fosfotungstat dan ion-ion magnesium. Setelah dipusingkan, pada bagian yang jernih akan tertinggal HDL ("High Density Lipoprotein"), yang kemudian ditentukan secara enzimatis.

II.6. Tinjauan tentang Kromatografi Gas

Kromatografi adalah suatu proses penisahan komponen sampel yang didasarkan pada perbedaan distribusi komponen sampel tersebut, di antara dua fase. Salah satu fase yang tetap terpancang dalam sistem, dinamakan "stationary phase" (fase diam), sedangkan fase lainnya yang secara te-

rus menerus bergerak melewati fase diam, dinamakan "mobile phase" (fase gerak). Gerakan dari fase menyebabkan perbedaan migrasi komponen sampel. Fase gerak bekerja sebagai pembawa komponen sampel, sedangkan fase diam sebagai penahan sampel. Dan berdasarkan jenis fase dan mekanisme yang menentukan distribusi fase, kromatografi dapat digolongkan sebagai berikut : Kromatografi cair-padat atau kromatografi adsorpsi, kromatografi cair-cair atau kromatografi partisi, kromatografi gas-padat, kromatografi gas-cair, kromatografi pertukaran ion, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, filtrasi gel, "continuous-zone elektroforesis".

Kemajuan penggunaan kromatografi disebabkan oleh teori yang pertama kali dikemukakan oleh A.J.P. Martin dan R.L.M. Synge, untuk kromatografi partisi cair dan ini akan memberikan dasar penggunaan kromatografi gas-cair.

II.6.1. Teori dasar

II.6.1.1. Keseimbangan distribusi

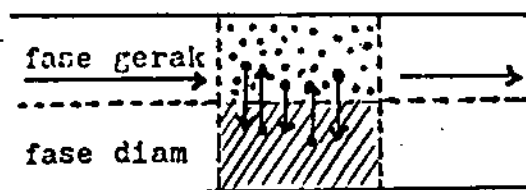
Distribusi molekul sampel antara dua fase ditentukan oleh konstanta keseimbangan, yang dikenal dengan koefisien distribusi, K . Keseimbangan adalah suatu proses yang dinamis, molekul berada dalam keadaan bolak-balik dengan cepat antara dua fase, sehingga konsentrasi rata-ratanya mengikuti hukum distribusi :

$$K = \frac{C_S}{C_M} \quad (1)$$

dimana S dan M berturut-turut adalah fase diam dan fase gerak.

Koefisien distribusi K, berlaku untuk banyak jenis mekanisme, tergantung sifat fase dan jenis interaksi komponen sampel dengan masing-masing fase. Mekanisme tersebut dapat berupa pertukaran ion, partisi, atau adsorpsi.

Gambar (3) menunjukkan segmen kolom kromatografi partisi cair-cair. Molekul solut dapat berada di dalam fase diam, yang berarti tertahan, atau berada dalam fase gerak,



Gambar 3. Segmen kolom; 1. solut; 2. fase gerak
3. fase diam.

yang akan dibawa melewati kolom, dengan kecepatan yang sama dengan fase gerak. Harga K, menunjukkan konsentrasi relatif solut dalam dua fase. Bila K besar, konsentrasi solut dalam fase diam lebih besar daripada yang berada da-

lam fase gerak, dan molekul-molekul solut tersebut akan lebih lama tinggal dalam fase diam. Pada keseimbangan dinamis yang sesungguhnya, fraksi waktu (terhadap waktu total) yang dialami oleh solut dalam fase gerak, berbanding langsung dengan fraksi solut (terhadap jumlah total solut), dalam fase gerak. Dengan demikian, jika fraksi waktu komponen sampel adalah t , maka :

$$t = \frac{\text{jumlah solut dalam fase gerak}}{\text{jumlah solut total dalam (fase gerak dan fase diam)}}$$

$$t = \frac{C_M V_M}{C_M V_M + C_S V_S}$$

$$t = \frac{1}{1 + K V_S / V_M}$$

$$t = \frac{1}{1 + K'} \quad (2)$$

dimana $K' = K V_S / V_M$ juga disebut faktor kapasitas.

Jarak yang ditempuh solut (d) dalam pergerakannya bersana-sana fase gerak sepanjang fase diam, adalah ekuivalen dengan hasil kali kecepatan solut (sama dengan kecepatan fase mobil (μ)) dengan fraksi waktu solut berada dalam fase mobil (t)

$$\text{Jadi : } d = \mu \cdot t$$

$$d = \mu \cdot \frac{1}{1 + K \cdot V_S/V_M}$$

$$d = \frac{\mu}{1 + KV_S/V_M} \quad (3)$$

II.6.1.2. Waktu retensi

Waktu retensi adalah yang diperlukan oleh solut untuk menempuh kolom. Jika panjang kolom (L) adalah jarak yang ditempuh oleh solut (d), dan kecepatan solut dianggap sama dengan kecepatan fase gerak (μ), maka kita dapatkan persamaan sebagai berikut :

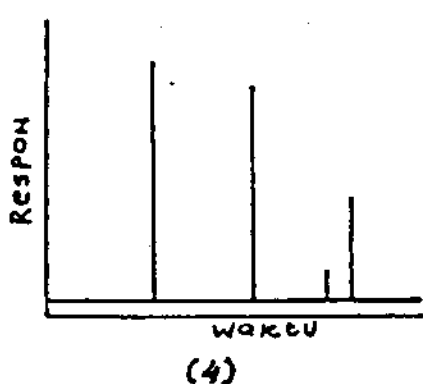
$$\text{Waktu retensi } (t_R) = \frac{L}{\mu} (1 + KV_S/V_M) \quad (4)$$

$$t_R = t_M (1 + KV_S/V_M) \quad (5)$$

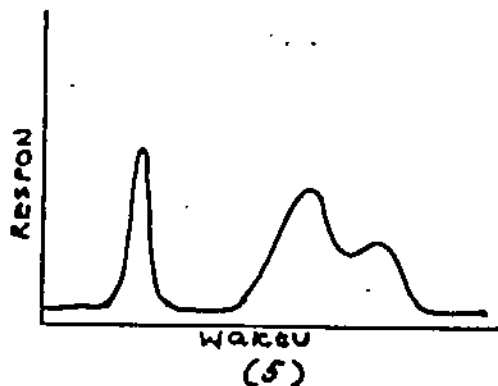
t_M adalah konstante, yaitu waktu yang diperlukan oleh fase gerak untuk mencapai ujung kolom. Dari persamaan (5) terlihat bahwa harga t_R tergantung pada besarnya t_M , K dan V_S/V_M . Pada sistem kromatografi tertentu, (panjang kolom, kecepatan fase gerak, volume fase gerak dan volume fase diam tertentu), harga t_R hanya dipengaruhi oleh harga K yang spesifik untuk tiap macam solut. Jadi, bila campuran beberapa macam zat (yang mempunyai harga K yang berbeda pada sistem fase mobil-fase diam tertentu) dilakukan kro-

matografi pada panjang kolom, suhu dan kecepatan fase mobil tertentu, akan memberikan waktu retensi (t_R) yang berbeda. Makin besar harga K , makin besar harga t_R - nya.

Kromatografi yang ideal akan dicapai apabila semua molekul zat mempunyai perilaku yang identik. Kromatografi yang ideal akan menghasilkan kromatogram yang mempunyai puncak-puncak yang terpisah dengan sempurna, sangat tajam dan menyerupai garis-garis (gambar 4). Oleh karena perilaku molekul zat adalah perilaku yang random, maka keadaan ideal tidak pernah tercapai, dan yang dihadapi adalah keadaan non ideal yaitu kromatogram yang mempunyai puncak-puncak tidak terpisahkan dengan sempurna dan cenderung melebar ("broadening") (gambar 5).



Gambar 4. Kromatogram keadaan ideal



Gambar 5. Kromatogram keadaan non ideal.

Puncak yang melebar terjadi juga akibat adanya proses transfer massa selama migrasi solut sepanjang kolom. Kecepatan tersebut dapat dikendalikan dengan mengatur variabel percobaan, sehingga dapat memperbaiki pemisahan. Variabel yang sangat penting dan yang mempengaruhi pemisahan adalah : ukuran partikel packing, ketebalan lapisan yang tidak bergerak (apabila fase diam adalah cairan yang mengadsorbsi), viskositas fase mobil, suhu dan kecepatan linier fase mobil. Ketiga variabel yang pertama akan memperbaiki pemisahan atau menurunkan HETP, sedangkan penurunan suhu akan mempunyai pengaruh yang berlawanan (Pecsok, R.L., 1976).

II.6.1.3. Teori "plate"

Teori "plate" dapat menjelaskan variabel yang mempengaruhi kecepatan migrasi solute. Teori "plate" diambil dari teori distilasi kolom, oleh Martin dan Synge, yang menggambarkan suatu kolom kromatografi, terdiri dari sejumlah besar "plate" teoritis, yang di dalamnya dapat dicapai keseimbangan dinamis. Satu "plate" teoritis analogi dengan satu unit mesin Craig. Efisiensi kolom sebagai alat pemisah naik, selama jumlah keseimbangan naik, dan ini berarti jumlah "plate" teoritis naik. Jumlah "plate" teoritis (N) digunakan sebagai ukuran efisiensi kolom. Ketebalan tiap "plate" atau height equivalent of a theoretical plate (H) atau kadang-kadang disingkat HETP, juga

mempengaruhi efisiensi kolom. Jika panjang kolom adalah L , maka :

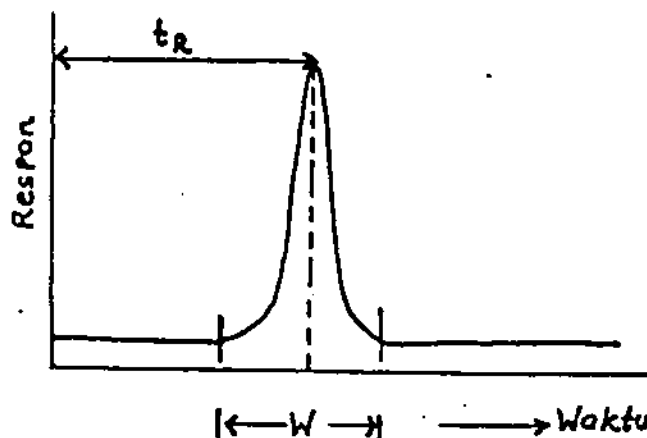
$$L = NH$$

$$N = L/H$$

Jika H menurun, efisiensi kolom akan naik, dan keseimbangan dinamis akan meningkat. Jumlah "plate" teoritis (N) dapat dihitung secara empiris dari kromatogram yang terjadi, yaitu :

$$N = \left(\frac{4 t_R}{W} \right)^2$$

dimana t_R adalah waktu retensi dan W adalah lebar puncak kromatogram (gambar 6).



Gambar 6. Menghitung jumlah (N) dari kromatogram.

Jumlah "plate" teoritis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain adalah : konstruksi "kolom", sifat solut yang dipisahkan, kecepatan fase mobil, suhu dan cara mengaplikasikan sampel (solut).

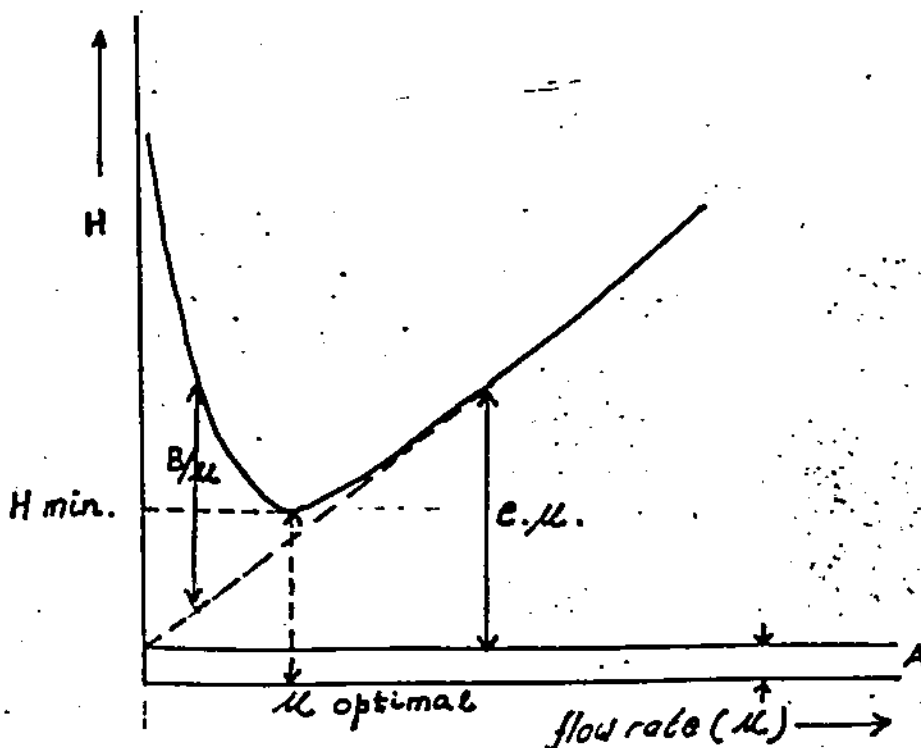
Berdasarkan teori "plate" ini, keadaan ideal dapat didekati dengan cara meningkatkan jumlah "plate" teoritis (N), dengan mengusahakan harga $H \rightarrow 0$ (Skoog, D.A., 1985).

II.6.1.4. Hukum Van Deemter

Ada 3 faktor yang mempengaruhi harga H , sehingga tidak pernah dicapai $H \rightarrow 0$. Hukum Van Deemter dapat dirumuskan, dan dapat dinyatakan dalam persamaan sebagai berikut :

$$H = A + B/\mu + C.\mu$$

Persamaan Van Deemter yang menyatakan hubungan antara harga terhadap flow rate (μ) dan sekaligus menunjukkan kontribusi dari tiap-tiap faktor A, B dan C sebagai fungsi μ terhadap H, dapat digambarkan pada gambar 7.

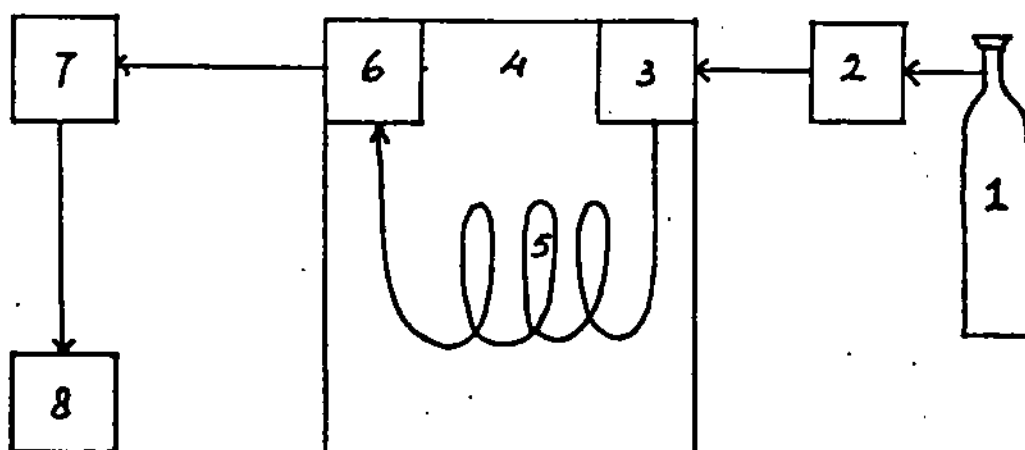


Gambar 7. Diagram persamaan Van Deemter

Faktor A adalah sebagai akibat dari pergerakan solut dengan jalur random, sehingga waktu tempuh dari ujung ke ujung kolom dari tiap-tiap solut tidak sama. Kontribusi jalur yang random ini, dikenal dengan Eddy diffusion. Hal ini merupakan fungsi dari ukuran dan keseragaman partikel kolom. Partikel yang halus dan kompak akan menurunkan harga A. Faktor B, dikenal sebagai difusi longitudinal, yaitu pergerakan solut selama melewati kolom, cenderung mengalami difusi dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah, baik ke depan maupun kebelakang. Difusi longitudinal ini, berbanding terbalik dengan "flow rate" fase mobil μ . Kontribusi kedua faktor ini dinyatakan dengan B/μ . Faktor C, dikenal sebagai akibat adanya ketidak seimbangan transfer massa solut. Harga C dipengaruhi oleh besarnya "flow rate" (μ). Semakin besar μ semakin besar pula C. Kontribusi kedua faktor tersebut dinyatakan dengan $C \cdot \mu$.

II.6.1.5. Diagram alat kromatografi gas

Komponen dasar kromatografi gas adalah sebagai berikut (Chakraborty, 1987) :



Gambar 8 . 1. persediaan gas; 2. pengontrol aliran gas;
3. ruang injeksi sampel; 4. oven; 5. kolom ;
6. detektor; 7. amplifier; 8. rekorder.

II.6.1.6. Analisis kualitatif dengan kromatografi gas

Analisis kualitatif dengan kromatografi gas bertujuan untuk mengidentifikasi "peak" yang timbul dari proses kromatografi gas. Penggunaan kolom kapiler atau "packed column", dapat menghasilkan penisahan yang baik. Beberapa cara yang digunakan untuk identifikasi, antara lain adalah mengukur waktu retensi relatif, waktu dengan cara membandingkan waktu retensi komponen yang belum diketahui, dengan komponen yang sudah diketahui (standard), yang dianalisis dengan kolom yang sama dan kondisi yang sama. Sebelum membandingkan waktu retensi sampel dengan waktu

retensi standard, waktu retensi dari sampel dan standard harus dikurangi dengan t_M , yaitu waktu retensi udara, yang masuk bersama-sama dengan sampel. Jadi, t_M adalah waktu yang diperlukan oleh "peak" udara, dan sering diberi simbol t_a . Waktu retensi relatif diberi simbol " α ".

Jadi persamaan untuk waktu retensi relatif adalah :

$$\alpha = \frac{t_R - t_M}{t_{R^*} - t_M} = \frac{V_R - V_M}{V_{R^*} - V_M} = \frac{K}{K^*}$$

Cara identifikasi dapat juga dilakukan dengan plot waktu retensi dengan jumlah atom karbon dan plot waktu retensi dengan titik didih. Jika sampel mengandung beberapa anggota suatu seri yang homolog diinjeksikan ke dalam kromatografi gas, maka plot log waktu retensi, sebanding dengan peningkatan sifat seri homolog. Untuk identifikasi anggota seri homolog, diperoleh dengan "ploting" log waktu retensi dengan jumlah atom karbon, jumlah gugus metilen, titik didih dan sebagainya.

Cara lain adalah dengan menggunakan dua atau lebih kolom, dengan harapan bahwa identitas senyawa yang tidak diketahui sama dengan identitas senyawa dengan waktu retensi yang identik. Hal ini tergantung dari polaritas dan efisiensi kolom. Dengan kolom yang efisien, biasanya "peak" akan terpisah dengan baik, dan menumpuknya "peak" dapat dihindari.

II.6.1.7. Analisis kuantitatif

Analisis kuantitatif dengan kromatografi gas di dasarkan atas perbandingan tinggi atau "area" dari "peak" analit. Bila kondisi operasionalnya tepat, maka tinggi atau "area" dari "peak" analit sebanding dengan konsentrasi analit.

Pengukuran tinggi "peak" adalah sebagai berikut : tinggi kromatografi diperoleh dengan menyambung "baseline" ke sisi lain "peak", dengan garis lurus, kemudian mengukur garis (jarak) tegak lurus dari garis yang dibuat tadi dengan "peak". Hasil pengukuran dengan cara ini, biasanya tepat dan teliti. Variabel yang harus dikendalikan adalah suhu kolom, "flow rate" gas pembawa dan kecepatan injeksi sampel.

"Peak area" tidak tergantung dari efek pelebaran "peak" yang disebabkan oleh variabel suhu kolom, "flow rate", dan kecepatan injeksi sampel. Pengukuran "peak area" dilakukan dengan mengalikan tinggi "peak" dengan lebar pada setengah tinggi "peak". Kromatografi gas sering dilengkapi dengan "integrator" yang dapat menghitung "peak area" atau tinggi "peak". Bila perlengkapan ini tidak ada, perhitungan secara manual harus dilakukan. Metoda pengukuran "peak area" yang lain adalah menggunakan planimeter atau menggunting dan menimbang kertas kromatogramnya.

Analisis kuantitatif dengan kromatografi gas dapat dilakukan dengan metode kalibrasi standard : eksternal dan internal. Metode kalibrasi dengan standard eksternal meliputi pembuatan serangkaian larutan standard, yang susunannya mendekati susunan sampel. Tinggi "peak" atau "peak area" kromatogram yang didapat dari standard di plot sebagai fungsi konsentrasi. Sumber kesalahan dari metode ini adalah tidak tepatnya volume sampel dan kecepatan injeksi sampel. Plot data harus menghasilkan garis lurus yang melewati titik nol. Analisis sampel didasarkan pada plot ini.

Untuk metode standard internal ketelitian yang tinggi akan didapat karena perbedaan injeksi sampel dapat dihindari. Dalam prosedur ini, sejumlah bahan standard internal diukur dengan teliti, dan dimasukkan ke dalam standard dan sampel, dan perbandingan "peak area" atau tinggi "peak" analit dan standard internal digunakan sebagai parameter. Supaya metode ini berhasil, "peak" standard internal harus terpisah dari "peak" seluruh komponen lain dari sampel, dan "peak" standard internal harus berdekatan dengan "peak" analit.

II.6.1.8. Analisis kromatografi gas dengan program suhu dan isotermal

Analisis kromatografi gas dengan program suhu dan dengan cara isotermal dapat dilaksanakan dengan pertim-

bangun-pertimbangan keuntungan dan kerugiannya. Keputusan untuk menggunakannya di dasarkan atas pertimbangan titik didih komponen sampel. Biasanya, kalau pergeseran titik didih 100°C atau lebih, disarankan menggunakan program suhu. Analisis dengan cara isotermal, dilakukan pada suhu kolom yang konstan dan dibatasi untuk sampel dengan pergeseran titik didih yang sempit. Pada suhu konstan, "peak" yang muncul lebih dini, mewakili komponen yang mempunyai titik didih rendah. Sedang komponen yang titik didihnya lebih tinggi, muncul sebagai "peak" yang berikutnya. Kadang-kadang komponen dengan titik didih yang tinggi tidak dielusi seluruhnya, tetapi muncul belakangan sebagai "base-line noise" atau "peak" hantu.

Analisis dengan program suhu dilakukan dengan menaikkan suhu per satuan waktu. Program suhu sangat bermanfaat untuk analisis campuran dengan pergeseran titik didih yang luas. Pada program suhu, suhu awal lebih rendah dan "peak" yang keluar lebih dini terpisah dengan baik. Demikian juga komponen yang mempunyai titik didih lebih tinggi, akan terelusi dengan cepat secara berurutan dan merupakan "peak" yang tajam. Jadi dengan program suhu dapat dipilih suhu yang tepat, yang menghasilkan pemisahan yang baik, bentuk "peak" yang bagus, dan waktu analisis yang lebih pendek daripada analisis dengan isotermal. (McNair, 1976).

II.6.1.9. Analisis minyak dan lemak dengan kromatografi gas

Untuk meningkatkan volatilitas, stabilitas dan bentuk "peak", sampel minyak dan lemak sebelum dilakukan analisis dengan kromatografi gas, harus menjalani derivatisasi lebih dahulu, untuk dirubah menjadi metil esternya.

Ada beberapa cara untuk membuat Fatty Acid Methyl Ester (FAME) antara lain adalah dengan boron trifluoride-metanol (BF_3/MeOH). Pereaksi ini toksis, relatif tidak stabil dalam penyimpanan, dan mudah membentuk artefak. Untuk sampel yang kecil, metode ini tepat, tetapi untuk analisis rutin dengan sampel yang banyak, metode BF_3/MeOH , sangat memakan waktu. Pereaksi yang lain adalah : pereaksi transmetilasi seperti $\text{KOH}/\text{metanol}$ anhidrat, sodium metoksida/metanol, adalah pereaksi yang populer dan cepat, tetapi tidak dapat disimpan. Asam sulfat/metanol dengan toluen sebagai pelarut, dapat disimpan dengan baik dan relatif tepat untuk pembuatan FAME. Pereaksi terdiri dari asam sulfat pekat/toluen/metanol (1/10/20/volume).

Derivatisasi asam lemak yang mempunyai gugus hidroksil bebas (asam risinoleat), digunakan O-trimetilsilileter (OTMSi). Analisis asam lemak bebas (FFA) dengan rantai panjang, dinalisis dengan baik sesudah esterifikasi. Asam dikarboksilat rantai pendek, seperti suksinat (C_4) dan glutarat (C_5) hasil yang baik didapat sesudah esterifikasi dengan diazometan.

Kolom yang digunakan untuk analisis FAME adalah EGA, EGS dan DEGS. Walaupun demikian DEGS mempunyai kelemahan yaitu, stabilitasnya terhadap panas adalah rendah (maksimum 210°C), dan menunjukkan kolom "bleed", yang menyebabkan gangguan "baseline" yaitu penyimpangan (drifting). Kolom cyanopropyl polysiloxane lebih baik, dan jarak suhunya lebih besar, yaitu sekitar 250°C . Untuk analisis FAME, suhu kolom tidak melebihi 225°C , sehingga kecil kemungkinan untuk terjadi "bleed". Untuk analisis FAME, sebaiknya panjang kolom 2 meter, dan diameter dalam kolom 2-4 milimeter. Bahan untuk paking dengan kehalusan antara 100/120 atau 80/100 mesh. (Hamilton, R.J., 1987).

BAB III.**BAHAN, ALAT DAN METODE****III.1. Bahan & Pereaksi**

- Minyak kelapa sawit ("crude Palm Oil"), diperoleh dari perusahaan minyak goreng "BIMOLI" Surabaya.
- Minyak kacang ("Crude"), diperoleh dari perusahaan minyak kacang "SINGA MAS", Pandaan, Jawa Timur.
- Butil Hidroksi Toluen p.a
- Tersier Butil Hidroquinon ("Food grade")
- Standard metil ester asam lemak ("Poly Science Corporation Niles IL").
 - Metil ester asam laurat (C_{12:0})
 - Metil ester asam miristat (C_{14:0})
 - Metil ester asam palmitat (C_{16:0})
 - Metil ester asam stearat (C_{18:0})
 - Metil ester asam oleat (C_{18:1})
 - Metil ester asam linoleat (C_{18:2})
 - Metil ester asam linolenat (C_{18:3})
 - Metil ester asam arakhidat (C_{20:0})
 - Metil ester asam behenat (C_{22:0})
- Asam asetat glasial p.a.
- Amilun p.a.
- Boron trifluorida p.a.
- Bronida p.a.
- Kalium Iodida p.a.

- Khloroform p.a.
- Iodium
- Metanol p.a.
- Natrium khlrida p.a.
- Natrium sulfat anhidrat p.a.
- Sikloheksan p.a.
- Karboksi metil selulose
- Pereaksi "HDL-Cholesterol Precipitanc" (Boehringer Mannheim GmbH).
- Pereaksi "Cholestrol Chod-PAP High Performace Enzymatic Colorimetric Test" (Boehringer Mannheim GmbH).
- Kholestrol

III.2. Alat

- Fisher - John Melting Point Apparatus
- Advanted FA-11-Ø12
- Pikhometer
- Refraktometer-ABBE
- Kromatografi Gas, Varian AEROGRAPH MODEL 3700
- Kromatografi Gas, Perkin-Elmer F 17.
- Photometer 4010 Clinicon
- Ultracentrifuge MSE
- Disposable Syringe 5 cc
- Venojest Blood Collecting

III.3. Metode

III.3.1. Penentuan sifat fisiko kimia minyak

III.3.1.1. Penentuan bobot jenis minyak

Penentuan bobot jenis minyak dilakukan dengan piknometer, dengan cara sebagai berikut :

Ditimbang piknometer kosong (a gram), kemudian kedalaman piknometer diisi minyak, suhu dicatat, kemudian ditimbang (b gram). Bobot minyak adalah (b-a)gram. Dengan cara yang sama, dilakukan pula pada air, yang diukur pada suhu yang sama dan ditimbang, bobotnya (c gram). Bobot jenis minyak dihitung dengan rumus :

$$\frac{(b - a) \text{ gram minyak}}{(c - a) \text{ gram air}}$$

III.3.1.2. Penentuan jarak lebur minyak

Jarak lebur ditentukan dengan cara mengamati suhu permulaan melebur sampai suhu akhir lebur, yang ditandai dengankeseluruhan lemak menjadi bening. Lemak di tempatkan di antara dua kaca gelas, suhu dinaikkan perlahan-lahan dan diamati suhu permulaan lebur dan suhu akhir lebur.

III.3.1.3. Penentuan indeks bias minyak

Indeks bias minyak diukur dengan menggunakan Refraktometer-ABBE. Suhu disesuaikan dengan suhu pengukuran. Adapun cara pengukuran adalah sebagai berikut :

Minyak diteteskan pada prisma bawah lebih kurang 3 tetes, kemudian diratakan. Prisma kemudian ditangkupkan, dan dia-

mati melalui teleskop sambil diatur supaya garis batas terfokus jelas. Garis batas dibuat berimpit dengan titik potong garis. Skala dibaca tiga kali, dengan perkiraan 4 desimal.

III.3.1.4. Penentuan bilangan iodium dari minyak

Ditimbang dengan teliti minyak sebanyak 0,1 - 0,5 gram dalam erlenmeyer bertutup. Ditambahkan 10 ml khloroform, dan 25 ml pereaksi Iodium-bromida dan dibiarkan di tempat yang gelap selama 30 menit, dengan kadang-kadang digojog. Kemudian ditambahkan 10 ml larutan kalium-iodida 15%, dan ditambahkan 50 - 100 ml air suling yang telah dididihkan dan didinginkan, dan segera dititrasi dengan larutan natrium thiosulfat 0,1 N, sampai larutan berwarna kuning pucat, kemudian ditambahkan 2 ml indikator pati. Titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang (a ml). Larutan blako yang dibuat dari 25 ml pereaksi iodium-bromida dan ditambah 10 ml air suling yang telah dididihkan dan didinginkan. Selanjutnya dititrasi dengan larutan Natrium thiosulfat 0,1 N (b - ml).

Bilangan iodium dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{(b - a) \text{ ml. } \times \text{ Normalitas thiosulfat } \times 12,691}{\text{berat lemak}}$$

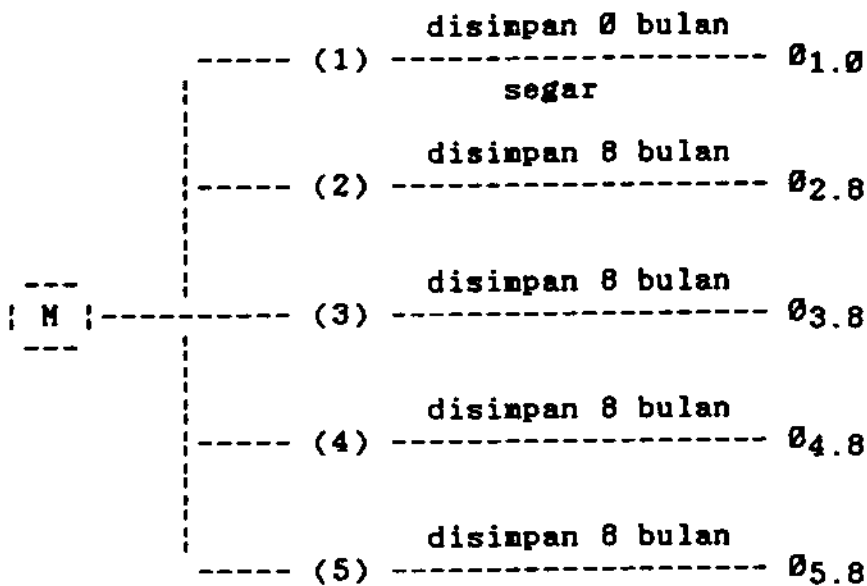
III.3.1.5. Penentuan bilangan peroksida dari minyak

Ditimbang dengan teliti 5,00 g contoh dalam 250 ml erlenmeyer bertutup, kemudian ditambahkan 30 ml. larutan asam asetat-kloroform (3 : 2). Larutan digoyang-goyang sampai bahan terlarut semua. Kemudian ditambah 0,5 ml. larutan jenuh Kalium-Iodida. Didiakan selama satu menit dengan kadang-kadang digoyang. Kemudian ditambahkan 30 ml air suling. Larutan tersebut dititrasi dengan larutan Natrium thiosulfat sampai warna kuning hampir hilang, lalu ditambahkan 0,5 ml indikator pati 1%. Titrasi dilanjutkan sampai warna biru mulai hilang (a ml). Bilangan peroksida dinyatakan dalam miliekivalen peroksida dalam setiap 1000 g contoh. Bilangan peroksida dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{a \text{ ml.} \times \text{Normalitas thiosulfat} \times 1000}{\text{berat contoh (g)}}.$$

III.3.2. Penentuan harga "P/S" dan derajat ketengikan minyak

III.3.2.1. Rancangan penelitian untuk penentuan harga "P/S" dan derajat ketengikan minyak : Control - Groub - Post test - Desigen.



Keterangan:

- M : minyak kacang atau minyak kelapa sawit
1. : minyak kacang segar (penyimpanan 0 bulan)
2. : minyak yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan antioksidan
3. : minyak yang disimpan 8 bulan dengan penambahan BHT
4. : minyak yang disimpan 8 bulan dengan penambahan TBHQ

5. : minyak yang disimpan 8 bulan dengan penambahan
- Ø. : penentuan derajat ketengikan atau harga "P/S".

III.3.2.2. Metilasi asam-asam lemak yang berada dalam minyak

Ke dalam labu alas bulat 100 ml., ditimbang dengan teliti 0,5 g minyak. Kemudian ditambah 4 ml. 1 N Natrium metanolat. Dipasang pendingin balik dan campuran di selam 5 menit. Kemudian didinginkan tanpa melepas pendingin. Setelah dingin, ditambahkan 5 ml kompleks boron trifluorida metanol (40% boron trifluorida), dengan menggunakan pipet dengan ball-pipet, supaya aman. Larutan kemudian direfluks selama 5 menit, didinginkan kembali tanpa melepas pendingin, dan kemudian ditambahkan 5 ml metanol melalui refluks. Labu kemudian dipenuhi dengan larutan jenuh natrium klorida dingin dan 3 ml sikloheksan. Labu ditutup kemudian dikocok, dan setelah didiamkan selama 1 jam, diambil fase organiknya, dan inilah yang akan disuntikkan ke GLC (Hamilton 1989).

III.3.2.3. Analisis minyak lemak dengan kromatografi gas

A. Dengan menggunakan alat "Varian Aerograph model 3700 Gas Chromatograph", dengan parameter yang digunakan adalah sebagai berikut :

KOLOM : 20% DEGS Chrom W 60/80

- panjang : 1,8 meter
- diameter dalam : 3 milimeter
- program suhu
 - suhu awal : 100°C
 - kecepatan kenaikan suhu : 5° setiap menit
 - suhu akhir : 190°C.

INJEKTOR

suhu : 200°C

DETEKTOR : Flame Ionization Detector

- suhu : 250°C
- Gas pembawa : Nitrogen
- Laju aliran : 30 ml/detik
- Gas pembakar : Hidrogen dan Udara
- Laju aliran : 30 ml/detik, dan 300/detik.
- Kepekaan detektor : 10^{-9}

REKORDER

- Kepekaan : 25 mV
- "Attenuator" : 512
- Kecepatan kertas : 300 mm/jam.

B. Dengan menggunakan Kromatografi Gas Perkin-Elmer F - 17, parameter yang digunakan adalah sebagai berikut :

Kolon : 15X LAC-2R-446 (DEGA cross - linked)

- Pendukung : Chromosorb W, 80/100 mesh
- Panjang : 2 meter
- Diameter dalam : 2,5 milimeter
- Suhu : 190°C

Detektor : FID

- Suhu : 250°C
- Tekanan Gas H₂ : 125 kN/m²
- Tekanan udara : 175 kN/m²

Gas : N₂

- Tekanan gas N₂ : 100 kN/m²

Suhu Injektor : 250°C

Rekorder

- Kepekaan : 1 mV
- Kecepatan kertas : 5 mm/menit
- Range : 100
- Attenuator : 512

Untuk minyak kacang : isothermal

Untuk minyak kelapa sawit: program suhu 100°/5°/men/190°C

III.3.2.4. Penentuan perbandingan kadar komponen "polyunsaturated" dengan komponen "saturated" menggunakan kromatografi G.C.

Dilakukan penentuan perbandingan kadar komponen "polyunsaturated" dengan kadar komponen "saturated" (P/S"), dengan cara membandingkan luas area di bawah puncak kromatogram komponen "polyunsaturated" dibandingkan dengan komponen "saturated". Menghitung luas area di bawah puncak dengan cara mengalikan tinggi puncak dengan lebar pada setengah tinggi.

III.3.2.5. Penentuan derajat ketengikan minyak

Penentuan derajat ketengikan minyak, dilakukan dengan menentukan kandungan peroksida dalam minyak, baik yang segar maupun yang disimpan tanpa antioksidan maupun dengan antioksidan. Adapun pelaksanaannya adalah sebagai berikut :

Contoh ditimbang dengan teliti sebanyak 5,00 gram lebih kurang 0,05 gram, kemudian di masukkan ke dalam erlenmeyer bertutup 250 ml., kemudian ditambah 30 ml larutan asam asetat khlorofom, dengan perbandingan (3 : 2). Larutan digoyang-goyang sampai bahan terlarut semua, baru ditambahkan ke dalamnya larutan jenuh kalium-iodida 0,5 ml, diadankan 1 menit dengan kadang-kadang digoyang, kemudian ditambah 30 ml. air suling. Setelah 1 menit, larutan dititrasi dengan larutan natrium thiosulfat 0,1 N sampai warna kuning hampir hilang, baru kemudian ditambah indika-

tor larutan pati 1% dan titrasi dilanjutkan sampai warna biru mulai hilang (a ml.). Derajat ketengikan dapat dihit-
tung dengan rumus :

$$\frac{a \text{ ml.} \times \text{normalitas natrium thiosulfat} \times 1000}{\text{berat contoh (g).}}$$

III.3.3. Penentuan pengaruh minyak terhadap kadar kholes- terol.

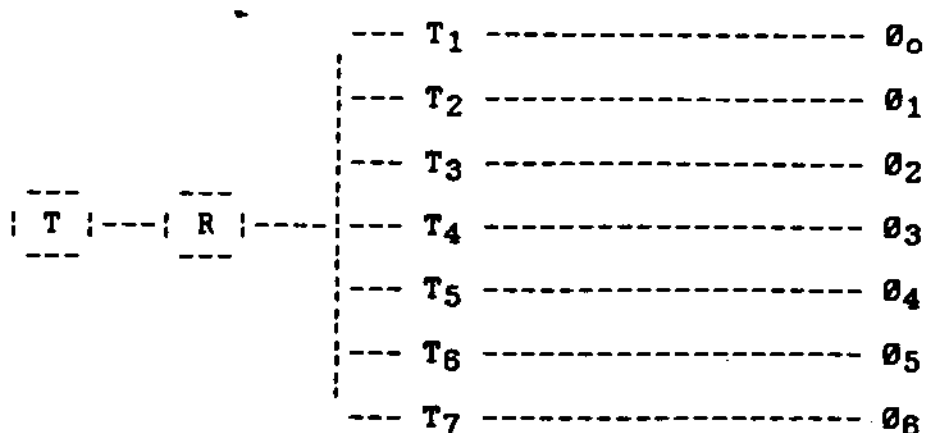
III.3.3.1. Seleksi binatang percobaan

Dalam penelitian ini, digunakan binatang percobaan tikus putih (*Rattus Norvegicus*).

Strain : Wistar
Jenis kelamin : jantan
Umur : 2 - 3 bulan
Jumlah : 42 ekor

Dari 42 ekor tikus, dibagi menjadi 7 kelompok secara random, sehingga tiap kelompok perlakuan, terdiri dari 6 ekor tikus. Lama perlakuan 5 minggu.

III.3.3.2. Rancangan penelitian untuk penentuan kadar kholesterol, Control - Group - Post test - Design



Keterangan:

- T : populer tikus menjadi kelompok perlakuan
- R : randomisasi menjadi kelompok perlakuan
- T₁ : tanpa perlakuan
- T₂ : pemberian kholesterol 1%
- T₃ : pemberian kholesterol 1% + minyak segar
- T₄ : pemberian kholesterol 1% + minyak yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan
- T₅ : pemberian kholesterol 1% + minyak yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01%
- T₆ : pemberian kholesterol 1% + minyak yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01%
- T₇ : pemberian kholesterol 1% + minyak yang disimpan 8 bulan + campuran BTH dan TBHQ 0,015%
- 0 : penentuan kadar kholesterol total dan kholesterol-HDL dalam serum tikus.

III.3.3.3. Pemberian diet pada tikus

1. Makanan tikus menurut Formula ITB.

- Tepung ikan	0,800 kg
- Tepung jagung	1,200 kg
- Tepung terigu	1,800 kg
- Tepung kacang hijau	0,700 kg
- Lenak sapi	0,400 kg
- Multivitamin ("Medion")	50,0 gram

Makanan dibuat berbentuk pelet, dengan menggunakan alat penggiling daging, kemudian dikeringkan dengan dijemur di bawah sinar matahari. Air minum yang diberikan adalah air PAM, tanpa mengalami proses lebih dulu. Makan diberikan ad libitum.

2. Kolesterol 1%, diberikan dalam bentuk suspensi dengan C.M.C., yang dihitung berdasarkan banyaknya makanan rata-rata sehari sampai kenyang adalah 10 gram. Jadi pemberian kolesterol 100 mg.

3. Diet minyak adalah 5% dari 10 gram yaitu 0,5 gram.

Setelah 5 minggu pemberian diet, dilakukan pengambilan sampel darah, dengan terlebih dulu tikus dipuaskan selama 12 - 14 jam, tetapi minum tetap diberikan.

III.3.3.4. Pengambilan sampel darah tikus

Tikus yang telah dipuaskan selama 12 - 14 jam, satu persatu di anestesi dengan eter. Sesudah kesadaran tikus hilang dan irama pernafasannya teratur, diambil sampel da-

rahnya secara intrakardial, dengan "disposable syringe" 5 cc. Darah yang diambil kurang lebih 4 ml, dimasukkan ke dalam tabung "venoject Collection Blood" tanpa diberi anti koagulan. Didiamkan selama 30 menit supaya serumnya menisah, dan selanjutnya dipusingkan 3000 rpm selama 10 menit supaya serum terisah sempurna. Untuk pemeriksaan kolesterol total dan kolesterol-HDL, diambil bagian yang jernih (serumnya).

III.3.3.5. Penentuan kolesterol total

Pelaksanaan:

1. Ke dalam tabung, dipipet serum sebanyak 0,02 ml.
2. Kemudian ke dalamnya ditambahkan larutan pereaksi 2,00 ml., dan dicampur baik-baik
3. Dibuat larutan blanko dari 2,00 ml. larutan pereaksi
4. Larutan sampel dan larutan blanko diinkubasikan selama 10 menit pada suhu 20 - 25°C atau 5 menit pada suhu 37°C.
5. Diamati dan dibaca kadar kolesterol-total pada photometer 4010 dengan panjang gelombang 620 nm.

III.3.3.6. Penentuan kholesterol-HDL

Pelaksanaan:

1. Pereaksi 1000 ul di masukkan ke dalam tabung pemsing
2. Kemudian ditambahkan sampel (serum) 500 ul dan akan terjadi kekurangan putih, lalu digojog
3. Campuran tersebut diinkubasikan selama 10 menit pada suhu kamar
4. Dipusingkan 4000 r.p.m. selama 10 menit atau 12.000 r.p.m. selama 2 menit
5. Supernatant yang jernih dipisahkan dan diambil 200 ul., lalu dimasukkan ke dalam tabung lain
6. Ke dalam tabung 5, ditambahkan larutan pereaksi 2000 ul. dan buat blanko yang terdiri dari 200 ul air suling yang disuling kembali, dan ditambah larutan pereaksi 2000 ul. Blanko maupun sampel diinkubasikan selama 10 menit, pada suhu 20 - 25°C, atau 5 menit pada suhu 37°C.
7. Blanko dan sampel kemudian dianati pada photometer 4010, dan langsung dapat dibaca kadar kholesterol-HDL nya, pada panjang gelombang 546 nm.

BAB IV
HASIL PERCOBAAN

IV.1 Hasil penentuan sifat fisika dan sifat kimia minyak kacang dan minyak kelapa sawit

TABEL I
HASIL PENENTUAN BOBOT JENIS, JARAK LEBUR, INDEKS BIAS BILANGAN IODIUM, BILANGAN PEROKSIDA, DARI MINYAK KACANG DAN MINYAK KELAPA SAWIT

No.	Parameter	Minyak kacang	Minyak kelapa sawit
1.	Bobot jenis	0,9170	0,8698
2.	Jarak lebur	2 ^o - 10 ^o C	35 ^o - 45 ^o C
3.	Indeks bias	n ²⁹ _D = 1.4678	n ⁴⁷ _D = 1.4565
4.	Bilangan Iodium	92.07	48.49
5.	Bilangan Peroksida	6.11	3.18

Keterangan :

- Bobot jenis minyak kacang diukur pada suhu 27,5^oC
- Bobot jenis minyak kelapa sawit diukur pada suhu 45^oC
- n²⁹_D : indeks bias pada suhu pengukuran 29^oC
- n⁴⁷_D : indeks bias pada suhu pengukuran 47^oC
- Bilangan peroksida (jumlah miliekivalen peroksida dalam 1000 gram sampel).

IV.2. Hasil penentuan perbandingan "P/S" minyak kacang dan minyak kelapa sawit

TABEL II

HASIL PENENTUAN PERBANDINGAN KOMPONEN "POLYUNSATURATED" DENGAN KOMPONEN "SATURATED" MINYAK KACANG SEGAR DAN YANG DISIMPAN 8 BULAN, MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI GAS

Kel.	1	2	3	4	5
Replik	Segar	0	+BHT	+TBHQ	+BHT+ TBHTQ
1.	1,5571	0,6624	0,6645	0,9572	0,9068
2.	1,5250	0,8054	0,7627	1,0957	1,0763
3.	1,6732	0,7120	0,5826	0,6591	0,8518
4.	1,5725	0,6823	0,5529	0,5696	0,7682
5.	1,3079	0,4704	0,6650	0,6624	0,8064
\bar{X}	1.5271	0,6665	0,6455	0,7888	0,8819
SD	0,120	0,109	0,073	0,202	0,108

Keterangan :

1 = minyak kacang segar

2 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan, tanpa penambahan antioksidan.

3 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01 %

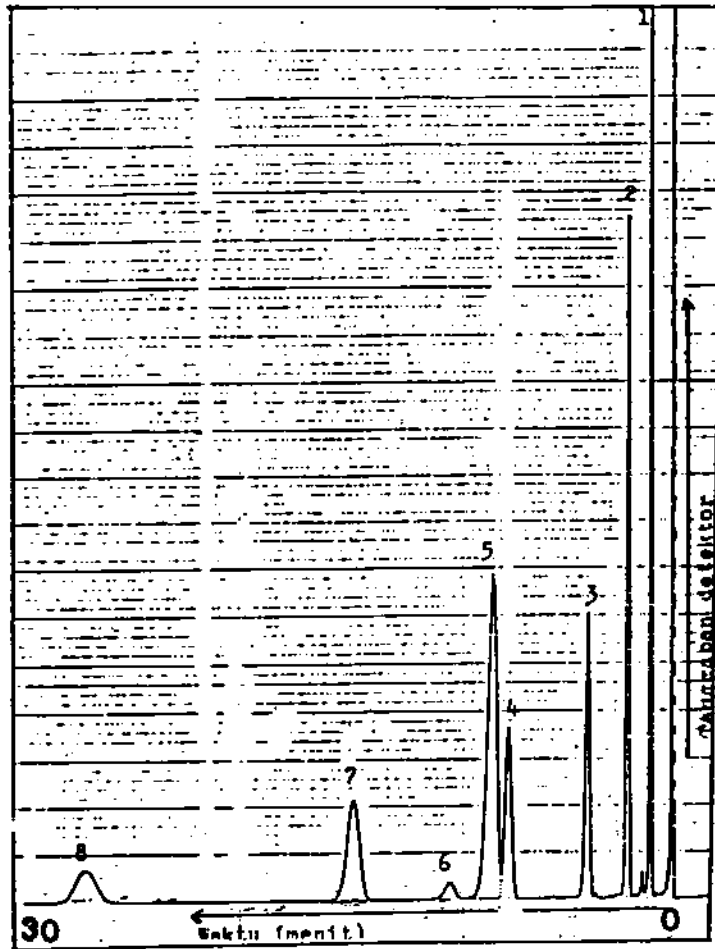
4 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01 %

5 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan + BHT + TBHQ 0,015 %.

\bar{X} = rata-rata

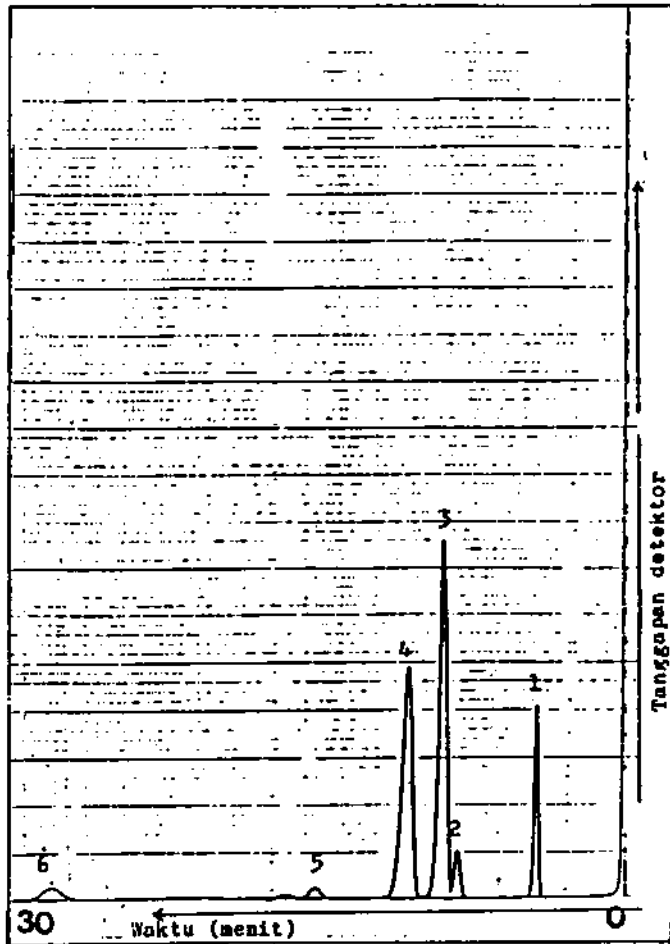
SD = standard deviasi

1,5571 dan seterusnya = harga "P/S"

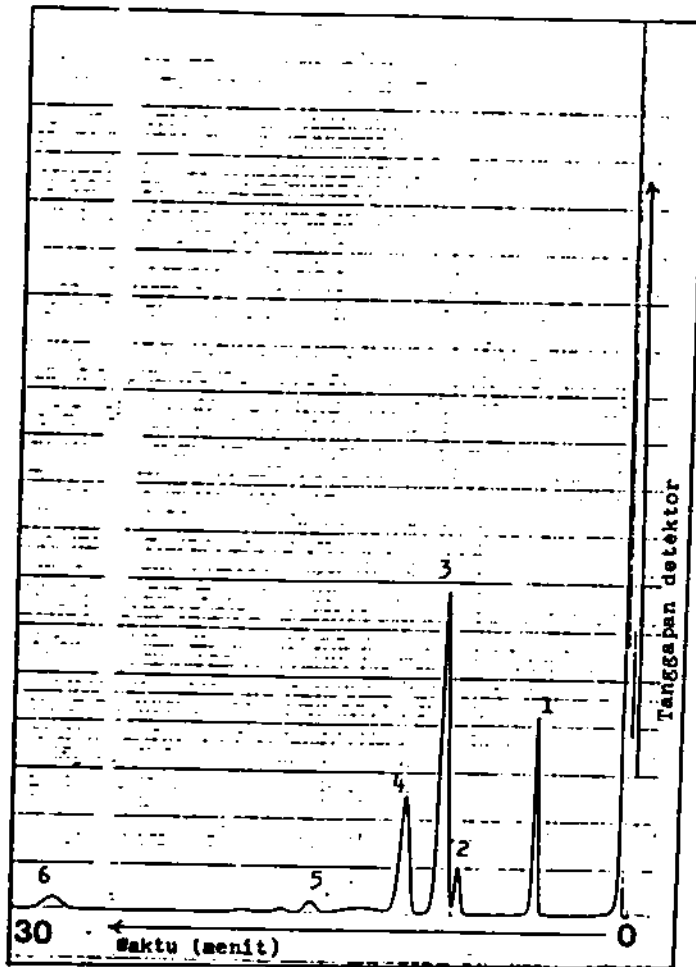


Gambar 9. Kromatogram ester metil asam lemak standard, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu kolom 190°C .

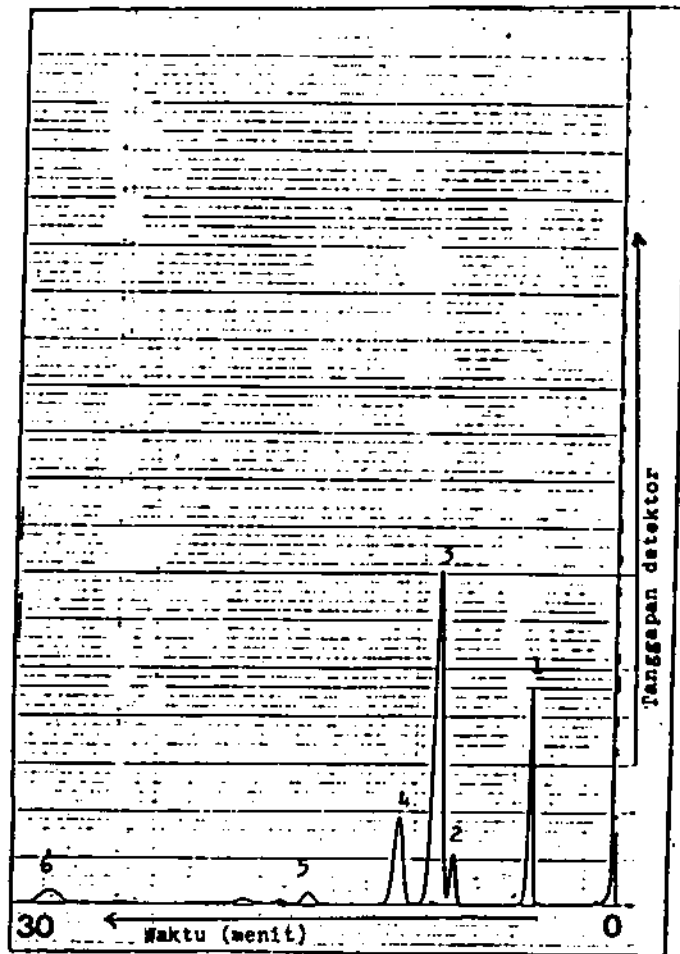
1. asam laurat ($\text{C}_{12:0}$); 2. asam miristat ($\text{C}_{14:0}$); 3. asam palmitat ($\text{C}_{16:0}$); 4. asam stearat ($\text{C}_{18:0}$); 5. asam oleat ($\text{C}_{18:1}$); 6. asam linoleat ($\text{C}_{18:2}$); 7. asam arakhidat ($\text{C}_{20:0}$); 8. asam behenat ($\text{C}_{22:0}$).



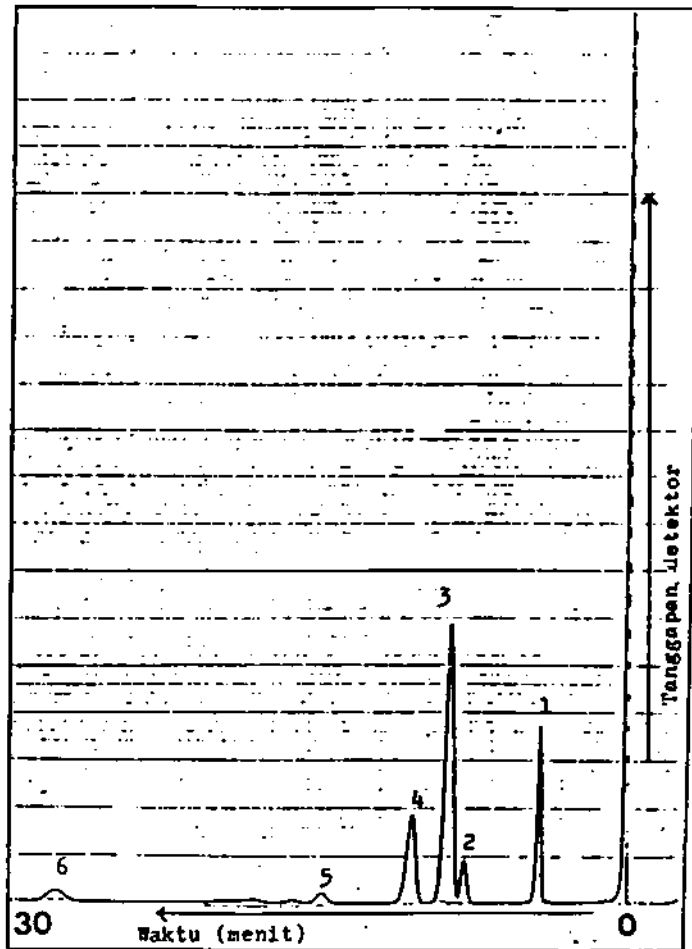
Gambar 10. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang segar, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu kolom 190°C . 1. asam palmitat ($\text{C}_{16}:\text{g}$); 2. asam stearat ($\text{C}_{18}:\text{g}$); 3. asam oleat ($\text{C}_{18}:\text{1}$); 4. asam linoleat ($\text{C}_{18}:\text{2}$); 5. asam arakhidat ($\text{C}_{20}:\text{g}$); 6. asam behenat ($\text{C}_{22}:\text{g}$).



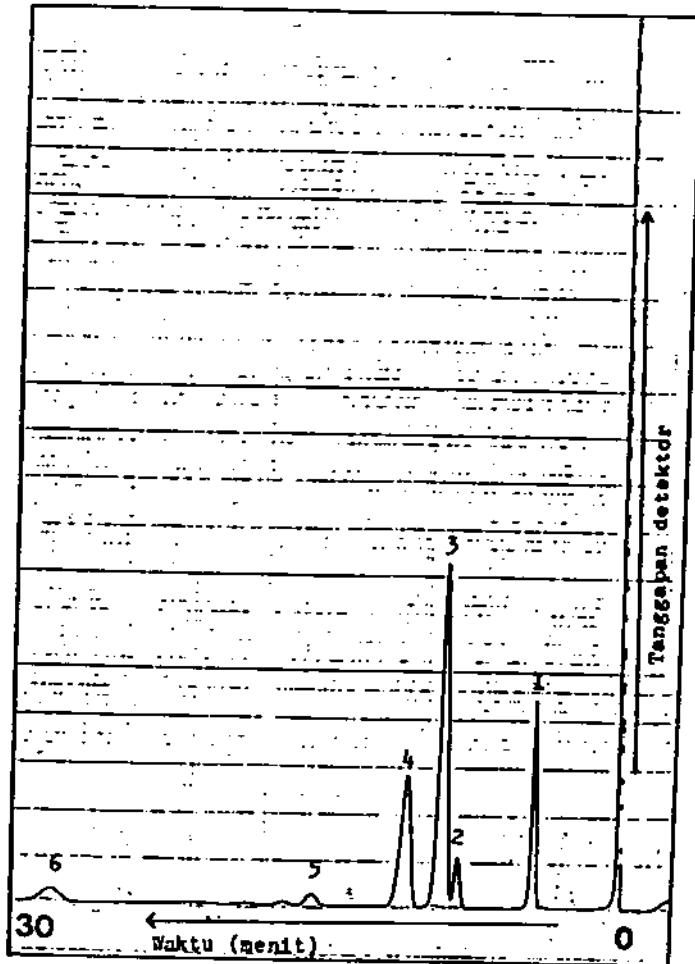
Bambar 11. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 152 LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu kolom 190°C .
 1. asam palmitat ($\text{C}_{16}:\text{0}$); 2. asam stearat ($\text{C}_{18}:\text{0}$)
 3. asam oleat ($\text{C}_{18}:\text{1}$); 4. asam linoleat ($\text{C}_{18}:\text{2}$);
 5. asam arakhidat ($\text{C}_{20}:\text{0}$); 6. asam behenat ($\text{C}_{22}:\text{0}$).



Gambar 12. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan ditambah BHT B,01%, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu kolom 190°C .
 1. asam palmitat ($\text{C}_{16}:\text{0}$); 2. asam stearat ($\text{C}_{18}:\text{0}$)
 3. asam oleat ($\text{C}_{18}:\text{1}$); 4. asam linoleat ($\text{C}_{18}:\text{2}$);
 5. asam arakhidat ($\text{C}_{20}:\text{0}$); 6. asam behenat ($\text{C}_{22}:\text{0}$).



Saabar 13. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kacang yang disiapkan 8 bulan dengan ditambab TBHQ 0,01%, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 9DEGA cross linked), suhu kolom 190°C.
 1. asam palmitat (C_{16:0}); 2. asam stearat (C_{18:0})
 3. asam oleat (C_{18:1}); 4. asam linoleat (C_{18:2});
 5. asam arakhidat (C_{20:0}); 6. asam behenat (C_{22:0}).



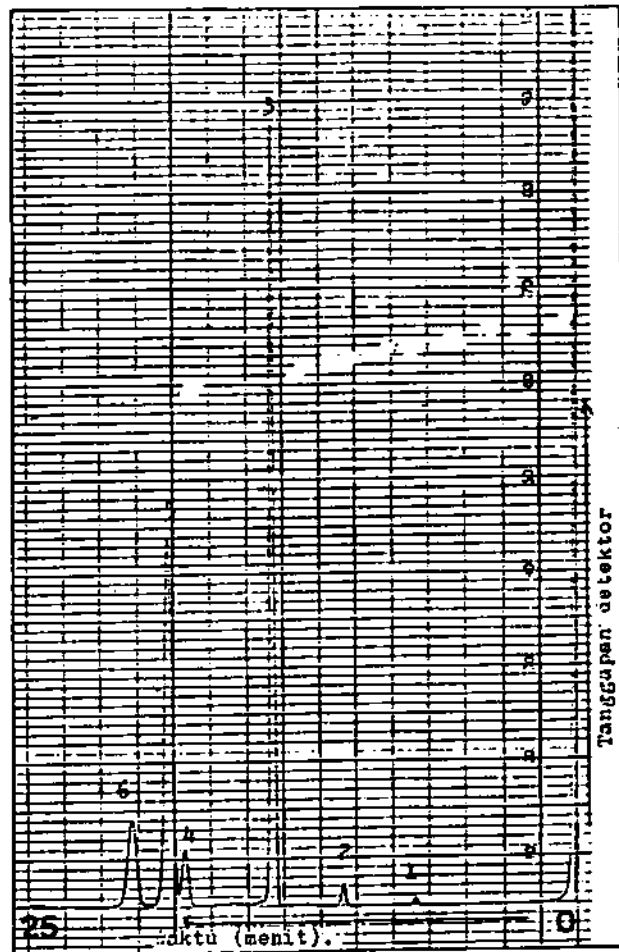
Gambar 14. Kromatogram ester etil asam lemak dari minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan ditambah campuran BHT dan TBHQ 0,015%, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : *packed column* 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu kolom 190°C . 1. asam palmitat ($\text{C}_{16:0}$); 2. asam stearat ($\text{C}_{18:0}$); 3. asam oleat ($\text{C}_{18:1}$); 4. asam linoleat ($\text{C}_{18:2}$); 5. asam arakhidat ($\text{C}_{20:0}$) 6. asam behenat ($\text{C}_{22:0}$).

TABEL III
HASIL PENENTUAN PERBANDINGAN KOMPONEN "POLYUNSATURATED"
DENGAN KOMPONEN "SATURATED" MINYAK KELAPA SAWIT SEGAR DAN
YANG DISIMPAN 8 BULAN, MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI GAS

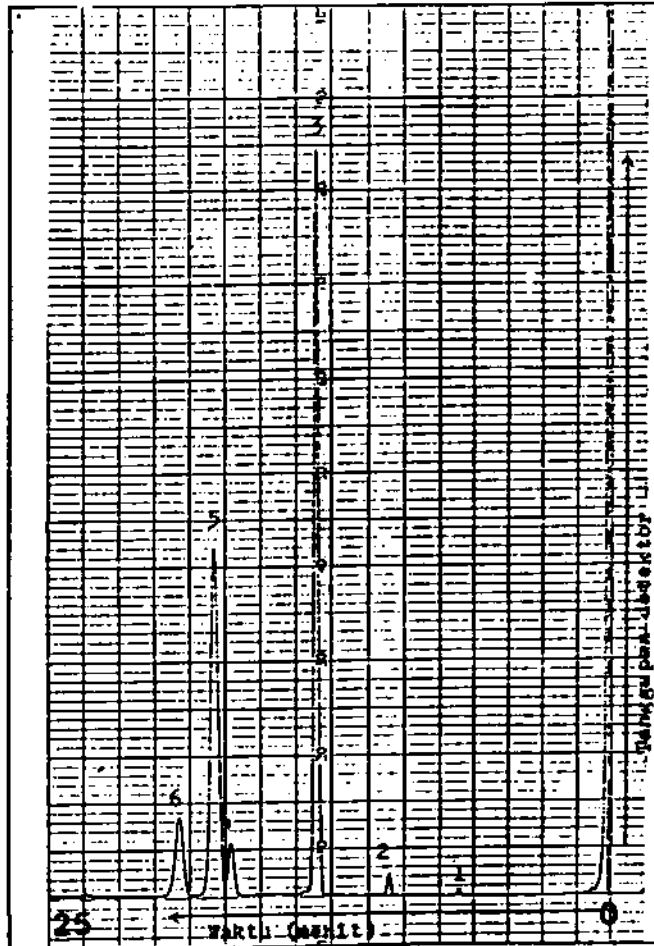
Kel.	1	2	3	4	5
Replik	Segar	Ø	+BHT	+TBHQ	+BHT+ TBHTQ
1.	Ø,2211	Ø,1936	Ø,1913	Ø,1971	Ø,1917
2.	Ø,2227	Ø,1903	Ø,2028	Ø,2051	Ø,2017
3.	Ø,2109	Ø,1739	Ø,1918	Ø,1902	Ø,1927
4.	Ø,2234	Ø,2001	Ø,1929	Ø,2021	Ø,1939
5.	Ø,2189	Ø,1904	Ø,1911	Ø,1982	Ø,2013
\bar{X}	Ø,2194	Ø,1898	Ø,1939	Ø,1985	Ø,1962
SD	Ø,0045	Ø,0086	Ø,0043	Ø,0050	Ø,0043

Keterangan :

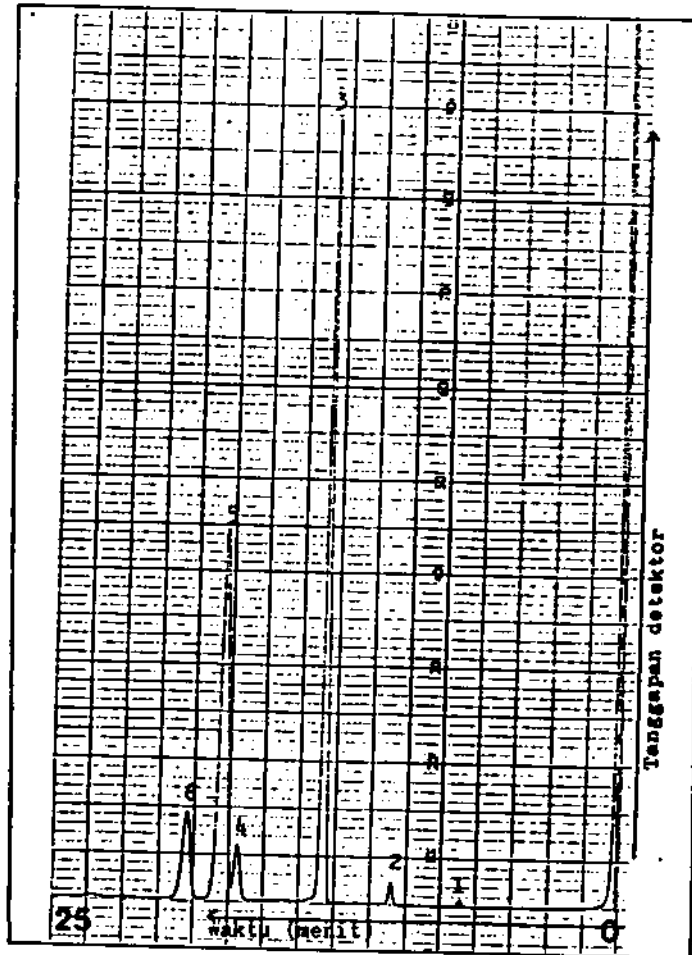
- 1 = minyak kelapa sawit segar
- 2 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, tanpa penambahan antioksidan
- 3 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, + BHT 0,01%
- 4 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, + TBHQ 0,01%
- 5 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + BHT + TBHQ 0,015%.
- \bar{X} = rata-rata
- SD = standard deviasi
- Ø,2211 dan seterusnya = harga "P/S".



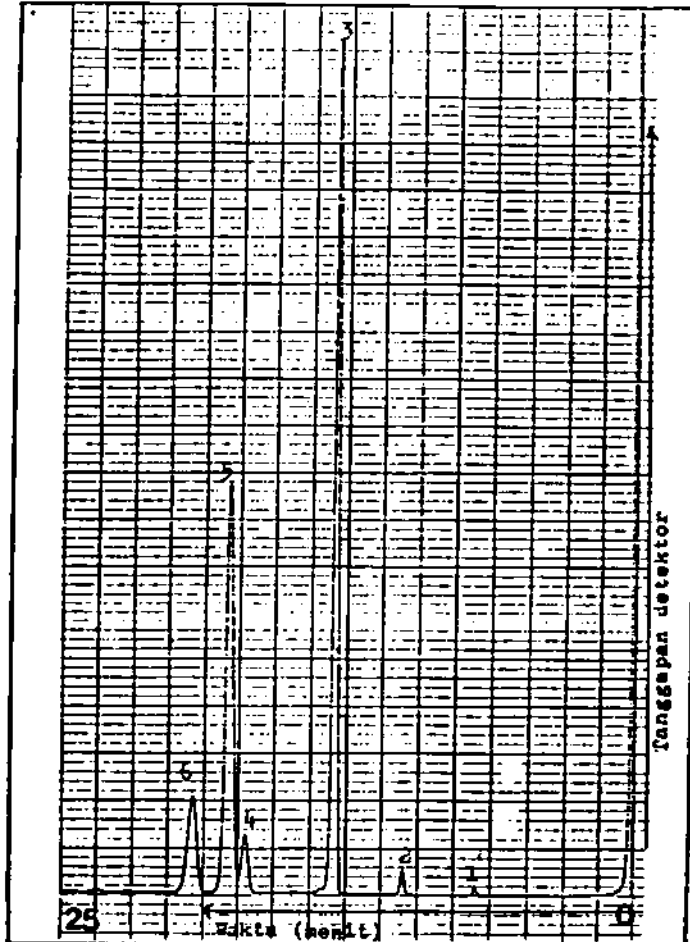
Baahar 15. Kromatogram ester etil asam lemak dari minyak kelapa sawit segar, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu awal 180°C, kenaikan suhu 5° per menit, suhu akhir 190°C. 1. asam laurat (C_{12:0}); 2. asam miristat (C_{14:0}); 3. asam palmitat (C_{16:0}); 4. asam stearat (C_{18:0}); 5. asam oleat (C_{18:1}); 6. asam linoleat (C_{18:2}).



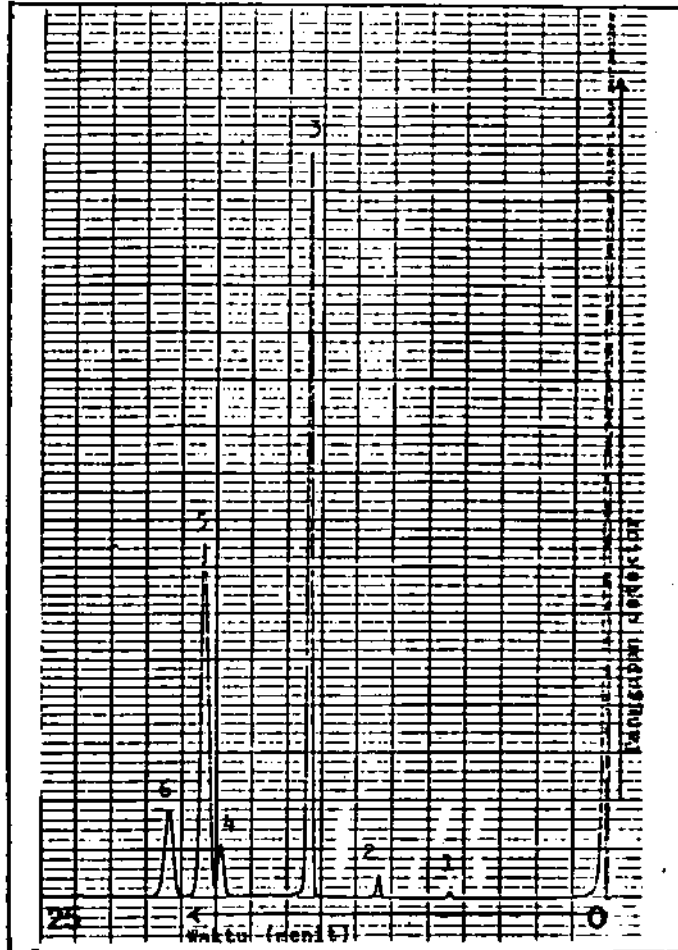
Gambar 16. Kromatogram ester etil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan antioksidan, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-ZR-446 (DEGA cross linked), suhu awal 100°C , kenaikan suhu 5° per menit, suhu akhir 190°C . 1. asam laurat ($\text{C}_{12:0}$); 2. asam miristat ($\text{C}_{14:0}$); 3. asam palmitat ($\text{C}_{16:0}$); 4. asam stearat ($\text{C}_{18:0}$); 5. asam oleat ($\text{C}_{18:1}$); 6. asam linoleat ($\text{C}_{18:2}$).



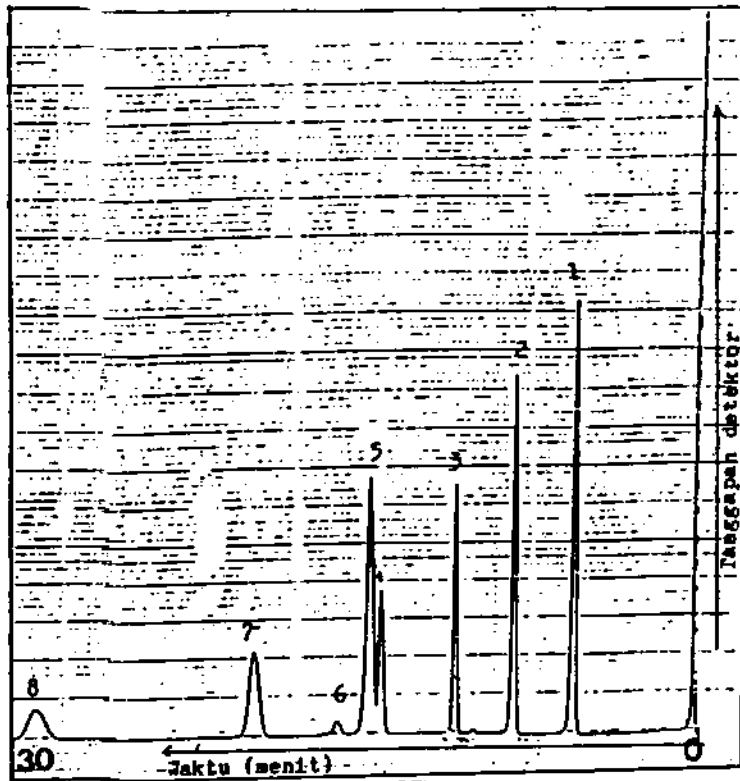
Gambar 17. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan penambahan BHT 8,01%, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu awal 100°C, kenaikan suhu 5° per menit, suhu akhir 190°C. 1. asan laurat (C_{12:0}); 2. asan miristat (C_{14:0}); 3. asan palmitat (C_{16:0}); 4. asan stearat (C_{18:0}); 5. asan oleat (C_{18:1}); 6. asan linoleat (C_{18:2}).



Baabar 18. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan penambahan TBHQ 0,01%, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu awal 100°C, kenaikan suhu 5° per menit, suhu akhir 190°C. 1. asam laurat (C_{12:0}); 2. asam miristat (C_{14:0}); 3. asam palmitat (C_{16:0}); 4. asam stearat (C_{18:0}); 5. asam oleat (C_{18:1}); 6. asam linoleat (C_{18:2}).



Saibar 19. Kromatogram ester metil asam lemak dari minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan penambahan campuran BHT dan TBHQ 0,015%, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu awal 180°C, kenaikan suhu 5° per menit, suhu akhir 190°C. 1. asam laurat (C_{12:0}); 2. asam miristat (C_{14:0}); 3. asam palmitat (C_{16:0}); 4. asam stearat (C_{18:0}); 5. asam oleat (C_{18:1}); 6. asam linoleat (C_{18:2}).



Gambar 20. Kromatogram ester metil asam lemak standard, dianalisis dengan kromatografi gas, dengan kondisi sebagai berikut : "packed column" 15% LAC-2R-446 (DEGA cross linked), suhu awal 100°C, kenaikan 5° per menit, suhu akhir 190°C. 1. asam laurat (C_{12:0}); 2. asam miristat (C_{14:0}); 3. asam palmitat (C_{16:0}); 4. asam stearat (C_{18:0}); 5. asam oleat (C_{18:1}); 6. asam linoleat (C_{18:2}); 7. asam arakidat (C_{20:0}); dan asam behenat (C_{22:0}).

IV.3. Hasil penentuan derajat ketengikan minyak kacang dan minyak kelapa sawit

TABEL IV
HASIL PENENTUAN DERAJAD KETENGIKAN MINYAK KACANG SEGAR
DENGAN YANG DISIMPAN 8 BULAN

Kel.	1	2	3	4	5
Replik	Segar	Ø	+BHT	+TBHQ	+BHT+ TBHTQ
1.	6,036	318,282	309,614	310,151	302,847
2.	6,532	352,929	337,794	331,644	313,267
3.	6,735	343,325	332,982	315,882	320,675
4.	6,521	359,152	327,408	326,388	318,762
5.	6,864	379,396	331,459	339,040	327,041
6.	6,749	300,553	344,650	316,438	325,893
\bar{X}	6,573	355,606	330,652	323,257	318,048
SD	0,269	21,416	10,849	10,015	8,265

Keterangan :

1 = minyak kacang segar

2 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan, tanpa penambahan antioksidan.

3 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01 %

4 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01 %

5 = minyak kacang yang disimpan 8 bulan + BHT + TBHQ 0,015 %.

Derjad ketengikan : jumlah niliekivalen peroksida per 1000 gram sampel.

\bar{X} = rata-rata

SD = standard deviasi

6,036 dan seterusnya = derajat ketengikan.

TABEL V
HASIL PENENTUAN DERAJAD KETENGIKAN MINYAK
KELAPA SAWIT SEGAR DENGAN YANG DISIMPAN 8 BULAN

Kel.	1	2	3	4	5
Replik	Segar	Ø	+BHT	+TBHQ	+BHT+ TBHTQ
1.	3,269	59,140	18,974	18,569	17,400
2.	3,060	50,221	21,803	16,539	18,407
3.	3,521	48,729	24,779	19,824	20,849
4.	3,195	51,818	18,050	20,849	26,367
5.	3,235	43,688	28,666	18,606	21,879
6.	3,439	61,897	17,808	22,873	18,579
\bar{X}	3,286	52,599	21,680	19,477	20,557
SD	0,153	6,214	3,956	1,984	3,000

Keterangan :

1 = minyak kelapa sawit segar

2 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, tanpa penambahan antioksidan

3 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, + BHT 0,01%

4 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, + TBHQ 0,01%

5 = minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + BHT + TBHQ 0,015 %.

Derajat ketengikan : jumlah miliekivalen peroksida per 1000 gram sampel.

\bar{X} = rata-rata

SD = standard deviasi

3,269 dan seterusnya = derajat ketengikan.

IV.4. Hasil penentuan kadar kolesterol

TABEL VI

HASIL PENENTUAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN

MINYAK KACANG YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPEL	1	2	3	4	5	6	7
REPLIKASI	KONTROL	KOLESTEROL 1%	MK SEGAR + KOLESTEROL 1%	MK + O + KOLESTEROL 1%	MK + BHT + KOLESTEROL 1%	MT+ TBHQ + KOLESTEROL 1%	MK+BHT+TBHQ+ KOLESTEROL 1%
1	65	70	63	69	64	61	64
2	62	75	69	75	87	71	77
3	76	60	59	75	60	64	69
4	70	70	64	63	66	72	71
5	61	78	70	68	63	69	71
6	66	70	71	67	78	63	59
\bar{x}	66,66	70,50	66,83	69,50	69,66	66,66	68,50
SD	5,088	5,590	4,139	4,311	9,603	4,190	5,708

MK = minyak kacang 5%; O = tanpa penambahan antioksidan; BHT = ditambah BHT 0,01%;

TBHQ = ditambah TBHQ 0,01%; BHT + TBHQ = ditambah campuran BHT dan TBHQ 0,015%;

 \bar{x} = rata-rata; SD = standard deviasi.

TABEL VII
HASIL PENENTUAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN
MINYAK KELAPA SAWIT YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN
DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPEL	1	2	3	4	5	6	7
REPLIKASI	KONTROL	KHOLESTEROL 1%	MKS SEGAR + KHOLESTEROL 1%	MKS + O + KHOLESTEROL 1%	MKS + O + KHOLESTEROL 1%	MKS+TBHQ + KHOLESTEROL 1%	MKS+BHT+TBHQ+ KHOLESTEROL 1%
1	65	70	65	73	75	69	64
2	62	75	67	61	67	70	53
3	76	60	62	67	68	64	60
4	70	70	60	52	60	69	65
5	61	78	64	62	60	73	60
6	66	70	68	65	63	63	60
\bar{X}	66,66	70,50	63,00	63,33	66,66	69,33	60,33
SD	5,088	5,590	2,581	6,394	4,349	5,120	3,858

MKS= minyak kelapa sawit 5%; O = tanpa penambahan antioksidan; BHT = ditambah BHT 0,01%;

TBHQ = ditambah TBHQ 0,01%; BHT + TBHQ = ditambah campuran BHT dan TBHQ 0,015%;

\bar{X} = rata-rata; SD = standard deviasi.

TABEL VIII

HASIL PENENTUAN KADAR KOLESTEROL-HDL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERTAN

MINYAK KACANG YANG DISIMPAN 6 BULAN, DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPEL	1	2	3	4	5	6	7
REPLIKASI	KONTROL	KHOLESTEROL 1%	MK SEGAR + KHOLESTEROL 1%	MK +O + KHOLESTEROL 1%	MK + BHT + KHOLESTEROL 1%	MK+ TBHQ + KHOLESTEROL 1%	MK+BHT+TBHQ+ KHOLESTEROL 1%
1	32,5	22,7	42,9	39,8	34,1	31,8	45,5
2	35,1	34,4	54,8	35,7	39,8	36,8	48,6
3	35,7	32,8	37,7	48,3	39,8	29,2	58,6
4	42,2	29,9	42,3	53,9	43,8	32,5	52,6
5	32,1	29,9	43,4	37,7	45,8	44,5	44,5
6	35,5	29,9	48,3	34,1	34,1	32,1	42,5
\bar{X}	35,51	29,43	43,57	34,43	39,38	34,35	45,85
SD	3,387	3,662	5,188	6,491	4,418	4,954	3,957

MK = minyak kacang 5%; O = tanpa penambahan antioksidan; BHT = ditambah BHT 0,01%;

TBHQ = ditambah TBHQ 0,01%; BHT + TBHQ = ditambah campuran BHT dan TBHQ 0,015%;

\bar{X} = rata-rata; SD = standard deviasi.

TABEL IX

HASIL PENENTUAN KADAR KOLESTEROL-HDL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN
 MINYAK KELAPA SAWIT YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN
 DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPel	1	2	3	4	5	6	7
REPLIKASI	KONTROL	KOLESTEROL 1%	MKS SEGAR + KOLESTEROL 1%	MKS + O + KOLESTEROL 1%	MKS + BHT + KOLESTEROL 1%	MKS+ TBHQ+ KOLESTEROL 1%	MKS+BHT+TBHQ+ KOLESTEROL 1%
1	32,5	22,7	48,2	43,8	38,5	26,3	34,4
2	35,1	34,4	48,7	32,1	25,8	29,9	28,8
3	35,7	32,8	36,3	39,9	23,7	22,1	25,4
4	42,2	29,9	25,7	34,1	26,9	26,3	25,3
5	32,1	29,9	48,5	42,2	22,1	27,9	21,4
6	35,5	29,9	32,4	31,2	25,8	25,3	25,4
\bar{Y}	35,51	29,43	37,38	37,21	25,88	26,38	25,45
SD	3,387	3,662	7,166	4,957	2,521	2,386	4,437

MKS= minyak kelapa sawit 5%; O = tanpa penambahan antioksidan; BHT = ditambah BHT 0,01%;

TBHQ = ditambah TBHQ 0,01%; BHT + TBHQ = ditambah campuran BHT dan TBHQ 0,015%;

\bar{Y} = rata-rata; SD = standard deviasi.

BAB V

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan penentuan sifat fisiko kimia dari minyak kacang dan minyak kelapa sawit segar, penentuan harga "P/S" dari minyak kacang dan minyak kelapa sawit segar dan yang disimpan 8 bulan, dengan dan tanpa penambahan antioksidan, derajat ketengikan minyak kacang dan minyak kelapa sawit segar dan yang disimpan 8 bulan, dengan dan tanpa antioksidan, penetapan kadar kolesterol total dan kolesterol-HDL dalam serum tikus, setelah mengkonsumsi minyak kacang dan minyak kelapa sawit segar dan yang sudah disimpan 8 bulan, dengan dan tanpa antioksidan.

Penentuan sifat fisiko kimia meliputi penentuan bobot jenis minyak, jarak lebur, indeks bias, bilangan iodium dan bilangan peroksida.

Hasil penentuan bobot jenis untuk minyak kacang, didapat 0,9170 sedangkan untuk minyak kelapa sawit adalah 0,8696, yang diukur pada suhu 27,5°C, (untuk minyak kacang), dan suhu 45°C (untuk minyak kelapa sawit). Sedangkan pada standard AOCS yang dianjurkan (Swern, D., 1964), bobot jenis untuk minyak kacang adalah 0,910-0,915 (pada suhu pengukuran 25°C), dan untuk kelapa sawit 0,896-0,901 (pada suhu pengukuran 25°C). Perbedaan hasil yang didapat kemungkinan disebabkan oleh karena suhu pengukuran yang

tidak sama, dan jenis kacang dan jenis kelapa sawit yang menghasilkan minyak tidak sama.

Jarak lebur yang didapat untuk minyak kacang adalah 2° - 10° C, dan untuk minyak kelapa sawit adalah 35° - 45° C. Hal ini sesuai dengan konsistensi dari minyak kacang yang cair pada suhu kamar dan minyak kelapa sawit yang konsistensinya pada suhu kamar setengah padat. Berdasarkan kandungan asam lemaknya, maka terdapat perbedaan kandungan asam lemak tidak jenuh (asam oleat dan asam linoleat) yang agak besar. Untuk minyak kacang mengandung 81,9%, sedangkan untuk minyak kelapa sawit mengandung 47,6%. Minyak yang mengandung asam lemak tidak jenuh lebih besar, konsistensinya lebih cair pada suhu kamar (Weiss, T.J., 1970).

Pada penentuan indeks bias, untuk minyak kacang didapat 1.4678 (pada suhu 29° C), sedangkan untuk minyak kelapa sawit 1.4585 (pada suhu 47° C). Pada standard AOCS yang dianjurkan, indeks bias untuk minyak kacang 1.467-1.470 (pada suhu 25° C), sedangkan untuk minyak kelapa sawit adalah 1.453-1.456 (pada suhu 40° C) (Swern, D., 1964). Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan karena pengukuran pada suhu yang tidak sama, dan kemungkinan juga karena jenis kacang dan kelapa sawitnya tidak sama.

Bilangan iodium yang didapat untuk minyak kacang 92,07, sedangkan untuk minyak kelapa sawit adalah 48,49, sedangkan pada standard AOCS yang dianjurkan, untuk minyak kacang adalah 84-100, dan untuk minyak kelapa sawit adalah

44-58 (Swern, D., 1964). Jadi bilangan iodium yang didapat dari penelitian ini, sesuai dengan standard AOCS yang dianjurkan. Bilangan iodium untuk minyak kacang lebih besar daripada minyak kelapa sawit, hal ini sesuai dengan kandungan asam lemak tidak jenuh untuk minyak kacang (81,9%), yang lebih besar dari pada kandungan asam lemak minyak kelapa sawit (47,6%) (Weiss, T.J. 1970).

Bilangan peroksida yang didapat dari penelitian ini adalah 8.11 untuk minyak kacang, dan 3,18 untuk minyak kelapa sawit. Perbedaan ini kemungkinan dari proses pembuatan dari kedua minyak tersebut yang berbeda kondisinya. Untuk minyak kacang, proses pembuatannya masih tradisional sekali, sehingga kemungkinan terikutnya bahan-bahan yang mempercepat terjadinya otoksidasi lebih besar, sehingga bilangan peroksida yang didapat lebih besar dari pada minyak kelapa sawit. Apabila dilihat dari kandungan asam lemak tidak jenuh janaknya, maka pada minyak kacang juga lebih besar (30,9%) bila dibandingkan dengan minyak kelapa sawit (10%) (Weiss, T.J., 1970). Dengan sendirinya, kecepatan otoksidasinya juga lebih cepat.

Berdasarkan penentuan sifat fisiko kimia tersebut di atas, dapat dinyatakan bahwa minyak kacang dan minyak kelapa sawit yang diteliti dapat dikatakan baik.

Pada penentuan harga "P/S", dapat dihitung dari kromatogram yang dihasilkan dari kromatografi gas.

Jumlah kromatogram yang terjadi, untuk minyak kacang adalah enam buah, yaitu asam palmitat, asam stearat, asam oleat, asam linoleat, asam arakhidat dan asam behenat. Menurut komposisi asam lemak minyak kacang dari (Weiss, T.J., 1970), didapat kandungan asam lemak sebanyak tujuh buah yaitu asam palmitat, asam stearat, asam oleat, asam linoleat, asam arakhidat, asam behenat dan asam lignoserat. Asam lignoserat tidak muncul dalam kromatogram, hal ini disebabkan adanya kemungkinan penahanan asam lignoserat tersebut oleh kolom. Sedangkan kromatogram yang terjadi untuk minyak kelapa sawit adalah enam buah, yaitu asam laurat, asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam oleat dan asam linoleat. Menurut komposisi dari (Weiss, T.J., 1970), kandungan asam lemak dari minyak kelapa sawit adalah 8 buah, yaitu asam laurat, asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam oleat, asam linoleat, asam arakhidat dan asam eicosenoat. Hal ini kemungkinan karena kadarnya yang kecil atau respon pada detektornya sangat kecil.

Pada penelitian ini, dilakukan penentuan harga perbandingan relatif komponen "polyunsaturated" dengan komponen "saturated" (harga "P/S") relatif, dengan cara membandingkan "peak area" kromatogram komponen "polyunsaturated" dengan "peak area" kromatogram komponen "saturated". Sebagai komponen "polyunsaturated" pada minyak kacang adalah asam linoleat, sedangkan komponen "saturated"-nya adalah

asam palmitat, asam stearat, asam arakhidat dan asam behenat. Komponen "polyunsaturated" untuk minyak kelapa sawit adalah asam linoleat, sedangkan komponen "saturated" nya adalah asam laurat, asam miristat, asam palmitat dan asam stearat.

Untuk mengukur "peak area" tiap-tiap kromatogram yang terjadi, dalam penelitian ini dipilih cara mengalikan tinggi "peak" dengan lebar pada setengah tinggi. Penghitungan "peak area" dengan cara mengalikan tinggi "peak" dengan lebar pada setengah tinggi, relatif lebih banyak digunakan. Di samping itu, cara ini cukup teliti, dan reliabilitasnya tinggi (Grob, R.L., 1977), bila dibandingkan dengan cara manual yang lain.

Dari hasil penentuan harga "P/S" minyak kacang, dapat dinyatakan bahwa :

Ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara harga "P/S" rata-rata minyak kacang segar, dengan minyak kacang yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan, maupun yang ditambah BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ. Berarti selama penyimpanan, minyak kacang mengalami penurunan harga "P/S". Tetapi, tidak ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara harga "P/S" rata-rata minyak kacang yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan, maupun yang ditambah BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ. Berarti, antioksidan yang ditambahkan tidak dapat mempertahankan harga "P/S" minyak kacang.

Pada penentuan harga "P/S" minyak kelapa sawit, dinyatakan bahwa :

Ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$) antara harga "P/S" rata-rata minyak kelapa sawit segar dengan harga "P/S" rata-rata minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan, maupun yang ditambah BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ. Berarti, selama penyimpanan, terjadi penurunan harga "P/S" minyak kelapa sawit. Tetapi, tidak ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$) antara harga rata-rata "P/S" minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan, dengan minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan ditambah BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ. Berarti, antioksidan yang ditambahkan tidak dapat dipertahankan harga "P/S" minyak kelapa sawit.

Pada penentuan derajat ketengikan minyak kacang dan minyak kelapa sawit segar dan yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa penambahan antioksidan, digunakan metode penentuan kandungan peroksida. Untuk mendapatkan derajat ketengikan minyak yang sesungguhnya, perlu dilakukan penentuan kandungan lain pada minyak yang menyebabkan ketengikan selain peroksida, yaitu adanya malondialdehid dan epoksi aldehid. Malondialdehid dapat ditentukan dengan uji TBA (asam tiobarbiturat), sedangkan untuk epoksi aldehid dapat ditentukan dengan uji Kreis, yang lebih rumit dan memakan waktu (Hamilton, R.J., 1986). Menurut data statistik, pada penentuan derajat ketengikan minyak

kacang, dinyatakan bahwa

Ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara harga rata-rata derajat ketengikan minyak kacang segar dengan harga rata-rata derajat ketengikan minyak kacang yang disimpan 8 bulan, baik yang ditambah antioksidan BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ, maupun yang tanpa ditambah antioksidan. Berarti, selama penyimpanan, terjadi perubahan derajat ketengikan. Juga ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara harga rata-rata derajat ketengikan minyak kacang yang disimpan 8 bulan tanpa antioksidan, dengan minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan penambahan BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ. Berarti, antioksidan yang ditambahkan dapat menghambat derajat ketengikan.

Penentuan derajat ketengikan minyak kelapa sawit dilakukan dan dari data dan hasil statistik dinyatakan bahwa,

Ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara harga rata-rata derajat ketengikan minyak kelapa sawit segar dengan harga rata-rata derajat ketengikan minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, baik dengan atau tanpa penambahan antioksidan (BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ). Berarti, selama penyimpanan terjadi perubahan derajat ketengikan. Juga ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara harga rata-rata derajat ketengikan minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan

antioksidan, dengan yang ditambah BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ. Berarti, antioksidan yang ditambahkan dapat menghambat derajat ketengikan minyak kelapa sawit.

Dari data pengujian statistik, hasil penentuan harga "P/S" dan derajat ketengikan, dapat disimpulkan bahwa selama penyimpanan, terjadi penurunan harga "P/S", yang berarti ada otooksidasi pada sebagian ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh yang dikandung minyak kacang dan minyak kelapa sawit. Hal ini didukung oleh data penentuan derajat ketengikan yang meningkat selama penyimpanan baik untuk minyak kacang maupun minyak kelapa sawit. Walaupun demikian, BHT, TBHQ dan campuran BHT dan TBHQ secara umum dapat menaikkan derajat ketengikan, tetapi tidak dapat mempertahankan harga "P/S".

Untuk menentukan kadar kolesterol total dalam serum tikus, dapat dilakukan dengan beberapa macam cara, antara lain adalah cara gravimetri, nephelometri, kromatografi lapisan tipis, kromatografi gas, kolorimetri baik menggunakan pereaksi kimia maupun dengan pereaksi enzimatik. Pada cara kolorimetri dengan pereaksi kimia, yang banyak digunakan adalah metode Liebermann-Burchard, sedangkan untuk metode kolorimetri secara enzimatik, adalah metode enzimatik CHOD-PAP. Adapun kelemahan dari metode Liebermann-Burchard adalah, pereaksi terdiri dari asam-asam kuat, sehingga berbau sangat menusuk. Di samping itu, warna yang dihasilkan tidak stabil, sehingga waktu peng-

ukuran harus cepat. Adapun segi yang menguntungkan adalah, pereaksi yang digunakan mudah didapat dan harganya murah. Sedangkan metode enzimatis CHOD-PAP, pereaksinya lebih mahal. Kelebihan dari metode enzimatis CHOD-PAP adalah lebih praktis, lebih mudah dan cepat. Metode enzimatis CHOD-PAP ini, sampai sekarang masih banyak digunakan. Dari hasil penentuan kadar kolesterol total dalam serum tikus dengan pemberian minyak kacang yang disimpan 8 bulan, baik dengan atau tanpa penambahan antioksidan, dan ditambah kolesterol 1%, dapat dilihat pada tabel VI. Dari data tersebut, dilakukan analisa varian (perhitungan analisa varian dapat dilihat pada lampiran V). Dari hasil analisa tersebut, dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$) antar kelompok. Berarti, pemberian kolesterol 1%, tidak memberikan perubahan yang bermakna pada kadar kolesterol total serum tikus. Demikian juga minyak kacang segar dan minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa penambahan antioksidan, tidak merubah kadar kolesterol total dalam serum tikus secara bermakna.

Dari hasil penentuan kadar kolesterol total dalam serum tikus dengan pemberian minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, dengan dan tanpa antioksidan, dan ditambah kolesterol 1%, dapat dilihat pada tabel VII. Dari data tersebut dilakukan analisa varian (perhitungan analisa varian dapat dilihat pada lampiran VI. Dari hasil analisa

tersebut dapat disimpulkan bahwa, tidak ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$) antar kelompok. Berarti, pemberian kholesterol 1%, tidak menyebabkan perubahan kadar kholesterol total dalam serum tikus secara bermakna. Demikian juga, minyak kelapa sawit segar dan minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa penambahan antioksidan, tidak dapat menyebabkan perubahan kadar kholesterol total dalam serum tikus secara bermakna.

Dari hasil penentuan kadar kholesterol-HDL dalam serum tikus, dengan pemberian minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa antioksidan, dan ditambah kholesterol 1%, dapat dinyatakan bahwa : Tidak ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok dengan pemberian kholesterol 1%. Ini berarti pemberian kholesterol 1% tidak dapat menyebabkan perubahan kadar kholesterol-HDL dalam serum tikus secara bermakna, tetapi ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara kelompok dengan pemberian kholesterol 1%, dengan kelompok yang diberi kacang segar dan ditambah kholesterol 1%, dan juga dengan kelompok yang diberi minyak kacang yang disimpan 8 bulan dan ditambah campuran BHT dan TBHQ. Berarti, pemberian minyak kacang segar dan minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan ditambah campuran BHT dan TBHQ, dapat menyebabkan perubahan kadar kholesterol-HDL. Di samping itu, ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara kelompok dengan pemberian minyak kacang yang disimpan

8 bulan tanpa penambahan antioksidan, dengan kelompok yang diberi minyak kacang yang disimpan 8 bulan, dengan ditambah campuran BGT dan TBHQ. Berarti, penambahan campuran BHT dan TBHQ pada minyak kacang yang disimpan 8 bulan, apabila dikonsumsi oleh tikus, dapat menyebabkan perubahan kadar kolesterol-HDL. Juga ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$) antara kelompok dengan pemberian minyak kacang yang disimpan 8 bulan dengan ditambah TBHQ, dengan yang ditambah campuran BHT dan TBHQ. Berarti, pemberian campuran BHT dan TBHQ hasil yang didapat lebih baik dari pada hanya diberi TBHQ.

Dari hasil penentuan kadar kolesterol-HDL dalam serum tikus, dengan pemberian minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa antioksidan dan ditambah kolesterol 1%, dapat dinyatakan bahwa, tidak ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi kolesterol 1%. Berarti, pemberian kolesterol 1% tidak dapat menyebabkan perubahan kadar kolesterol-HDL dalam serum tikus secara bermakna. Di samping itu juga tidak ada perbedaan yang bermakna (pada $\alpha = 0,05$), antara kelompok dengan pemberian kolesterol 1%, dengan kelompok yang diberi minyak kelapa sawit segar maupun minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, baik tanpa penambahan antioksidan maupun dengan penambahan BHT, TBHQ atau campuran BHT dan TBHQ. Berarti, minyak kelapa sawit segar dan yang disimpan 8 bulan baik dengan

atau tanpa penambahan antioksidan, tidak dapat merubah kadar kolesterol-HDL.

Dari data pengujian statistik hasil penentuan kadar kolesterol total dan kolesterol-HDL, ternyata pemberian kolesterol 100 mg. selama 35 hari, tidak menimbulkan perubahan kadar kolesterol total dan kolesterol-HDL yang bermakna. Hal ini kemungkinan karena kolesterol 100 mg. tersebut, belum dapat memberikan respon yang cukup besar. Kemungkinan juga disebabkan adanya hambatan absorpsi kolesterol pada usus, apalagi bila diberikan bersama-sama dengan minyak, yang mempunyai sifat lisan.

Pengaruh pemberian minyak kelapa sawit maupun minyak kacang baik segar maupun yang disimpan 8 bulan dengan dan tanpa antioksidan, tidak dapat memberikan perubahan kadar kolesterol secara bermakna dalam serum tikus. Hal ini sangat menarik, walaupun harga "P/S" minyak, menurun selama penyimpanan. Hal ini sama dengan hasil penentuan kolesterol-HDL, setelah mengkonsumsi minyak kacang atau minyak kelapa sawit, baik segar maupun yang disimpan 8 bulan, dengan dan tanpa antioksidan. Pemberian minyak kacang kacang segar dan yang disimpan 8 bulan dengan penambahan campuran BHT dan TBHQ 0,015%, dapat menyebabkan perubahan kadar kolesterol-HDL dalam serum tikus, sedangkan untuk pemberian minyak kelapa sawit segar dan minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, baik dengan penambahan antioksidan

naupun tanpa penambahan antioksidan, tidak memberikan pengaruh terhadap kadar kolesterol-HDL.

Untuk melihat pengaruh pemberian antioksidan secara nyata pada minyak, sehingga harga "P/S" dan derajat ketengikan tetap dipertahankan, perlu dicari kombinasi jenis antioksidan yang lain dan juga kombinasi antioksidan dengan bahan-bahan yang mempunyai sifat sebagai "chelating agent", misalnya asam sitrat, dan bahan-bahan yang bersifat sebagai reduktor, misalnya asam askorbat.

BAB VI**KESIMPULAN**

Dari hasil-hasil pengujian dan pembahasan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut :

1. Penambahan antioksidan BHT 0,01 %, TBHQ 0,01 % dan campuran BHT dan TBHQ 0,015 %, tidak dapat mempertahankan harga "P/S" pada minyak kacang maupun minyak kelapa sawit selama penyimpanan 8 bulan, walaupun demikian minyak kacang dan minyak kelapa sawit tersebut tidak memberikan perubahan yang bermakna pada kadar kolesterol total dalam serum tikus yang mengkonsuksinya.
2. Penambahan antioksidan TBHQ 0,01 % dan campuran BHT dan TBHQ 0,015% dapat menghambat kenaikan derajat ketengikan baik pada minyak kacang maupun minyak kelapa sawit, selama penyimpanan 8 bulan, walupun demikian minyak kelapa sawit dan minyak kacang tersebut tidak memberikan perubahan yang bermakna terhadap kadar kolesterol total dalam serum tikus yang mengkonsuksinya.
3. Penambahan antioksidan campuran BHT dan TBHQ 0,015% pada minyak kacang yang disimpan 8 bulan, dapat merubah kadar kolesterol-HDL dalam serum tikus yang mengkonsuksinya.

4. Penambahan antioksidan BHT 0,01% atau campuran BHT dan TBHQ 0,015% pada minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, tidak memberikan perubahan kadar kolesterol-HDL dalam serum tikus yang mengkonsumsinya.

BAB VII

SARAN - SARAN

1. Perlu diteliti dan dicari minyak dan lemak makan yang mempunyai harga "P/S" yang tinggi, dan diketahui bagaimana pengaruhnya terhadap kolesterol darah, mengingat akhir-akhir ini kematian yang diakibatkan oleh penyakit jantung koroner meningkat.
2. Perlu dilakukan penelitian pengaruh minyak dan lemak makan yang beredar di pasaran, mengenai harga "P/S" nya maupun pengaruhnya terhadap kadar kolesterol darah.
3. Perlu dilakukan penelitian terhadap faktor-faktor yang menyebabkan ketengikan minyak dan lemak dengan metode lain, misalnya uji Kreis dan uji tiobarbiturat.
4. Perlu dicari jenis dan kadar antioksidan yang efektif untuk mencegah atau menghambat ketengikan dan dapat mempertahankan harga "P/S", baik tunggal maupun kombinasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahrens, E.H., Dietary Fats and Coronary Heart Disease, The Lancet, December, Vol. 22, No.29, 1979, hal. 1345-1348.
- Allain, C.C., et-al., Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol, Clinical Chemistry, 20, 1974, hal.450-475.
- Arlin, M.T., The Science of Nutrition, Macmillan Publishing Co., Inc., New York, 1972, hal. 174-175, 231-235.
- Buckle, K.A., et-al., Ilmu Pangan, Trans., Hari Purnomo dan Adiono, UI., Press., 1985, hal. 327-335.
- Burke, R.W., et-al., Mechanism of The Lieberman-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol, Clinical Chemistry, Vol.20, No.7, 1974, hal. 794-801.
- Castelli, W.P., et-al., HDL-Cholesterol and Other Lipid in Coronary Heart Disease, The Cooperative Lipoprotein Phenotyping Study, Circulation, 55, 1977, hal.767-772.
- Chapman, D., Introduction to Lipids, Mc.Graw-Hill, London, 1969.
- Chakraborty, J., et-al., A Guide to Gas-Liquid and High Performance Liquid Chromatography, Association of Clinical Biochemists Limited, London, 1987, hal.19-65.
- Charley, H., Food Science, Second Edition, John Willey & New York, 1982, hal. 218-223, 232-237.

- Chu, S.Y. & Turkington, V.E., Reaction Rate Studies of Two Enzymatic Cholesterol Reagent Kits, *Clinical Biochemistry*, 20, 1974, hal. 1262-1266.
- Daniel, W.W., Biostatistics : A Foundation for Analysis in The Health Sciences, Second edition, New York, 1978, hal. 203-253.
- Denacker, P.N.M., Hyperlipoproteinemia a Study on Diagnostic Methods, Krips Repro-Meppel, 1978, hal.32-84.
- Dickes, G.J., Nicholas, P.V., Gas Chromatography in Food Analysis, Butter Worths, London, 1976, hal. 137-174.
- Ewing. G.W., Instrumental Methods of Chemical Analysis, Fourth Edition, McGraw-Hill Kogakusha, LTD., Tokyo, 1975, hal. 349-387.
- Glueck, C.J., M.D., Dietary Fat and Atherosclerosis, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 32, December, 1979, hal. 2703-2711.
- Gordon, T., et-al., High Density Lipoprotein as a Protective Factor Against Coronary Heart Disease, *The Framingham Study*, *The American Journal of Medicine*, 62, 1977, hal. 707-714.
- Grob, R.L., Modern Practice of Gas Chromatography, A Wiley Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York, 1977, hal.114-116, 144-145, 451-460.
- Grundy, S.M., Effects of Polyunsaturated Fats on Lipid Metabolism in Patients With Hypertriglyceridemia, *The*

- Journal of Clinical Investigation, 55, 1975, hal. 269-282.
- Hamilton, R.J., J.B. Rossel, Analysis of Oil and Fat, Elsevier Applied Science, New York, 1986, hal. 10-11, 24-25, 122-129.
- Harper, H.A., Victor, W.R., Peter, A.M., Review of Physiological Chemistry, 16th. Edition, Lange Medical Publications, California, 1977, hal. 313-320.
- Harrow, B. & Mazur, A., Text Book of Biochemistry, Eight Edition, W.B. Saunders Company, London, 1958, hal. 43-45, 54-58, 65-67, 315-317.
- Heftmann, E. (ed.). Chromatography, A Laboratory Handbook of Chromatographic and Electrophoretic Methods, Third Edition, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1975, hal. 202-203.
- Heid, J.L.B.S., M.A. Joslyn, Food Processing Operations, The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut 1963, hal. 96-116.
- Henry, J.B., Clinical Chemistry. Todd Sanford Clinical Diagnosis By Laboratory Methods, Fourteenth Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1969, hal. 568.
- Jacobs, M.B., The Chemical Analysis of Food and Food Products, 3rd. Edition, Roberte Kreiger Publishing Company, Inc., 1945, hal. 3-13.

- . The Chemical Analysis of Food and Food Product,
Third Edition, D. Van Nostrand Company, Inc., Prince-
ton, 1962, hal. 14-20.
- . The Chemistry and Technology of Food and Food Pro-
duct, Second Edition, Interscience Publishers, Inc.,
New York, Vol. III, hal. 2317-2340.
- Kannel, W.B., et-al., Serum Cholesterol, Lipoprotein and
The Risk of Coronary Heart Disease, The Framingham
Study, *Annals of Internal Medicine*, 74, 1971, hal.1-12.
- . et-al., Cholesterol in Prediction on Atherosclero-
sclerotic Disease, New Perspective Based on The Fra -
ming Study, *Annals of Internal Medicine*, 90, 1979,
hal. 85-91.
- Ketaren, S., Pengantar Teknologi. Minyak dan Lemak Pangan,
UI., Press., 1986, hal. 61-129, 173-186.
- Ries, C., H.M. Fox, Techniques in Using Normal Human Su-
bject in The Protein Bioassay of Food Products,
Protein Nutritional Quality of Food and Feeds, Part 1,
Edited by Mendel Friedman, Marcel Dekker, Inc., New
York, hal. 1-9.
- Kleiner, I.S. & Orten, J.M., Biochemistry, Sixth Edition,
The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 1962, hal.98-100,
579-584, 717-720.
- Levy, B., et-al., Dietary and Drug Treatment of Primary
Hyperlipoproteinemia, *Annals of Internal Medicine*, 77,
1972, hal. 267-294.

- Lewis, B., et-al., Frequency of Risk Factor for Ischaemic Heart Disease in Healthy British Population. With Particular Reference to Serum Lipoprotein Levels. The Lancet, Saturday, 2, February, 1974, hal. 141-146.
- Lopes-Verilla, N.F., et-al., Cholesterol Determination in High Density Lipoprotein Separated by Three Different Methods. Clinical Chemistry, 23, 1977, hal. 882-884.
- Mc.Gill, H.C., Jr., M.D., The Relationship of Dietary Cholesterol to Serum Cholesterol Concentration and to Atherosclerosis in Man. The American Journal of Clinical Nutrition, 32, 1979, hal. 2664-2702.
- McNair, H.M., E.J. Bonelli, Basic Gas Chromatography. Berkeley, California, 1969, hal. 72-73, 151-160.
- Meyer, L.H., Food Chemistry. The Avi Publishing Company, Inc., Wesport, Connecticut, 1960.
- Murdijati, G., dkk., Minyak, Sumber Penanganan Pengolahan dan Pemurnian, Jilid I dan II, Fakultas Teknologi Pertanian, UGM., Yogyakarta, 1978.
- Olson, R.E., et-al., Energi dan Zat-Zat Gizi. Trans., Anonim, P.T. Gramedia, 1987, hal. 105-117.
- Pearson, D., The Chemical Analysis of Food. Chemical Publishing Company, Inc., New York, 1970.
- Pecsok, R.L., et-al., Modern Method of Chemical Analysis, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, 1976, hal.41-53.

- Pesce, M.A., Bodourian, S.H., Enzymatic Rate Method for Measuring Cholesterol in Serum, *Clinical Chemistry*, 22, 1976, hal. 2042-2045.
- Pomeranz, J., Clifton, E.M., Food Analysis Theory and Practice, The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 1971, hal. 295-313.
- R.I. Departemen Kesehatan, Farmakope Indonesia, Edisi 3, 1979, hal. 767.
- R.I. Departemen Kesehatan, Permenkes No.235/Men Kes./Per./VI/79, Tentang Bahan Tambahan Makanan, 1979, hal. 15.
- R.I. Departemen Perindustrian, Standar Industri Indonesia Mutu dan Cara Uji Minyak Kelapa Sawit, 1975.
- Robinson, C.A., L.M. Hall, J. Vasiliades, Evaluation of an Enzymatic Cholesterol Method, *Clinical Chemistry*, 22, 1976, hal. 1542-1543.
- Roschlau P., et-al., Enzymatic Determination of Total Cholesterol in Serum, Using Peroxydase as Indicating Enzym, *Clinical Chemistry*, 21, 1975, hal. 941.
- Ross, R. & Barker, L., Hyperlipidemia and Atherosclerosis, *Science*, 193, 1976, hal. 1094-1100.
- Scultz, H.W., et-al., Lipid and Their Oxidation, Symposium on Food, The Avi Publishing Company, Inc., Westport Connecticut, 1967.
- Sherwin, E.R., Syntetic Antioxidant for Fat and Oil, Health and Development Division Eastman Chemical Product, Inc., Kingsport, 1976, hal. 155-170.

- Skoog, D.A., Donald, M.W., Principles of Instrumental Analysis, second edition, Saunders College Philadelphia, 1985, hal. 727-756.
- Smith, J.B. & Soesanto Mangkoewidjojo, The Care Breeding and Management of Experimental Animal for Research in Tropics, International Development Program of Australian Universities and College Limited, hal. 36-52.
- Spritz, N. & Maurice, A.M., Effect of Dietary Fats of Plasma Lipids Unsaturated Fatty Acids, The Journal of Clinical Investigation, 48, 1969, hal. 78-87.
- Sutrisno Hadi, Bimbingan Menulis Skripsi. Thesis, jilid II, Andi Offset Yogyakarta, 1988, hal. 154-160.
- , Metodologi Research, Jilid IV, Andi Offset Yogyakarta, 1988, hal. 442-447.
- , Statistik, Jilid III, Yayasan Penerbitan Fakultas Psikologi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, 1986, hal. 367-426.
- Swern, D., Bailey's Industrial Oil and Fat Product, 3rd Edition. Interscience Publishers Div., John Wiley & Sons, London, 1964, hal. 3-89.
- Tarbutton, P.N. & Gunter, Enzymatic Determination of Total Cholesterol in Serum, Clinical Chemistry, 20, 1974, hal. 724-725.
- Triebold, H.O., Leonard, W.A., Food Composition and Analysis, D. Van Nostrand Company, Inc., Princeton, 1963, hal. 95-189.

- Warnick, G.R., et-al., Comparison of Method for HDL-Cholesterol Quantitation, *Clinical Chemistry*, 23, 1979, hal. 596-604.
- Weiss, T.J., Food Oil and Their Uses, The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 1970, hal. 1-43.
- Winarno, F.G., Kimia Pangan dan Gizi, P.T. Gramedia, Jakarta, 1984, hal. 84-118.
- Witzum, J. & Gustav, S., Review and Abstracts. High Density Lipoprotein, *Diabetes*, 28, 1978, hal. 325-331.
- Wolf, R.N., Scott, M.G., Influence of Exchanging Carbohydrate for Saturated Fatty Acid on Plasma Lipids and Lipoprotein in Men, *The Journal of Nutrition*, 113, 8, 1983, hal. 1521-1528.
- Woodman, A.G., Food Analysis, Fourth Edition, McGraw-Hill Book Company, Inc., New York, 1941, hal. 186-187.
- Zak, B., Cholesterol Methodologies a review, *Clinical Chemistry*, 23, 1977, hal. 1201-1214.
- Zapsalis, C., R.A. Beck, Food Chemistry and Nutritional Biochemistry, John Wiley & Sons, New York, 1985, hal. 443-454, 485-489, 910-933.

LAMPIRAN I

ANALISIS VARIAN DATA PERBANDINGAN KADAR "P/S" MINYAK KACANG SEGAR
DENGAN YANG DISIAPAN 8 BULAN DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

SAMPel	PERLAKUAN					JUMLAH
	1	2	3	4	5	
REPLIKASI	1	2	3	4	5	
1	1,5571	0,6624	0,6645	0,9572	0,9069	
2	1,5258	0,8054	0,7627	1,0957	1,0763	
3	1,6732	0,7120	0,5826	0,6591	0,8518	
4	1,5725	0,6823	0,5529	0,5696	0,7682	
5	1,3079	0,4704	0,6650	0,6624	0,8064	
E I	7,6357	3,3325	3,2277	3,9440	4,4096	22,5495
I	1,5271	0,6665	0,6455	0,7888	0,8819	
nX	5	5	5	5	5	25
E X ²	11,7331	2,2811	2,1106	3,3144	3,9468	23,386
(EX) ²	58,3039	11,1055	10,4100	15,5551	19,4446	114,827

KETERANGAN :

1. Minyak kacang segar
2. Minyak kacang yang disiapkan 8 bulan tanpa ditambahkan antioksidan
3. Minyak kacang yang disiapkan 8 bulan + BHT 0,01 %
4. Minyak kacang yang disiapkan 8 bulan + TBHQ 0,01 %
5. Minyak kacang yang disiapkan 8 bulan + campuran BHT + TBHQ 0,015%

$$(1) DK_{\text{tol}} = 23,386 - \frac{(22,5495)^2}{25} = 23,386 - 20,339298 = 3,046802$$

$$(2) DK_{\text{ant}} = \frac{58,3039}{5} + \frac{11,1055}{5} + \frac{10,4180}{5} + \frac{15,5551}{5} + \frac{19,4445}{5} - \frac{(22,5495)^2}{25}$$

$$= 11,66078 + 2,2211 + 2,0836 + 3,11102 + 3,8889 - 20,339198$$

$$= 22,9654 - 20,339198 = 2,626202$$

$$(3) DK_{\text{dal}} = 3,046802 - 2,626202 = 0,4206$$

$$(4) MK_{\text{ant}} = \frac{DK_{\text{ant}}}{n-1} = \frac{2,626202}{4} = 0,6565505$$

$$(5) MK_{\text{dal}} = \frac{MK_{\text{dal}}}{N-n} = \frac{0,4206}{20} = 0,02103$$

$$F_{4;20} = \frac{MK_{\text{ant}}}{MK_{\text{dal}}} = \frac{0,6565505}{0,02103} = 31,2197$$

Dengan taraf signifikansi 5% $F_t = 2,87 \rightarrow F_0 > F_t$
ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

RINGKASAN ANAVA DATA KADAR P/S MINYAK KACANG SEGAR DENGAN
YANG DISIMPAN 8 BULAN DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

SUMBER VARIASI	db	DK	MK	F_0	F_t	BERMAKNA/TIDAK BERMAKNA
ANTAR KELOMPOK	4	2,626202	0,6565505	31,2197	t.s.5%	ada perbedaan yang bermakna
DALAM KELOMPOK	20	0,4206	0,02103		2,87	
TOTAL	24	-	-			

KETERANGAN

db = Derajat bebas

DK = Jumlah kuadrat

MK = Mean kuadrat

F_0 = F_{hitung}

F_t = F_{teoritis} (F_{tabel}) atau $F_{\text{hipotetis}}$

t.s. = taraf signifikansi.

Ternyata harga F_{hitung} lebih besar dari $F_{0.05}$ (tabel lampiran), berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Untuk mengetahui harga rata-rata kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna, dilakukan Uji HSD (HSD test) "Honestly Significant difference test".

$$\text{Rumus : HSD} = q \cdot a \cdot \sqrt{\frac{MK_{dal}}{n}}$$

$a = 0,05$
 $k = 5 \quad q = 4,23 \rightarrow \text{HSD} = 4,23 \cdot \frac{0,002103}{5} = 0,2743$
 $N-k = 20$

HASIL UJI HSD SELISIH ANTARA HARGA RATA-RATA

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
$X_1=1,5271$		$0,8606^{\dagger}$	$0,8916^{\dagger}$	$0,7383^{\dagger}$	$0,6452^{\dagger}$
$X_2=0,6665$			$0,021$	$0,1223$	$0,2154$
$X_3=0,6455$				$0,1433$	$0,2364$
$X_4=0,7888$					$0,0931$
$X_5=0,8819$					

LAMPIRAN II

ANALISIS VARIAN DATA PERBANDINGAN KADAR "P/S" MINYAK KELAPA SAWIT
SEGAR DENGAN YANG DISIMPAN 8 BULAN DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

SAMPel	PERLAKUAN					JUMLAH
	1	2	3	4	5	
REPLIKASI	1	2	3	4	5	
1	0,2211	0,1936	0,1913	0,1971	0,1917	
2	0,2227	0,1983	0,2026	0,2051	0,2017	
3	0,2189	0,1739	0,1918	0,1902	0,1927	
4	0,2234	0,2001	0,1929	0,21021	0,1939	
5	0,2189	0,1904	0,1911	0,1982	0,2013	
E I	1,097	0,9483	0,9697	0,9927	0,9813	4,989
I	0,2194	0,1896	0,1985	0,1985	0,1962	
nX	5	5	5	5	5	25
E X ²	0,2407	0,1802	0,1881	0,1972	0,1926	0,9988
(EX) ²	1,2034	0,8992	0,9454	0,9854	0,9629	4,9914

KETERANGAN :

1. Minyak kelapa sawit segar
2. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan, tanpa antioksidan
3. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01 %
4. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01 %
5. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + campuran BHT + TBHQ 0,015 %.

$$(1) DK_{tol} = 0,9988 - \frac{(4,989)^2}{25} = 0,9988 - 0,9956 = 0,0032$$

$$(2) DK_{ant} = \frac{1,2034}{5} + \frac{0,8992}{5} + \frac{0,9403}{5} + \frac{0,9854}{5} + \frac{0,9629}{5} - \frac{(4,989)^2}{25}$$

$$= 0,24068 + 0,17984 + 0,18806 + 0,19708 + 0,19258 - 0,9956$$

$$= 0,0032 - 0,00264 = 0,00056$$

$$(3) DK_{dal} = 0,0032 - 0,00264 = 0,00056$$

$$(4) MK_{ant} = \frac{DK_{ant}}{n-1} = \frac{0,00264}{4} = 0,00066$$

$$(5) MK_{dal} = \frac{MK_{dal}}{N-n} = \frac{0,00056}{20} = 0,000028$$

$$F_{4:20} = \frac{MK_{ant}}{MK_{dal}} = \frac{0,00066}{0,000028} = 23,57$$

Dengan taraf signifikansi 5% $F_t = 2,87 \rightarrow F_o > F_t$
ada perbedaan yang bermakna dalam kelompok.

**RINGKASAN ANAVA DATA KADAR P/5 MINYAK KELAPA SAWIT SEGAR DENGAN
YANG DISIMPAN 8 BULAN DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN**

SUMBER VARIASI	db	DK	MK	F_o	F_t	BERMAKNA/TIDAK BERMAKNA
ANTAR KELOMPOK	4	0,00264	0,00066	23,57	t.s.5%	ada perbedaan yang bermakna
DALAM KELOMPOK	20	0,00056	0,000028		= 2,82	
TOTAL	24	-	-			

KETERANGAN :

db = Derajat kebebasan

DK = Jumlah kuadrat

MK = Mean kuadrat

F_o = $F_{empiris}$ (F_{hitung})

F_t = $F_{teoritis}$ (F_{tabel}) atau $F_{hipotetis}$

t.s.= taraf signifikansi.

Ternyata harga F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} , ada perbedaan berarti ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Untuk mengetahui harga rata-rata kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna, dilakukan Uji HSD (HSD test).

$$\text{Rumus : HSD} = q \cdot a, k, N-k \cdot \frac{MK_{dal}}{n}$$

$$a = 0,85$$

$$k = 5 \quad q = 4,23 \rightarrow \text{HSD} = 4,23 \cdot \frac{0,00028}{5} = 0,0100$$

$$N-k = 20$$

HASIL UJI HSD SELISIH ANTARA HARGA RATA-RATA

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
$X_1=0,2194$		0,0298	0,0255	0,0209	0,0232
$X_2=0,1896$			0,0043	0,0029	0,0066
$X_3=0,1939$				0,0046	0,0023
$X_4=0,1985$					0,0023
$X_5=0,1962$					

LAMPIRAN III

ANALISA VARIAN DATA DERAJAD KETENGIKAN MINYAK KACANG SEGAR DENGAN
YANG DISIMPAN 8 BULAN DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

SAMPel	PERLAKUAN					JUMLAH
	1	2	3	4	5	
REPLIKASI:						
1	6,836	318,282	309,614	310,151	302,617	
2	6,332	352,929	337,794	331,644	313,267	
3	6,735	343,325	332,982	315,882	320,675	
4	6,521	359,152	327,488	326,388	318,762	
5	6,864	379,396	331,459	339,848	327,841	
6	6,749	388,553	344,658	316,438	325,893	
E I	39,437	2133,637	1983,987	1939,213	1988,285	8884,889
\bar{x}	6,573	355,686	338,651	323,257	318,848	
nx_2	6	6	6	6	6	38
$E x_2$	259,647	761486,435	656687,317	627573,079	607335,151	2653341,629
$(E x^2)$	1555,277	4552486,847	3935886,984	3761827,848	3641551,641	15893227,79

KETERANGAN :

1. Minyak kacang segar
2. Minyak kacang yang disimpan 8 bulan dan tanpa antioksidan
3. Minyak kacang yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01 %
4. Minyak kacang yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01 %
5. Minyak kacang yang disimpan 8 bulan + campuran BHT + TBHQ 0,015 %.

$$(1) DK_{tot} = 2653341,629 - \frac{(8004,809)^2}{30} = 2653341,629 - 2135898,904 = 517442,725$$

$$(2) DK_{ant} = \frac{1555,277^2}{6} + \frac{4552406,847^2}{6} + \frac{3935886,984^2}{6} + \frac{3761827,048^2}{6} + \frac{3641551,641^2}{6} - \frac{(8004,809)^2}{30}$$

$$= 259,2128333 + 758734,4745 + 655981,164 + 626971,1746 + 686923,2735 - 2135898,904$$

$$= 2648871,298 - 2134898,904 = 512972,394$$

$$(3) DK_{dal} = 517442,725 - 512972,394 = 4470,331$$

$$(4) MK_{ant} = \frac{DK_{ant}}{a - 1} = \frac{512972,394}{4} = 128243,0985$$

$$(5) MK_{dal} = \frac{DK_{dal}}{N - a} = \frac{4470,331}{25} = 178,81324$$

$$F_{4:25} = \frac{MK_{ant}}{MK_{dal}} = \frac{128243,0985}{178,81324} = 717,1901728$$

Dengan taraf signifikansi 5% $F_t = 2,76$ $F_o(\text{hitung}) > F_t(\text{tabel})$

ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

RINGKASAN ANAVA DARI DATA DERAJAD KETENGIKAN MINYAK KACANG DENGAN YANG DISIMPAN 8 BULAN DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

SUMBER VARIASI	db	DK	MK	F_o	F_t	BERMAKNA/TIDAK BERMAKNA
Antar kel.	4	512972,394	128243,0985	717,1901728	t.s. 5% 2,76	Ada perbedaan yang bermakna
Dalam kel.	25	4470,331	178,81324			
Total	29	-	-			

KETERANGAN :

- db = Derajat kebebasan $F_o = F_{empiris} (F_{hitung})$
- DK = Jumlah kuadrat $F_t = F_{teoritis} (F_{hipotetis})$ atau F_{tabel}
- MK = Mean kuadrat t.s. = taraf signifikansi.

Untuk mengetahui pasangan harga rata-rata kelompok mana yang berbeda secara bermakna dilakukan Uji HSD (HSD test) = "Honestly Significant Defferance test"

$$\text{Rumus : HSD} = q \cdot a, k, N-k \cdot \frac{MK_{\text{daj}}}{b}$$

$$\begin{aligned} a &= 0,05 \\ k &= 5 \\ N-k &= 25 \end{aligned} \quad q = 4,155 \longrightarrow \text{HSD} = 4,155 \quad \frac{170,81324}{6} = 28,4688$$

NASIL Uji HSD SELISIH ANTARA MARGA RATA-RATA

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
$x_1 = 6,573$		349,833 ⁸	324,078 ⁸	316,684 ⁸	311,475 ⁸
$x_2 = 355,606$			24,955	32,349 ⁸	37,558 ⁸
$x_3 = 338,651$				7,394	12,603
$x_4 = 323,257$					5,209
$x_5 = 318,048$					

LAMPIRAN IV

ANALISA VARIAN DATA DERAJAD KETENGIKAN MINYAK KELAPA SAWIT SEGAR DENGAN
YANG DISIMPAN 8 BULAN DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN

SAMPel	PERLAKUAN					JUMLAH
	1	2	3	4	5	
REPLIKASI						
1	3,263	39,140	18,974	18,569	17,400	
2	3,060	50,221	21,883	16,539	18,407	
3	3,521	48,729	24,779	19,624	20,649	
4	3,195	51,818	18,050	20,649	26,367	
5	3,233	43,608	20,666	18,606	21,879	
6	3,439	61,997	17,808	22,873	18,579	
E I	19,713	315,593	138,080	116,060	123,281	
x	3,29	52,60	21,60	19,40	20,55	705,527
nx_2	6	6	6	6	6	30
$E x_2$	64,908181	16831,5782	2914,049	2299,186	2587,047	24696,768
$(E x^2)$	338,682	99598,941	16920,886	13656,260	15198,205	145762,814

KETERANGAN :

1. Minyak kelapa sawit segar
2. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan antioksidan
3. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01 %
4. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01 %
5. Minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + campuran BHT + TBHQ 0,015 %.

$$(1) DK_{tot} = 24696,760 - \frac{(705,572)^2}{30} = 24696,760 - 16592,27825 = 8104,48975$$

$$(2) DK_{ant} = \frac{388,602}{6} + \frac{99598,941}{6} + \frac{16920,806}{6} + \frac{13656,360}{6} + \frac{15198,205}{6} - \frac{(705,572)^2}{30}$$

$$= 64,767 + 16599,8235 + 2820,134333 + 2276,04333 + 2533,0341 - 16592,27825$$

$$= 7701,52401$$

$$(3) DK_{dal} = 8104,48975 - 7701,52401 = 402,96574$$

$$(4) MK_{ant} = \frac{DK_{ant}}{n - 1} = \frac{7701,52401}{4} = 1925,381002$$

$$(5) MK_{dal} = \frac{DK_{dal}}{N - n} = \frac{402,96574}{25} = 16,1186296$$

$$F_{4:25} = \frac{MK_{ant}}{MK_{dal}} = \frac{1925,381002}{16,1186296} = 119,4506$$

Dengan taraf signifikansi 5% $F_t = 2,76$ $F_o(\text{hitung}) > F_t(\text{tabel})$

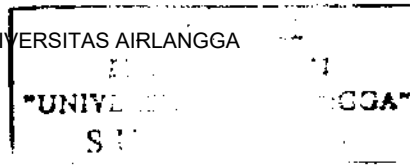
ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

RINGKASAN ANAVA DARI DATA DERAJAD KETENGSIKAN MINYAK KELAPA SAMIT DENGAN YANG DISIMPAN 8 BULAN DENGAN TANPA ANTIOKSIDAN

SUMBER VARIASI	db	DK	MK	F	F	BERMAKNA/TI-DAK BERMAKNA
Antar kel.	4	7701,52401	1925,381002	119,4506	t.s.5% 2,76	Ada perbedaan yang bermakna
Dalam kel.	25	402,96574	16,1186296			
T o t a l	29	-	-			

KETERANGAN :

- db = Derajat kebebasan $F_o = F_{\text{empiris}} (F_{\text{hitung}})$
- DK = Jumlah kuadrat $F_t = F_{\text{teoritis}} (F_{\text{hipotetis}}) \text{ atau } F_{\text{tabel}}$
- MK = Mean kuadrat $t.s. = \text{taraf signifikansi.}$



Untuk mengetahui pasangan harga rata-rata kelompok mana yang berbeda secara bermakna dilakukan Uji HSD (HSD test) = "Honestly Significant Defferance test"

$$\text{Rumus : HSD} = q \alpha, k, N-k \frac{MK_{dal}}{n}$$

$$\begin{aligned} \alpha &= 0,05 \\ k &= 5 \\ N-k &= 25 \end{aligned} \quad q = 4,155 \text{ ----> HSD} = 4,155 \quad \frac{16,1186296}{6} = 2,686$$

HASIL UJI HSD SELISIH ANTARA HARGA RATA-RATA

	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5
$x_1 = 3,29$		49,31 [§]	18,39 [§]	16,19 [§]	17,26 [§]
$x_2 = 52,60$			38,92 [§]	33,12 [§]	32,85 [§]
$x_3 = 21,68$				2,2	1,13
$x_4 = 19,48$					1,07
$x_5 = 20,55$					

LAMPIRAN V

ANALISA VARIAN DATA PENENTUAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN MINYAK KACANG YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN DAN TANPA ANTIOKSIDAN DAN DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPel	PERLAKUAN							JUMLAH
	1	2	3	4	5	6	7	
REPLIKASI:								
1	65	70	68	69	6	61	64	
2	62	75	69	75	87	71	77	
3	76	68	59	75	60	64	69	
4	78	78	64	63	66	72	71	
5	61	78	70	68	63	69	71	
6	66	78	71	67	78	63	59	
E I	66,66	78,50	66,83	69,50	69,66	66,66	68,50	
x	480	423	481	417	418	480	411	2878
nx ²	6	6	6	6	6	6	6	42
E x ²	26822	38809	26983	298393	29674	26772	28349	197622
(E x ²)	168.888	178.929	168.881	173.889	174.724	168.888	168.921	1177264

KETERANGAN :

1. Kontrol, tanpa perlakuan
2. Dengan pemberian kolesterol 1%
3. Dengan pemberian kolesterol 1% + minyak kacang segar 5%
4. Dengan pemberian kolesterol 1% + minyak kacang yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan antioksidan
5. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kacang yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01%) 5%
6. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kacang yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01%) 5%
7. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kacang yang disimpan 8 bulan + campuran BHT + TBHQ 0,015%) 5%.

$$(1) DK_{tot} = 197622 - \frac{(2870)^2}{42} = 197622 - 196116,666 = 1505,3334$$

$$(2) DK_{ant} = \frac{160.000}{6} + \frac{170.929}{6} + \frac{160.001}{6} + \frac{173.089}{6} + \frac{174.724}{6} + \frac{160.000}{6} + \frac{168.901}{6} - \frac{(2870)^2}{42}$$

$$= 26666,7 + 29821,5 + 26800,2 + 28981,5 + 29120,7 + 28153,5 - 196116,7$$

$$= 196210,8 - 196116,7 = 94,1$$

$$(3) DK_{dal} = 1505,3334 - 94,1 = 1411,2334$$

$$(4) MK_{ant} = \frac{DK_{ant}}{n - 1} = \frac{94,1}{6} = 15,68$$

$$(5) MK_{dal} = \frac{DK_{dal}}{N - n} = \frac{1411,2334}{35} = 40,320$$

$$F_{6;35} = \frac{15,68}{40,320} = \frac{MK_{ant}}{MK_{dal}} = 0,3888$$

Taraf signifikansi 5% hanya $F_t = 2,64$

Jadi $F_{hitung} < F_{tabel}$, berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan

RINGKASAN ANAVA DARI DATA PENENTUAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN MINYAK KACANG YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN TANPA ANTIOKSIDAN, DITAMBAH KOLESTEROL IX

SUMBER VARIASI	db	DK	MK	F_0	F_t	BERMAKNA/TIDAK BER AKNA
Antar kelompok	6	94,1	15,68	0,3888	t.s. 5% =	Tidak ada perbedaan yang bermakna
Dalam kelompok	35	1411,2334	40,32		2,64	
T o t a l	41	1505,3334	-			

LAMPIRAN VI

ANALISA VARIAN DATA PENENTUAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN
 PEMBERIAN MINYAK KELAPA SAWIT YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN DAN TANPA
 ANTIOKSIDAN DAN DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPel	PERLAKUAN							JUMLAH
	1	2	3	4	5	6	7	
REPLIKASI:								
1	65	70	6	73	75	69	64	
2	62	75	67	61	67	78	53	
3	76	60	62	67	68	64	60	
4	70	70	60	52	60	69	65	
5	61	78	64	62	68	73	68	
6	66	70	60	65	63	63	60	
E I	66,66	70,50	63,00	63,33	66,66	69,33	60,33	
x	400	423	378	388	401	416	362	2768
nx ²	6	6	6	6	6	6	6	42
E x ²	26822	30009	23854	24312	26796	29000	21930	182723
(E x ²)	160.000	170.929	142.884	144.400	168.000	173.056	131.044	1090313

KETERANGAN :

1. Kontrol, tanpa perlakuan
2. Dengan pemberian kolesterol 1%
3. Dengan pemberian kolesterol 1% + minyak kelapa sawit segar 5%
4. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan antioksidan 5%
5. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01%) 5%
6. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01%) 5%
7. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + campuran BHT + TBHQ 0,015%) 5%.

$$(1) DK_{tot} = 182723 - \frac{(2760)^2}{42} = 182723 - 181371,4285 = 1351,5715$$

$$(2) DK_{ant} = \frac{160.000}{6} + \frac{178.929}{6} + \frac{142.884}{6} + \frac{144.400}{6} + \frac{160.000}{6} + \frac{178.856}{6} + \frac{131.844}{6} - \frac{(2760)^2}{42}$$

$$= 26666,7 + 29821,5 + 23814 + 24066,7 + 26666,7 + 29842,7 - 181371,4285$$

$$= 181719,3 - 181371,4285 = 347,5715$$

$$(3) DK_{dal} = 1351,5715 - 347,5715 = 1004$$

$$(4) NK_{ant} = \frac{DK_{ant}}{n - 1} = \frac{347,5715}{6} = 57,928$$

$$(5) NK_{dal} = \frac{DK_{dal}}{N - n} = \frac{1004}{35} = 28,685$$

$$F_{6:35} = \frac{57,928}{28,685} = \frac{NK_{ant}}{NK_{dal}} = 2,019$$

Taraf signifikansi 5% hanya $F_t = 2,64$

Jadi $F_{hitung} < F_{tabel}$, berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok.

RINGKASAN ANAVA DARI DATA PENENTUAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN MINYAK KELAPA SAMIT YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN TANPA ANTIOKSIDAN, DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl) SERUM)

SUMBER VARIASI	db	DK	NK	F_0	F_t	BERMAKNA/TIDAK BERMAKNA
Antar kelompok	6	347,5715	57,928	2,019	t.s. 5% =	Tidak ada perbedaan yang bermakna
Dalam kelompok	35	1004	28,685		2,64	
Total	41					

LAMPIRAN VII

ANALISA VARIAN DATA PENENTUAN KADAR KOLESTEROL-HDL DALAM SERUM TIKUS DENGAN
PEMBERIAN MINYAK KACANG YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN DAN TANPA
ANTIOKSIDAN DAN DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPel	PERLAKUAN							JUMLAH
	1	2	3	4	5	6	7	
REPLIKASI								
1	32,5	22,7	42,9	39,8	34,1	31,8	45,5	
2	35,1	34,4	54,0	35,7	39,8	36,0	48,6	
3	35,7	32,8	37,7	48,3	39,8	29,2	58,6	
4	42,2	29,9	42,3	53,9	43,8	32,5	52,6	
5	32,1	29,9	43,9	37,7	45,8	44,5	44,5	
6	35,5	29,9	48,3	43,1	34,1	32,1	42,5	
E I	35,51	29,43	43,51	34,43	39,38	34,33	45,85	
Σ	213,1	176,6	261,1	240,7	235,8	206,1	275,1	1688,5
$n \times 2$	6	6	6	6	6	6	6	42
$E \times 2$	7634,25	5456,52	11518,29	9988,89	9383,7	7226,79	12729,11	63857,55
$(E \times 2)$	45411,61	31187,56	68173,21	57936,49	55681,64	42477,21	75688,81	376467,73

KETERANGAN :

1. Kontrol, tanpa perlakuan
2. Dengan pemberian kolesterol 1%
3. Dengan pemberian kolesterol 1% + minyak kacang segar 5%
4. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kacang yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan antioksidan) 5%
5. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kacang yang disiapkan 8 bulan + BHT 0,01%) 5%
6. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kacang yang disiapkan 8 bulan + TBHQ 0,01%) 5%
7. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kacang yang disiapkan 8 bulan + BHT + TBHQ 0,015%) 5%.

$$(1) DK_{tot} = 63857,55 - \frac{(1600,5)^2}{42} = 63857,55 - 61601,72 = 2255,83$$

$$(2) DK_{ant} = \frac{4541,61 \quad 31187,56 \quad 68173,21 \quad 57936,49 \quad 55601,64 \quad 42477,21 \quad 75680,01 \quad (1600,5)^2}{6 \quad 6 \quad 6 \quad 6 \quad 6 \quad 6 \quad 6 \quad 42}$$

$$= 7568,60 + 5197,93 + 11362,20 + 9656,88 + 9266,94 + 7079,54 + 12613,34 - 61601,72$$

$$= 62744,63 - 61601,72 = 1142,91$$

$$(3) DK_{dal} = DK_{tot} - DK_{ant} = 2255,83 - 1142,91 = 1112,92$$

$$(4) MK_{ant} = \frac{DK_{ant}}{n - 1} = \frac{1142,91}{6} = 190,485$$

$$(5) MK_{dal} = \frac{DK_{dal}}{N - n} = \frac{1112,92}{35} = 31,797$$

$$F_{6:35} = \frac{190,485}{31,797} = \frac{MK_{ant}}{MK_{dal}} = 5,990$$

Taraf signifikansi 5% hanya $F_t = 2,64$

Jadi $F_{hitung} < F_{tabel}$, berarti ada perbedaan yang bermakna antar kelompok.

RINGKASAN ANAVA DARI DATA PENENTUAN KADAR KHOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN MINYAK KACANG YANG DISIMPAN 0 BULAN, DENGAN TANPA ANTIOKSIDAN, DITAMBAH KHOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SUMBER VARIASI	db	DK	MK	F_0	F_t	BERMAKNA/TIDAK BERMAKNA
Antar kelompok	6	1142,91	190,485	5,990	t.s. 5% =	Ada perbedaan yang bermakna
Dalam kelompok	35	1112,92	31,797		2,64	
T o t a l	41	2255,83	-			

$$\text{Uji HSD : } \quad = 0,05$$

$$k = 7 \quad q = 4,425 \quad \text{-----} \rightarrow \text{HSD} = \frac{31,797}{6}$$

$$N - k = 35$$

$$= 10,186$$

$$\text{*****}$$

HASIL UJI HSD SELISIH ANTARA HARGA RATA-RATA

	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	x_6	x_7
$x_1 = 35,51$		6,08	8	1,08	3,79	1,16	10,34 [†]
$x_2 = 29,43$			14,08 [†]	5	9,87	4,92	16,42 [†]
$x_3 = 43,51$				9,08	4,21	9,16	2,34
$x_4 = 34,43$					4,87	0,08	11,42 [†]
$x_5 = 39,38$						4,95	6,55
$x_6 = 34,35$							11,5 [†]
$x_7 = 45,85$							

LAMPIRAN VIII

ANALISA VARIAN DATA PENENTUAN KADAR KOLESTEROL-HDL DALAM SERUM TIKUS DENGAN
 PEMBERIAN MINYAK KELAPA SAWIT YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN DAN TANPA
 ANTIOKSIDAN DAN DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SAMPel	PERLAKUAN							JUMLAH
	1	2	3	4	5	6	7	
REPLIKASI:								
1	32,5	22,7		43,8	38,5	26,3	34,4	
2	35,1	34,4	48,2	32,1	25,8	29,9	28,8	
3	35,7	32,8	48,7	39,9	23,7	22,1	25,4	
4	42,2	29,9	36,3	34,1	26,9	26,3	25,3	
5	32,1	29,9	25,7	42,2	22,1	27,9	21,4	
6	35,5	29,9	48,5	31,2	25,8	25,3	25,4	
E I	35,51	29,43	37,38	37,21	25,88	26,38	25,45	
x	213,1	176,6	223,8	223,3	154,8	157,8	152,8	1382,2
nx ₂	6	6	6	6	6	6	6	42
E x ₂	7634,25	5456,52	8997,45	8457,95	4835,24	4184,37	4884,37	42778,88
(E x ²)	45411,61	31187,56	58086,44	49862,89	23963,84	24988,84	23317,29	178249,67

KETERANGAN :

1. Kontrol, tanpa perlakuan
2. Dengan pemberian kolesterol 1%
3. Dengan pemberian kolesterol 1% + minyak kelapa sawit segar 5%
4. Dengan pemberian kolesterol 1% + minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan tanpa penambahan antioksidan
5. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + BHT 0,01%) 5%
6. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + TBHQ 0,01%) 5%
7. Dengan pemberian kolesterol 1% + (minyak kelapa sawit yang disimpan 8 bulan + campuran BHT + TBHQ 0,015%) 5%.

$$(1) DK_{tot} = 42770,88 - \frac{(1382,2)^2}{42} = 42770,88 - 40374,40095 = 2395,68$$

$$(2) DK_{ant} = \frac{45411,61}{6} + \frac{31183,56}{6} + \frac{58886,44}{6} + \frac{49862,89}{6} + \frac{49862,89}{6} + \frac{23963,84}{6} + \frac{24900,84}{6} - \frac{23317,29}{6} - \frac{(1382,2)^2}{42}$$

$$= 7568,60 + 5197,93 + 8347,74 + 8310,49 + 3993,84 + 4150,14 + 3886,224 - 4037448,095$$

$$= 41454,96 - 40374,40 = 1080,56$$

$$(3) DK_{dal} = DK_{tot} - DK_{ant} = 2395,68 - 1080,56 = 1315,12$$

$$(4) MK_{ant} = \frac{DK_{ant}}{n - 1} = \frac{1080,56}{6} = 180,093$$

$$(5) MK_{dal} = \frac{DK_{dal}}{N - n} = \frac{1315,12}{35} = 37,575$$

$$F_{6:35} = \frac{180,093}{37,575} = \frac{MK_{ant}}{MK_{dal}} = 4,818$$

Dengan taraf signifikansi 5% hanya $F_t = 2,64$

Jadi $F_{hitung} > F_{tabel}$, berarti ada perbedaan yang bermakna antar kelompok.

RINGKASAN ANAVA DARI DATA PENENTUAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DALAM SERUM TIKUS DENGAN PEMBERIAN MINYAK KELAPA SAMIT YANG DISIMPAN 8 BULAN, DENGAN TANPA ANTIOKSIDAN, DITAMBAH KOLESTEROL 1% (DALAM mg/dl SERUM)

SUMBER VARIASI:	db	DK	MK	F_0	F_t	BERMAKNA/TIDAK BERMAKNA
Antar kelompok	6	1080,56	180,093	4,818	t.s. 5% =	Ada perbedaan yang bermakna
Dalam kelompok	35	1315,12	37,575		2,64	
T o t a l	41	2395,68	-			

$$\text{Uji HSD : } \begin{matrix} = 0,05 \\ k = 7 \\ N-k = 35 \end{matrix} \quad q = 4,425 \quad \text{-----} \rightarrow \text{HSD} = \frac{37,575}{6} = 11,073$$

HASIL UJI MSD SELISIH ANTARA HARGA RATA-RATA

	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	x_6	x_7
$x_1 = 35,51$		6,00	1,79	1,7	9,71	9,21	10,86
$x_2 = 29,43$			7,87	7,78	3,63	3,13	3,98
$x_3 = 37,30$				0,09	11,5 ⁸	11,00	11,85 ⁸
$x_4 = 37,21$					11,41 ⁸	10,91	11,76
$x_5 = 25,00$						0,5	0,35
$x_6 = 26,30$							0,85
$x_7 = 25,45$							

LAMPIRAN IX

TABEL F

(dari buku statistik, Sutrisno Hadi)

d.b.	d.b. dari Mean Kwadrat yang Lebih Besar												t.s.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12.	
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,70	2,64	2,59	2,55	2,51	2,48	5%
	8,68	6,36	5,42	4,89	4,56	4,32	4,14	4,00	3,89	3,80	3,73	3,67	1%
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,45	2,42	5%
	8,53	6,23	5,29	4,77	4,44	4,20	4,03	3,89	3,78	3,69	3,61	3,55	1%
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,62	2,55	2,50	2,45	2,41	2,38	5%
	8,40	6,11	5,18	4,67	4,34	4,10	3,93	3,79	3,68	3,59	3,52	3,45	1%
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,37	2,34	5%
	8,25	6,01	5,09	4,58	4,25	4,01	3,85	3,71	3,60	3,51	3,44	3,37	1%
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,55	2,48	2,43	2,38	2,34	2,31	5%
	8,18	5,93	5,01	4,50	4,17	3,94	3,77	3,63	3,52	3,43	3,36	3,30	1%
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,52	2,45	2,40	2,35	2,31	2,28	5%
	8,10	5,85	4,94	4,43	4,10	3,87	3,71	3,56	3,45	3,37	3,30	3,23	1%
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,28	2,25	5%
	8,02	5,78	4,87	4,37	4,04	3,81	3,65	3,51	3,40	3,31	3,24	3,17	1%
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,47	2,40	2,35	2,30	2,26	2,23	5%
	7,94	5,72	4,82	4,31	3,99	3,76	3,59	3,45	3,35	3,26	3,18	3,12	1%
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,45	2,38	2,32	2,28	2,24	2,20	5%
	7,88	5,66	4,76	4,26	3,94	3,71	3,54	3,41	3,30	3,21	3,14	3,07	1%
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,43	2,36	2,30	2,26	2,22	2,18	5%
	7,82	5,61	4,72	4,22	3,90	3,67	3,50	3,36	3,25	3,17	3,09	3,03	1%
25	4,24	3,38	2,99	2,76	2,60	2,49	2,41	2,34	2,28	2,24	2,20	2,16	5%
	7,77	5,57	4,68	4,18	3,86	3,63	3,46	3,32	3,21	3,13	3,05	2,99	1%
26	4,22	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,18	2,15	5%
	7,72	5,53	4,64	4,14	3,82	3,59	3,42	3,29	3,17	3,09	3,02	2,96	1%
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,30	2,25	2,20	2,16	2,13	5%
	7,68	5,49	4,60	4,11	3,79	3,56	3,39	3,26	3,14	3,06	2,98	2,93	1%
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,44	2,36	2,29	2,24	2,19	2,15	2,12	5%
	7,64	5,45	4,57	4,07	3,76	3,53	3,36	3,23	3,11	3,03	2,95	2,90	1%

(Bersambung)

LAMPIRAN X

TABEL F

(dari buku statistik, Sutrisno Hadi)

d.b.	d.b. dari Mean Kwadrat yang Lebih Besar												t.s.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,54	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,14	2,10	5%
	7,60	5,42	4,54	4,04	3,73	3,50	3,33	3,20	3,08	3,00	2,92	2,87	1%
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,34	2,27	2,21	2,16	2,12	2,09	5%
	7,56	5,39	4,51	4,02	3,70	3,47	3,30	3,17	3,06	2,98	2,90	2,84	1%
32	4,15	3,30	2,90	2,67	2,51	2,40	2,32	2,25	2,19	2,14	2,10	2,07	5%
	7,50	5,34	4,46	3,97	3,66	3,42	3,25	3,12	3,01	2,94	2,86	2,80	1%
34	4,13	3,28	2,88	2,65	2,49	2,38	2,30	2,23	2,17	2,12	2,08	2,05	5%
	7,44	5,29	4,42	3,93	3,61	3,38	3,21	3,08	2,97	2,89	2,82	2,76	1%
36	4,11	3,26	2,86	2,63	2,48	2,36	2,28	2,21	2,15	2,10	2,06	2,03	5%
	7,39	5,25	4,38	3,89	3,58	3,35	3,18	3,04	2,94	2,86	2,78	2,72	1%
38	4,10	3,25	2,85	2,62	2,46	2,35	2,26	2,19	2,14	2,09	2,05	2,02	5%
	7,35	5,21	4,34	3,86	3,54	3,32	3,15	3,02	2,91	2,82	2,75	2,69	1%
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,07	2,04	2,00	5%
	7,31	5,18	4,31	3,83	3,51	3,29	3,12	2,99	2,88	2,80	2,73	2,66	1%
42	4,07	3,22	2,83	2,59	2,44	2,32	2,24	2,17	2,11	2,06	2,02	1,99	5%
	7,27	5,15	4,29	3,80	3,49	3,26	3,10	2,96	2,86	2,77	2,70	2,64	1%
44	4,06	3,21	2,82	2,58	2,43	2,31	2,23	2,16	2,10	2,05	2,01	1,98	5%
	7,24	5,12	4,26	3,78	3,46	3,24	3,07	2,94	2,84	2,75	2,68	2,62	1%
46	4,05	3,20	2,81	2,57	2,42	2,30	2,22	2,14	2,09	2,04	2,00	1,97	5%
	7,21	5,10	4,24	3,76	3,44	3,22	3,05	2,92	2,82	2,73	2,66	2,60	1%
48	4,04	3,19	2,80	2,56	2,41	2,30	2,21	2,14	2,08	2,03	1,99	1,96	5%
	7,19	5,08	4,22	3,74	3,42	3,20	3,04	2,90	2,80	2,71	2,64	2,58	1%
50	4,03	3,18	2,79	2,56	2,40	2,29	2,20	2,13	2,07	2,02	1,98	1,95	5%
	7,17	5,06	4,20	3,72	3,41	3,18	3,02	2,88	2,78	2,70	2,62	2,56	1%
55	4,02	3,17	2,78	2,54	2,38	2,27	2,18	2,11	2,05	2,00	1,97	1,93	5%
	7,12	5,01	4,16	3,68	3,37	3,15	2,98	2,85	2,75	2,66	2,59	2,53	1%
60	4,00	3,15	2,76	2,52	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,95	1,92	5%
	7,08	4,98	4,13	3,65	3,34	3,12	2,95	2,82	2,72	2,63	2,56	2,50	1%

(Berambung)

LAMPIRAN XI

TABEL K

(dari buku Biostatistics, Daniel Wayne W).

Error df	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	17.97	26.98	32.82	37.08	40.41	43.12	45.40	47.36	49.07
2	6.08	8.33	9.80	10.98	11.74	12.44	13.03	13.54	13.99
3	4.56	5.91	6.82	7.50	8.04	8.48	8.85	9.18	9.46
4	3.93	5.04	5.76	6.29	6.71	7.05	7.35	7.60	7.83
5	3.64	4.60	5.22	5.67	6.03	6.33	6.58	6.80	6.99
6	3.46	4.34	4.90	5.30	5.63	5.90	6.12	6.32	6.49
7	3.34	4.16	4.68	5.06	5.36	5.61	5.82	6.00	6.16
8	3.26	4.04	4.52	4.89	5.17	5.40	5.60	5.77	5.92
9	3.20	3.95	4.41	4.76	5.02	5.24	5.43	5.59	5.74
10	3.15	3.88	4.33	4.65	4.91	5.12	5.30	5.46	5.62
11	3.11	3.82	4.26	4.57	4.82	5.03	5.20	5.35	5.49
12	3.08	3.77	4.20	4.51	4.75	4.95	5.12	5.27	5.39
13	3.06	3.73	4.15	4.45	4.69	4.88	5.05	5.19	5.32
14	3.03	3.70	4.11	4.41	4.64	4.83	4.99	5.15	5.28
15	3.01	3.67	4.08	4.37	4.59	4.78	4.94	5.08	5.20
16	3.00	3.65	4.05	4.33	4.56	4.74	4.90	5.03	5.15
17	2.98	3.63	4.02	4.30	4.52	4.70	4.86	4.99	5.11
18	2.97	3.61	4.00	4.28	4.49	4.67	4.82	4.96	5.07
19	2.96	3.59	3.98	4.25	4.47	4.65	4.79	4.92	5.04
20	2.95	3.58	3.96	4.23	4.45	4.62	4.77	4.90	5.01
24	2.92	3.53	3.90	4.17	4.37	4.54	4.68	4.81	4.92
30	2.89	3.49	3.85	4.10	4.30	4.46	4.60	4.72	4.82
40	2.86	3.44	3.79	4.04	4.23	4.39	4.52	4.63	4.73
60	2.83	3.40	3.74	3.98	4.16	4.31	4.44	4.55	4.65
120	2.80	3.36	3.68	3.92	4.10	4.24	4.36	4.47	4.56
∞	2.77	3.31	3.63	3.86	4.03	4.17	4.29	4.39	4.47

Error df	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10	50.59	51.96	53.20	54.33	55.36	56.32	57.22	58.04	58.83	59.56
2	14.39	14.75	15.08	15.38	15.65	15.91	16.14	16.37	16.57	16.77
3	9.72	9.95	10.15	10.35	10.52	10.69	10.84	10.98	11.11	11.24
4	8.03	8.21	8.37	8.52	8.66	8.79	8.91	9.03	9.13	9.23
5	7.17	7.32	7.47	7.60	7.72	7.83	7.93	8.03	8.12	8.21
6	6.65	6.79	6.92	7.03	7.14	7.24	7.34	7.43	7.51	7.59
7	6.20	6.33	6.45	6.56	6.66	6.76	6.85	6.94	7.02	7.10
8	6.05	6.18	6.29	6.39	6.48	6.57	6.65	6.73	6.80	6.87
9	5.87	5.98	6.09	6.19	6.28	6.36	6.44	6.51	6.58	6.65
10	5.72	5.83	5.93	6.03	6.11	6.19	6.27	6.34	6.40	6.47
11	5.61	5.71	5.81	5.90	5.98	6.06	6.13	6.20	6.27	6.33
12	5.51	5.61	5.71	5.80	5.88	5.95	6.02	6.09	6.15	6.21
13	5.45	5.53	5.63	5.71	5.79	5.86	5.93	5.99	6.05	6.11
14	5.40	5.46	5.55	5.64	5.71	5.79	5.85	5.91	5.97	6.03
15	5.36	5.41	5.49	5.57	5.65	5.72	5.78	5.85	5.90	5.96