

INTERESTERIFIKASI ENZIMATIK DENGAN LIPASE PADA CAMPURAN MINYAK SAWIT MERAH DAN MINYAK KELAPA UNTUK MENGHASILKAN BAHAN BAKU SPREADS KAYA β -KAROTEN

Lipase Catalyzed Interesterification of Red Palm Oil and Coconut Oil Blends to Produce β -Carotene Riched Raw Spreads

Reno Fitri Hasrini⁽¹⁾, Sugiyono⁽²⁾, Purwiyatno Hariyadi⁽²⁾, Nuri Andarwulan⁽²⁾

¹⁾ Balai Besar Industri Agro (BBIA), Jl. Ir. H. Juanda No. 11, Bogor 16122

⁽²⁾ Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

ABSTRACTS: Red palm oil has several characteristics which is very suitable for raw spread, especially their high carotenoid contents which have many advantages for human health. Enzymatic interesterification (IE) with saturated and middle-long chain fatty acid (coconut oil) is one of the effective ways to improve their physical properties. The objective of this research was to obtain the best formulation of red palm oil and coconut oil blends which have the most similar characteristics with raw spreads commercial and have high β -carotene content. The stage in this research were (1) Chemical properties analysis from Crude Palm Oil (CPO), including water content, free fatty acid, peroxide value, iod value, and carotenoid total, (2) Refining and chemical properties analysis of Neutralized Red Palm Oil (NRPO), including water content, free fatty acid, peroxide value, iod value, and carotenoid total, (3) Fractionation of Neutralized Red Palm Oil (NRPO), (4) Enzymatic interesterification and physicochemical properties analysis, including slip melting point (SMP), carotenoid total, solid fat content (SFC), and fat crystallization behaviour. The results showed that products of enzymatic interesterification such as SMP and SFC profiles were higher than without enzymatic interesterification treatment, carotenoid total was not change significantly, and the crystal sizes were larger than treatment before. Enzymatic interesterification results very significant changing on physical properties from NRPO and Rpo and still have high total carotenoid. Formulation of (Rps/Rpo)/CNO with ratio 75:25, 77,5:12,5 and 82,5:17,5 b/b had most similar physical properties with profile raw spreads retail and industry. SMP value of three ratio already included in SMP commercial spreads range that are 32,63; 33,60 and 34,86 °C. After enzymatic interesterification process, total carotenoid only decreased 1,85; 2,97 and 2,93% (363,16; 378,21 and 392,81 ppm become 356,43; 366,72 and 381,32 ppm), and SFC profile on 20, 30 and 40 °C were similar with SFC profile raw spreads retail and industry.

Key words: red palm oil, β -carotene, enzymatic interesterification, spread, Lipozyme TL IM, coconut oil

PENDAHULUAN

Minyak sawit merah dalam bentuk *crude palm oil* (CPO) merupakan sumber yang kaya dari karoten alami yaitu sekitar 500 sampai 700 ppm (Unnithan and Foo, 2001). Manfaat kesehatan dan nutrisi dari kandungan karoten dalam minyak sawit merah telah diteliti oleh banyak ahli, salah satunya dapat menanggulangi defisiensi vitamin A dan zat besi pada anak-anak (Lam *et al.*, 2001). Pemberian suplemen β -karoten dari minyak sawit merah pada ibu menyusui dapat memperbaiki status vitamin A pada bayi (Canfield *et al.*, 1996), dapat meningkatkan pengaruh anti kanker dan tumor pada sel NK (*natural killer*) yang berkontribusi

pada kekebalan tubuh melawan infeksi serta penyakit berbahaya pada tubuh manusia (Ashfaq *et al.*, 2001) dan dapat mengurangi resiko arteriosklerosis pada manusia (Kritchevsky *et al.*, 2001).

Siew *et al.* (2007) mempelajari perubahan sifat fisik campuran stearin sawit dan minyak kanola yang diinteresterifikasi enzimatik dengan lipase terimobilisasi *Thermomyces lanuginosa* (Lipozyme TL IM). Hasilnya menunjukkan campuran setelah interesterifikasi enzimatik mempunyai *slip melting point* (SMP) dan *solid fat content* (SFC) lebih rendah daripada campuran stearin sawit dan minyak kanola sebelum reaksi. Hasil SMP campuran stearin sawit dan minyak kanola setelah interesterifikasi enzimatik

dengan rasio 40:60, 50:50, dan 60:40 dapat digunakan untuk aplikasi margarin batang (*stick margarine*) dan *shortening*. Dari analisis SFC, campuran stearin sawit dan minyak kanola terinteresterifikasi dengan rasio 40:60 mempunyai kurva SFC mirip dengan *vanaspati* sedangkan rasio 50:50 dan 60:40 mempunyai kurva SFC serupa dengan margarin, *puff pastry margarine* dan *shortening*.

Zhang *et al.* (2006) membandingkan stabilitas penyimpanan *hardstock* margarin dari campuran stearin sawit dan minyak kelapa (70:30) yang dibuat dengan tiga cara yaitu dengan cara *blending* secara fisik, diinteresterifikasi secara kimiawi dan diinteresterifikasi enzimatis dengan Lipozyme TL IM. Setelah disimpan pada suhu 25 °C selama 12 minggu, ternyata margarin dari lemak hasil interesterifikasi enzimatis mempunyai bilangan peroksida hampir sama dengan dicampur secara fisik, dan kedua perlakuan tersebut mempunyai bilangan peroksida lebih rendah daripada margarin dari lemak hasil interesterifikasi secara kimiawi.

Amri and Xu (2005) mencampur stearin sawit, kernel sawit dan minyak ikan (POS/PKO/FO) dalam berbagai rasio komposisi dan diinteresterifikasi enzimatis dengan lipase Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosa*) menggunakan *packed bed reactor*. Walaupun interesterifikasi enzimatis meningkatkan SFC produk pada 5 sampai 35 °C, pada suhu 35 °C SFC produk lebih rendah daripada substrat. Ini adalah karakteristik yang bagus karena dapat menurunkan SFC pada suhu tubuh. Campuran POS/PKO/FO (0,55/0,15/0,30, w/w/w%) diprediksikan mempunyai profil SFC mirip dengan margarin meja komersial.

Zainal and Yusoff (1999) juga melakukan interesterifikasi enzimatis pada stearin sawit dan olein kernel sawit. Pada suhu 60 °C interesterifikasi dengan lipase dari *Rhizomucor miehei* dapat selesai dalam 5 jam. Hasil menunjukkan bahwa interesterifikasi efektif dalam memproduksi lemak padat dengan kurang dari 0,5% kandungan trans dan SMP turun dari 40 °C sebelum interesterifikasi menjadi 29,9 °C setelah interesterifikasi.

Selain itu minyak sawit merah juga mempunyai sifat stabilitas terhadap oksidasi dan termal yang tinggi dan plastisitas (mudah dioles) pada suhu ruang (Lida and Ali, 1998) yang sangat sesuai untuk dijadikan *ingredient* campuran formulasi dan meningkatkan nilai

gizi pada produk *spreads*. Namun untuk membuat produk *spreads* minyak sawit merah harus dicampur dengan minyak lain untuk memperbaiki sifat fisiknya. Interesterifikasi enzimatis telah dikenal sebagai cara yang efektif untuk memodifikasi sifat fisik dari minyak dengan cara mengubah susunan asam lemak. Kelebihan interesterifikasi enzimatis adalah tidak adanya produk samping merugikan seperti asam lemak *trans*, suhu reaksi yang relatif lebih rendah, serta kontrol reaksi yang lebih mudah untuk memproduksi produk dengan sifat fisik yang diinginkan (Zhang *et al.*, 2004). *Spreads* menjadi pilihan aplikasi produk dalam penelitian ini karena selain penggunaan *spreads* ini sangat luas, kandungan provitamin A dari β -karoten dapat memperbaiki nilai gizi *spreads*, tidak mudah rusak oleh proses pemanasan dapat langsung diserap ke dalam tubuh, sehingga dapat dimanfaatkan oleh tubuh seoptimal mungkin. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formulasi sawit merah dan minyak kelapa hasil interesterifikasi secara enzimatis yang memiliki karakter yang paling mendekati profil *spreads* komersial dan kandungan karotenoid yang tinggi

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Crude Palm Oil* (CPO) merah, minyak kelapa (*coconut oil*=CNO) dan Lipozyme TL IM (Lipase *Thermomyces lanuginosa* immobil) dari Novo Nordisk Bioindustrial Ltd, Denmark, heksan p.a., aseton teknis, alkohol 90%, asam asetat glasial, kloroform, indikator larutan pati, larutan Wijs, HCl, fenoltalein, akuades, asam margarat, NaCl 0,88%, NaOH metanolik 0,5 N, BF₃-metanol, dan Na₂SO₄ anhidrat.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Southeast Asian Food & Agriculture Science and Technology* (SEAFAST) Center IPB dan Laboratorium Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Sartorius), *oilbath* (Napco), *hot plate*, pompa vakum, termometer alkohol (-10–110°C), oven (Fisher model 550), gelas piala (Pyrex), pipa kapiler, tabung reaksi

(Pyrex), pipet tetes, kertas saring, corong kaca, buret (Pyrex), labu takar (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), *refrigerator*, *rotary shaker bath* (Environ Shaker), sentrifus (IEC Centra-8 Centrifuge), spektrofotometer, *Nuclear Magnetic Resonance* (Bruker Minispec mq20) dan kromatografi gas (Shimadzu GC-9AM).

Metode

Analisis Sifat Kimia Bahan Baku *Crude Palm Oil* (CPO)

CPO sebagai bahan baku awal penelitian dianalisis terlebih dahulu karakteristiknya (sifat kimia). Analisis sifat kimia yang dilakukan dalam hal ini adalah analisis kadar air, asam lemak bebas, bilangan peroksida, dan bilangan iod dengan metode *AOCS Official Method* (1993), serta total karotenoid dengan metode PORIM (1995).

Pemurnian dan Analisis Sifat Kimia *Neutralized Red Palm Oil* (NRPO)

1. Degumming

Degumming dilakukan dengan metode Mas'ud (2007) dengan serta menambahkan 1,5 ml asam fosfat (H_3PO_4) 85% pada 1 liter CPO. Pemanasan dilakukan dengan *hot plate* hingga suhu $80^\circ C$ sambil diaduk. Setelah mencapai suhu $80^\circ C$, dipertahankan selama 15 menit, selanjutnya minyak disaring untuk memisahkan gum yang terbentuk. Proses penyaringan dilakukan dengan pompa vakum dan kertas saring dalam keadaan panas.

2. Netralisasi

Proses netralisasi dilakukan dengan metode Mas'ud (2007) pada minyak sawit yang telah di-*degumming* (*degummed red palm oil*/DRPO). Pemanasan dilakukan pada 1 liter DRPO sampai suhu $59^\circ C$, lalu ditambahkan NaOH yang jumlahnya sesuai dengan kadar asam lemak bebas CPO. Suhu tersebut tetap dipertahankan selama 25 menit sambil terus diaduk. Sabun yang terbentuk dipisahkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 2500 rpm selama 20 menit dan diperoleh *neutralized red palm oil* (NRPO). Terhadap NRPO ini dilakukan analisis kimia seperti kadar air, kadar asam lemak bebas, bilangan peroksida, bilangan iod, dan total karotenoid.

Fraksinasi (Aini *et al.*, 2001 yang dimodifikasi)

NRPO hasil netralisasi ini dipanaskan pada suhu $60^\circ C$, lalu diagitasi dengan kecepatan 12 rpm. Kristal akan terbentuk pada saat sampel didinginkan. lalu proses fraksinasi dihentikan pada suhu ruang ($\pm 25^\circ C$). NRPO dipindahkan ke dalam tabung sentrifus 50 ml dan diendapkan semalam. Pemisahan fraksi padat merah (*red palm stearin*/Rps) dan fraksi cair merah (*red palm olein*/Rpo) dilakukan dengan sentrifugasi pada kecepatan 2500 rpm selama 25 menit. Rpo merupakan bahan baku II dalam proses interesterifikasi enzimatik. Kemudian Rpo dan Rps yang sudah dipisah dicampur kembali dengan rasio (Rps/Rpo) adalah 50:50 %b/b dan ini menjadi bahan baku III.

Interesterifikasi Enzimatik dan Analisis Sifat Fisikokimianya

Dalam proses interesterifikasi enzimatik digunakan tiga macam bahan baku minyak sawit merah yaitu NRPO (bahan baku I), Rpo (bahan baku II) dan Rps/Rpo rasio 50/50 (%b/b) (bahan baku III) yang akan dicampur dengan CNO. Rasio pencampuran antara tiga bahan baku dengan CNO dapat dilihat pada Tabel 1. Lalu dilakukan analisis total karotenoid (PORIM, 1995), *Solid Fat Content* (SFC) (Anonim, 1999), dan sifat kristalisasi lemak (Narine and Marangoni, 1999) pada campuran sebelum interesterifikasi enzimatik.

Tabel 1. Perlakuan rasio campuran bahan baku (minyak sawit merah dan minyak kelapa) pada interesterifikasi enzimatik

Rasio tiga jenis bahan baku	Kode
Bahan baku I RPO:CNO (%b/b)	
80:20	NC82
82,5:17,5	NC81
Bahan baku II Rpo:CNO (%b/b)	
80:20	OC82
82,5:17,5	OC81
Bahan baku III (Rps/Rpo):CNO (%b/b)	
75:25	SOC72
77,5:12,5	SOC71
82,5:17,5	SOC81

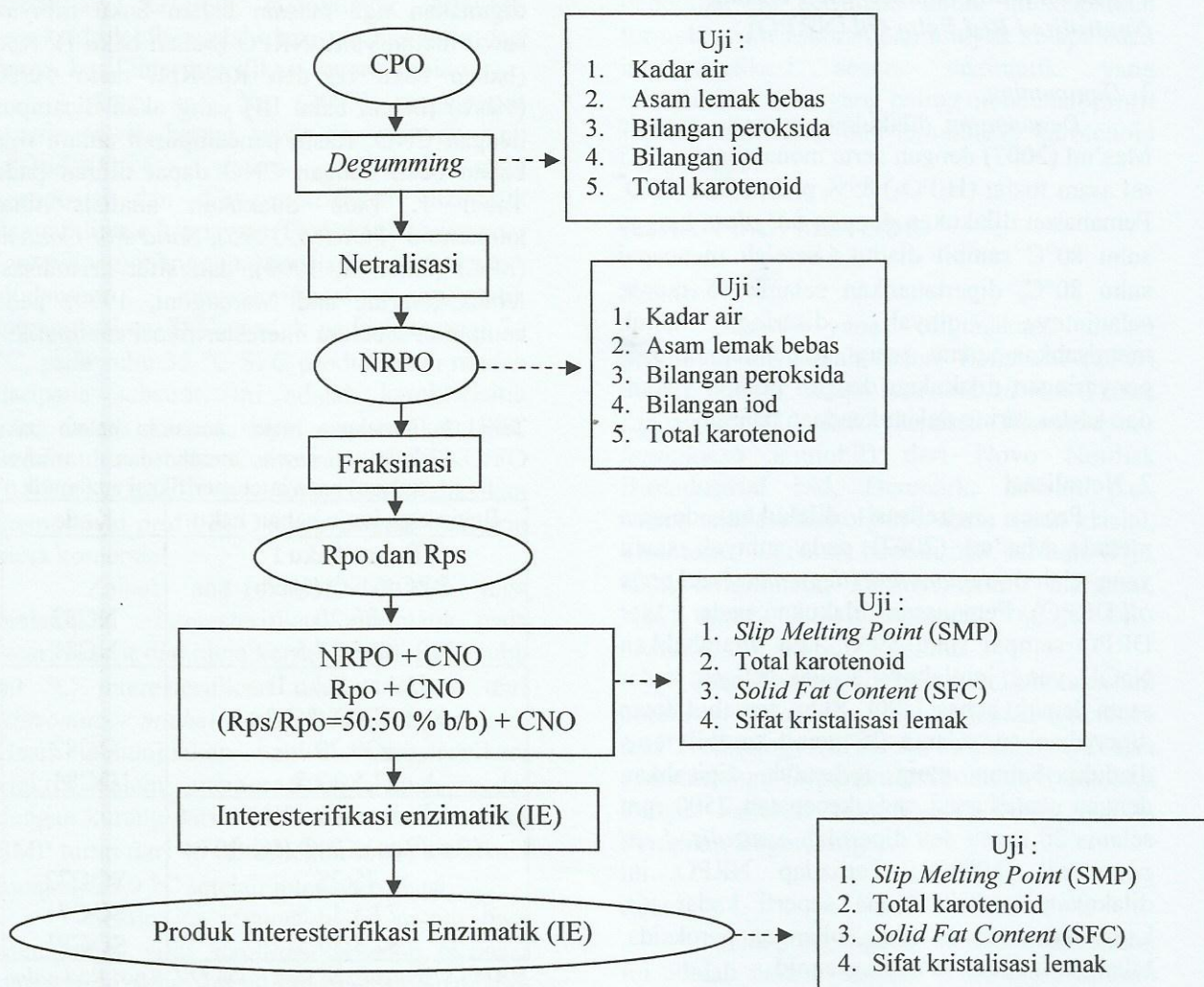
NRPO : *Neutralized Red Palm Oil*, Rpo: *Red palm olein*, Rps: *Red palm stearin*, CNO: *Coconut Oil*

Proses interesterifikasi enzimatis yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode Zhang *et al.* (2001) yang dimodifikasi. Menurut metode ini bahwa sampel bahan baku sebanyak 10 g sesuai rasio pada Tabel 1 dimasukkan ke dalam erlenmeyer 25 ml. Kemudian sampel tersebut diagitasi dengan *rotary shaker bath* pada kecepatan 200 rpm pada suhu 60°C. Setelah mencapai suhu 60°C, sampel diambil sebagian untuk dianalisis sifat fisikokimianya yaitu pengukuran *slip melting point* (SMP), total karotenoid, *solid fat content* (SFC), dan sifat kristalisasi lemak dari campuran sebelum interesterifikasi enzimatis. Pada bagian sampel yang lainnya selanjutnya ditambahkan enzim *Lipozyme TL IM* sebanyak 10 % (b/b) dan di-shaker kembali selama 4 jam. Setelah 4 jam, hasil interesterifikasi enzimatis tersebut diangkat dan disaring. Setelah disaring diperoleh produk interesterifikasi enzimatis, selanjutnya

dianalisis sifat fisikokimianya seperti yang dilakukan terhadap sampel campuran sebelum interesterifikasi enzimatis. Keseluruhan proses penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan 1 faktor. Respon pengamatan yang diolah yaitu *slip melting point* (SMP) bahan baku, produk dan kontrol, total karotenoid bahan baku dan produk, dan *solid fat content* (SFC) pada bahan baku dan produk pada 6 suhu pengamatan. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Varians* (Anova) pada RAL. Selanjutnya data hasil Anova yang berpengaruh nyata diuji lanjut dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%.



Gambar 1. Interesterifikasi enzimatis dengan lipase

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Sifat Kimia Bahan Baku CPO dan Hasil Pemurnian (NRPO)

Bahan baku CPO dalam penelitian ini sebelum digunakan untuk proses lebih lanjut, terlebih dahulu dianalisis sifat kimianya untuk memastikan layak atau tidaknya bahan baku ini digunakan. Analisis kimia yang dilakukan adalah penentuan kadar air (KA), asam lemak bebas (ALB), bilangan peroksida, bilangan iod dan total karotenoid. Setelah dilakukan analisis kimia terhadap bahan baku, selanjutnya

dilakukan proses pemurnian. Proses pemurnian yang dilakukan terdiri dari dua tahap, yaitu *degumming* dan proses netralisasi. Hasil akhir dari proses netralisasi ini diperoleh minyak sawit merah dalam kondisi ternetralisasi atau yang dikenal dengan *neutralized red palm oil* (NRPO). Terhadap NRPO ini selanjutnya dilakukan analisis sifat kimia. Analisis sifat kimia yang dilakukan mirip dengan analisis kimia terhadap bahan baku CPO yang digunakan. Hasil analisis sifat kimia bahan baku CPO dan hasil pemurniannya (NRPO) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis sifat kimia terhadap bahan baku CPO dan setelah dilakukan pemurnian dalam bentuk ternetralisasi (NRPO)

Jenis Analisis Sifat Kimia	Jenis Bahan yang Dianalisis	
	Bahan baku CPO	Hasil pemurnian dalam bentuk ternetralisasi (NRPO)
Kadar Air (KA) (%)	0,043	0,035
Asam Lemak Bebas (ALB) (%)	3,88	0,64
Bilangan Peroksida (mg/100 g minyak)	2,14	2,32
Bilangan Iod (mg/g)	50,61	52,49
Total Karotenoid (ppm)	512,74	511,31

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa, hasil analisis sifat-sifat kimia bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh hasilnya sebagai berikut: kadar air (KA) 0,043%, asam lemak bebas (ALB) 3,88 %, bilangan peroksida 2,14 mg oksigen/100g minyak, bilangan iod 50,61 mg/g, dan total karotenoid 512,74 ppm. Menurut Willis and Marangoni (2002), kadar air optimal untuk interesterifikasi oleh lipase berkisar di antara 0,04% sampai 11% (w/v). Hal ini memperlihatkan bahwa nilai kadar air dari bahan baku CPO yang digunakan dalam penelitian ini masih berada dalam kisaran kadar air yang baik untuk interesterifikasi enzimatis. Kadar ALB bahan baku CPO yang digunakan adalah sangat dipengaruhi oleh kadar air, dalam hal ini semakin tinggi nilai kadar air, maka semakin tinggi juga kadar ALB, atau sebaliknya. Kadar ALB ini menandakan terjadi hidrolisis terhadap bahan baku CPO.

Bilangan peroksida dan bilangan iod yang dimiliki bahan baku CPO yang digunakan dalam penelitian ini masih cukup baik untuk menjadi bahan baku interesterifikasi enzimatis. Selain itu, nilai total karotenoid pada bahan baku CPO yang digunakan juga sudah memenuhi syarat yaitu

harus di atas 500 ppm karena akan terjadi penurunan selama proses pengolahan. Menurut Gee (2007), CPO merupakan sumber alami terbesar untuk karotenoid. Rata-rata minyak sawit memiliki karotenoid berkisar antara 500-700 ppm, bervariasi menurut tingkat kematangan dan genotip dari buah (Winarno, 1999).

Hasil proses pemurnian bahan baku diperoleh minyak sawit merah dalam bentuk ternetralisasi, yaitu *Neutralized Red Palm Oil* (NRPO). Hasil analisis sifat kimia NRPO mirip dengan analisis kimia yang digunakan terhadap bahan baku CPO yang digunakan (Gambar 1), yaitu kadar air (KA), asam lemak bebas (ALB), bilangan peroksida, bilangan iod, dan total karotenoid. Adapun hasil analisis sifat kimia yang diperoleh adalah sebagai berikut: Kadar air 0,035%; ALB 0,64 %, bilangan peroksida 2,32 mg oksigen/100 gram minyak, bilangan iod 52,49 mg/g, dan total karotenoid adalah sebesar 511,31 ppm.

Karakteristik kimia NRPO mempunyai nilai lebih kecil dibandingkan dengan CPO karena telah dilakukan proses pemurnian yaitu *degumming* dan netralisasi. Perubahan yang paling signifikan terjadi pada kadar asam lemak bebas, karena netralisasi atau deasidifikasi merupakan suatu proses untuk

menghilangkan asam lemak bebas dalam minyak atau lemak dengan penambahan alkali sehingga membentuk sabun (*soap stock*). Sabun yang terbentuk ini dapat juga menyerap sedikit zat warna minyak, sehingga minyak yang dihasilkan lebih jernih dari minyak kasar (*crude oilnya*) (Djarmiko dan Ketaren, 1985).

Pada Tabel 2 dapat dilihat juga, bahwa nilai bilangan peroksida mengalami peningkatan dari 2,14 menjadi 2,32 mg/100 g minyak. Peningkatan bilangan peroksida pada NRPO disebabkan karena terjadinya kontak dengan oksigen selama proses pemurnian. Bilangan peroksida ini menggambarkan bahwa suatu minyak telah mengalami oksidasi akibat kontak dengan oksigen. Oksidasi mengakibatkan pembentukan peroksida dan hidroperoksida. Tingkat selanjutnya adalah terurainya asam-asam lemak disertai dengan konversi hidroperoksida menjadi aldehid dan keton serta asam-asam lemak bebas (Ketaren, 2005). Selanjutnya bilangan iod menggambarkan banyaknya ikatan rangkap atau ikatan tidak jenuh dalam minyak (Ketaren, 2005). Total karotenoid pada NRPO bila dibandingkan dengan nilai total karotenoid dari bahan baku CPO telah terjadi sedikit penurunan dari 512,74 menjadi 511,31 ppm. Hal ini disebabkan oleh proses pemanasan selama pemurnian, yaitu pada tahap *degumming* dan proses netralisasi. Adanya proses pemanasan dapat menurunkan nilai total karotenoid, karena karotenoid ini sangat rentan dengan adanya cahaya dan panas.

Interesterifikasi Enzimatis dan Analisis Sifat Fisikokimia

Sebelum dilakukan proses interesterifikasi enzimatis, terhadap minyak sawit murni dalam bentuk netralisasi (NRPO), selanjutnya dilakukan proses fraksinasi. Proses fraksinasi ini dilakukan dengan cara pemanasan minyak sawit merah murni (NRPO), agitasi, pendinginan dan pengendapan. Dari hasil fraksinasi ini diperoleh dua jenis fraksi minyak sawit merah, yaitu dalam bentuk fraksi padat merah (*red palm stearin/Rps*), dan fraksi cair merah (*red palm olein/Rpo*). Kedua jenis fraksi ini dapat dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Selanjutnya kedua jenis fraksi ini dapat digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan *spreads* dengan proses interesterifikasi enzimatis menggunakan enzim *Lipozyme* TL IM. Bahan baku yang digunakan untuk reaksi interesterifikasi enzimatis dalam penelitian ini ada tiga jenis, yaitu (1). Bahan baku I yang terdiri dari NRPO dan CNO dengan perbandingan 80:20 (kode NC82), dan 82,5:17,5 (kode NC81), (2). Bahan baku II yang terdiri dari Rpo dan CNO dengan perbandingan 80:20 (kode OC82) dan 82,5:17,5 (kode OC81), (3). Bahan baku III yang terdiri dari Rps/Rpo dan CNO dengan perbandingan berturut-turut adalah 75:25; 77,5:12,5 dan 82,5: 17,5 (kode SOC72, SOC71 dan SOC81).

Kemudian terhadap ketiga bahan baku ini dianalisis sifat fisikokimianya sebelum dan sesudah reaksi interesterifikasi enzimatis (IE). Hasil analisis fisikimia (*Slip Melting Point* (SMP) dan total karotenoid sebelum dan sesudah reaksi IE dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata nilai *slip melting point* (SMP) dan total karotenoid pada campuran sebelum dan setelah interesterifikasi enzimatis (IE)

Perlakuan	Kode	Nilai SMP (°C)		Total Karotenoid (ppm)	
		Sebelum IE	Setelah IE	Sebelum IE	Setelah IE
NRPO:CNO					
80:20	NC82	29,55 ± 0,65 ^d	32,13 ± 1,36 ^c	410,53 ± 3,16 ^d	395,93 ± 1,66 ^d
82,5:17,5	NC81	30,61 ± 0,79 ^c	33,06 ± 0,52 ^{bc}	454,33 ± 2,87 ^b	449,79 ± 3,16 ^a
Rpo:CNO					
80:20	OC82	20,80 ± 1,06 ^e	30,80 ± 0,47 ^d	439,49 ± 3,91 ^c	425,37 ± 2,26 ^c
82,5:17,5	OC81	21,50 ± 0,71 ^e	32,25 ± 0,73 ^c	460,79 ± 3,94 ^a	444,51 ± 5,26 ^b
(Rps/Rpo):(CNO)					
75:25	SOC72	31,15 ± 0,23 ^c	32,63 ± 0,15 ^{bc}	363,13 ± 3,35 ^g	356,43 ± 2,39 ^g
77,5:12,5	SOC71	33,34 ± 0,78 ^b	33,60 ± 0,94 ^b	378,21 ± 3,03 ^f	366,72 ± 4,06 ^f
82,5:17,5	SOC81	36,19 ± 0,28 ^a	34,86 ± 0,74 ^a	392,81 ± 2,86 ^e	381,32 ± 3,72 ^e

Data ± Standar Deviasi. Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (DMRT).

Slip Melting Point (SMP) dan Total Karotenoid

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa hasil analisis bahan baku yang berbeda, dengan adanya reaksi IE menunjukkan kecenderungan peningkatan nilai SMP yang berbeda pula. Bahan baku NRPO dan bahan baku Rpo yang dicampur dengan CNO dengan kode NC82, NC81, OC82 dan OC81 mengalami peningkatan nilai SMP sebesar 2,58; 2,45; 10,00 dan 10,75 °C. Sedangkan pada bahan baku Rps/Rpo yang dicampur dengan CNO, hanya sedikit mengalami peningkatan nilai SMP. Pada kode SOC72 dan SOC71 terjadi kenaikan nilai SMP sebesar 1,48 °C dan 0,26 °C. Peningkatan nilai SMP pada campuran *red palm olein* sawit dapat berhubungan dengan peningkatan jumlah gliserida bertitik leleh tinggi dari sintesis tripalmitin (PPP), 1,3-dipalmitoil gliserol (PSP) (Long *et al.*, 2003), dan 1,2-dipalmitoil-stearoil gliserol (PPS) (Yassin *et al.*, 2001) yang terbentuk selama transesterifikasi. Konsentrasi terkombinasi dari *polyunsaturates* menurun, ketika *full saturates* dan *monounsaturates* meningkat, meningkatkan nilai SMP produk (Yassin *et al.*, 2001). Sedangkan pada kode SOC81 terjadi penurunan nilai SMP sebesar 1,33 °C. Menurut Long *et al.* (2003), penurunan nilai SMP pada campuran stearin sawit kemungkinan berhubungan dengan hidrolisis *trisaturated triaasil gliserol* (TAG) tripalmitin yang dikenal sebagai gliserida bertitik leleh tinggi. Hal ini sesuai dengan kadar air dan ALB Rps/Rpo yang tinggi mengindikasikan terjadinya hidrolisis.

Perbedaan nilai SMP ini juga terjadi pada hasil penelitian Long *et al.* (2003) yang melakukan transesterifikasi enzimatis antara stearin dan olein sawit dengan *flaxseed oil* dengan rasio 90:10 dan dikatalisasi dengan lipase *Lipozyme* TL-IM. Nilai SMP stearin sawit/*flaxseed oil* menurun sebesar 7,6 °C dari 48,3 °C menjadi 40,7 °C. Sedangkan nilai SMP produk transesterifikasi olein sawit/*flaxseed oil* meningkat sebesar 5,8 °C dari 14,1 °C menjadi 19,9 °C.

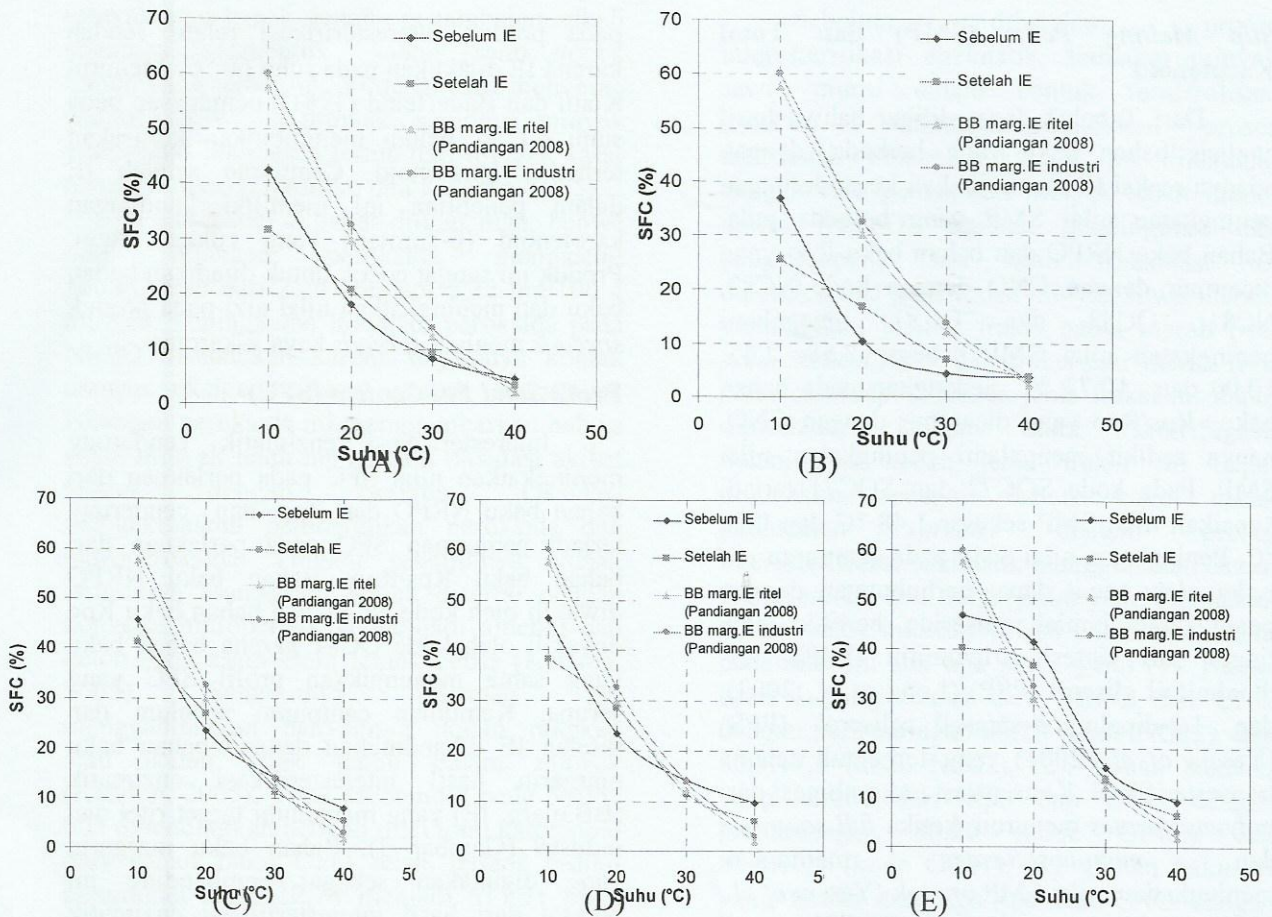
Dari Tabel 3 juga dapat dilihat bahwa pada proses interesterifikasi enzimatis (IE) cenderung terjadi penurunan total karotenoid pada semua perlakuan, tetapi penurunannya hanya berkisar 1,01-3,64 %, dan ini tidak berbeda nyata. Penurunan total karotenoid

pada produk interesterifikasi relatif rendah karena IE dilakukan pada suhu 60 °C. Menurut Klaui dan Bauerfeind (1981), pemanasan pada suhu 60 °C belum menimbulkan kerusakan terhadap karotenoid. Campuran setelah IE dalam penelitian ini memiliki kandungan karotenoid (β -karoten) yang cukup tinggi. Produk ini sangat cocok untuk dijadikan bahan baku dan meningkatkan nilai gizi pada produk *spreads* menjadi *spreads* kaya β -karoten

Profil Solid Fat Content (SFC)

Interesterifikasi enzimatis cenderung meningkatkan nilai SFC pada perlakuan dari bahan baku NRPO dan Rpo, dan cenderung terjadi penurunan SFC pada perlakuan dari bahan baku Rps/Rpo. Bahan baku NRPO diwakili oleh kode NC81 dan bahan baku Rpo diwakili oleh kode OC81 karena bahan baku yang sama menunjukkan profil SFC yang serupa. Kemudian campuran sebelum dan setelah IE dibandingkan dengan bahan baku margarin hasil interesterifikasi enzimatis (BB.marg. IE) yang memenuhi target ritel dan industri (Gambar 2). Bahan baku margarin yang digunakan sebagai pembanding ini berasal dari hasil interesterifikasi enzimatis *palm oil (po):palm stearin (ps):coconut oil(cno)* dengan perbandingan 55:30:15 untuk target ritel, dan perbandingan 45:40:15 untuk target industri (Pandiangan, 2008).

Kurva SFC campuran sebelum IE pada kode NC81 dan OC81 cenderung lebih curam dibandingkan campuran setelah IE. Hasil yang diperlihatkan pada Gambar 2 adalah nilai SFC cenderung mengalami penurunan pada suhu 10 °C, dan cenderung mengalami peningkatan pada suhu 20 dan 30 °C, serta tidak terjadi perubahan SFC yang signifikan pada suhu 40 °C pada campuran setelah IE. Peningkatan nilai SFC pada suhu 20 dan 30 °C lebih signifikan pada kode OC81 daripada NC81. Peningkatan nilai SFC ini berhubungan erat dengan peningkatan nilai SMP. Menurut Long *et al.* (2003) peningkatan nilai SFC berhubungan dengan peningkatan jumlah gliserida bertitik leleh tinggi dari sintesis tripalmitin (PPP), 1,3-dipalmitoil gliserol (PSP) (Long *et al.*, 2003), dan 1,2-dipalmitoil-stearoil gliserol (PPS) (Yassin *et al.*, 2001) yang terbentuk selama transesterifikasi enzimatis.



Gambar 2. Profil *solid fat content* (SFC) dari campuran sebelum dan setelah interesterifikasi enzimatis (IE) dengan kode NC81 (A), OC81 (B), SOC72 (C), SOC71 (D) SOC81 (E), yang dibandingkan dengan profil SFC bahan baku margarin (BB.marg.) IE ritel dan industri

Gambar 2 juga memperlihatkan bahwa rata-rata pada kode NC81 dan OC81 sebelum IE, terjadi penurunan nilai SFC yang tajam pada suhu 10-20 °C. Hal ini menunjukkan adanya interaksi eutektik pada suhu tersebut. Interaksi eutektik adalah interaksi antar komponen yang mengakibatkan campuran mempunyai titik leleh lebih rendah daripada titik leleh tiap-tiap komponennya. Interaksi eutektik terjadi karena perbedaan ukuran molekuler trigliserida, bentuk atau polimorfisme kristal diantara dua tipe lemak (Lida *et al.*, 2002). Karakteristik fisik dari campuran lemak tidak menunjukkan kombinasi linear dari komponennya, yang mengindikasikan adanya beberapa interaksi diantara komponen-komponennya (Dieffenbacher, 1988). Interaksi eutektik paling sering terjadi pada suhu 10-20 °C karena pada suhu ini trigliserida dengan asam lemak berantai pendek dan sedang, mulai

mengkristal sendiri-sendiri dalam campuran (Lida *et al.*, 2002).

Kemudian nilai SFC pada campuran setelah IE pada kode NC81 dan OC81 lebih tinggi jika dibandingkan dengan campuran sebelum IE pada suhu diatas 10 °C, hal ini karena interaksi eutektik yang terjadi diantara minyak sawit merah dan CNO dalam campuran minyak sawit merah dan CNO, yang membuat campuran lebih lunak, tereliminasi setelah interesterifikasi enzimatis (Lida *et al.*, 2002).

Nilai SFC pada kode SOC72 dan SOC71 setelah IE cenderung terjadi penurunan pada suhu 10, 30 dan 40 °C dan mengalami peningkatan SFC pada suhu 20 °C. Sedangkan pada kode SOC81 setelah IE cenderung terjadi penurunan SFC pada semua suhu pengamatan (Gambar 2). Kecenderungan penurunan SFC campuran setelah interesterifikasi enzimatis pada kode SOC72, SOC71 dan khususnya

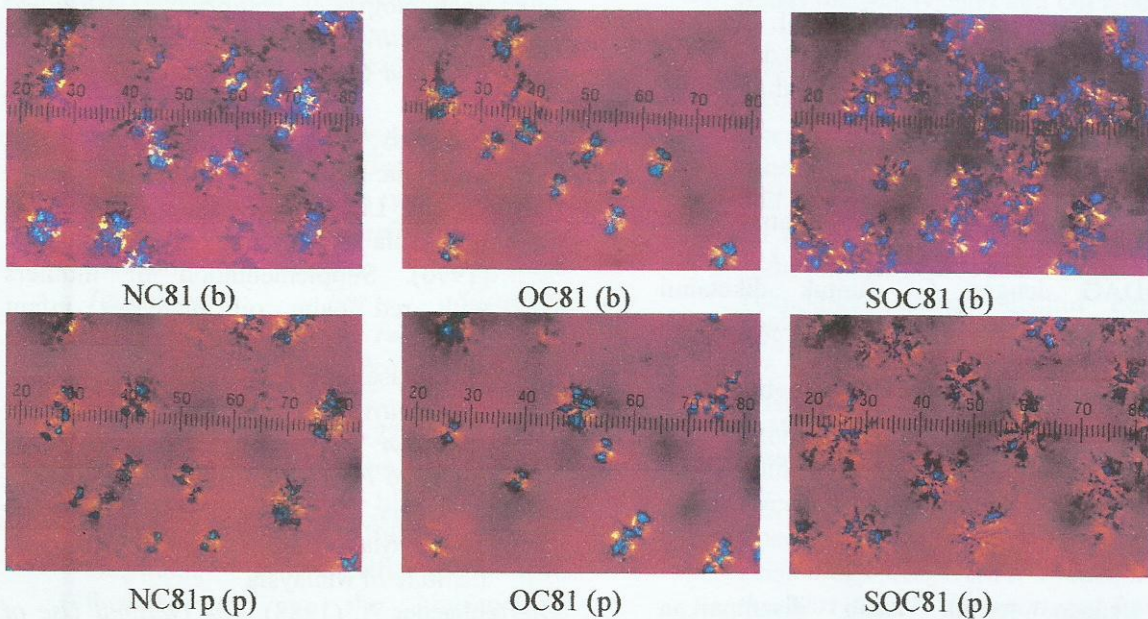
SOC81 berhubungan dengan penurunan SMP yang diakibatkan adanya air dan ALB pada bahan baku ketiga perlakuan tersebut yaitu Rps/Rpo. Rps/Rpo mempunyai KA dan ALB paling besar sehingga dampaknya terjadi hidrolisis yang mengakibatkan pembentukan ALB. Nilai SFC ini akan menurun jika kandungan ALB meningkat (Zhang *et al.*, 2001).

Profil SFC campuran setelah IE dengan kode SOC72 dan SOC71 sudah cukup mendekati profil SFC bahan baku margarin IE ritel dan industri, terutama pada suhu 20, 30 dan 40 °C. Sedangkan profil SFC dengan kode SOC81 setelah proses IE pada suhu 20, 30 dan 40 °C berada di atas profil SFC bahan baku margarin IE ritel dan industri. Berdasarkan nilai SFC, kode SOC72 dan SOC71 setelah proses IE mempunyai sifat fisik hampir menyamai bahan baku margarin IE ritel dan industri. Sedangkan kode SOC81 setelah proses IE mempunyai tekstur lebih padat dibandingkan bahan baku margarin IE ritel dan

industri. Nilai SFC yang rendah pada suhu 10 °C menunjukkan bahwa bahan baku *spreads* dengan kode SOC72, SOC71 dan SOC81 lebih *spreadable* pada suhu refrigerator dibandingkan bahan baku margarin IE ritel dan industri.

Sifat Kristalisasi Lemak

Hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali terhadap sifat kristalisasi lemak dari campuran sebelum dan sesudah proses IE dengan kode NC81, OC81 dan SOC81 dapat dilihat pada Gambar 3. Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa, bahan baku dengan kode NC81 sebelum proses IE mempunyai kristal lemak berbentuk jarum dan bola/*spherical* dengan jaringan kluster-kluster. Sedangkan bahan baku dengan kode NC82 dan NC81 setelah proses IE, kristalnya berbentuk *spherical* tunggal, cenderung tidak membentuk kluster dan menyebarkan.



Gambar 3. Foto sifat kristalisasi lemak dari campuran bahan baku, sebelum (b) dan setelah (p) proses IE dengan kode NC81, OC81 dan SOC81 (perbesaran 400X)

Kristal pada bahan baku dengan kode OC81 sebelum IE berbentuk *spherical* tunggal, tidak membentuk kluster dan menyebarkan jarang-jarang. Semakin besar persentase bahan baku Rps/Rpo, maka semakin padat kluster-kluster kristal jarum dan semakin membentuk percabangan dan rantai yang panjang. Sedangkan pada bahan baku dengan kode

OC81 setelah proses IE, menunjukkan struktur yang hampir sama dengan sebelum IE. Bahan baku dengan kode SOC81 setelah proses IE masih berbentuk jarum, hanya saja berukuran lebih besar dan cenderung tunggal, tersebar merata dengan jarak dan ukuran yang hampir sama.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan:

1. Interesterifikasi enzimatis (IE) cenderung menghasilkan produk dengan nilai SMP dan profil SFC lebih tinggi, perubahan total karotenoid yang tidak signifikan, serta ukuran kristal menjadi lebih besar,
2. Proses IE dapat mengakibatkan perubahan yang sangat signifikan pada sifat fisik perlakuan dari bahan baku NRPO dan Rpo, serta kedua bahan baku ini mempunyai total karotenoid cukup tinggi.
3. Hasil formulasi dengan karakter fisik paling mendekati bahan baku margarin IE ritel dan industri adalah (Rps/Rpo):CNO dengan rasio 75:25, 77,5:12,5 dan 82,5:17,5 b/b, dengan nilai SMP sudah termasuk ke dalam kisaran SMP *spreads* komersial yaitu 32,63; 33,60 dan 34,86 °C. Setelah proses interesterifikasi enzimatis total karotenoid hanya turun 1,85; 2,97 dan 2,93% (363,16; 378,21 dan 392,81 ppm menjadi 356,43; 366,72 dan 381,32 ppm), dan profil SFC pada suhu 20, 30 dan 40 °C mirip dengan profil SFC bahan baku margarin IE ritel dan industri.

Saran:

1. Disarankan dilakukan pengamatan profil trigliserida dengan HPLC dan komposisi MDAG dengan GC untuk diketahui dengan pasti profil trigliserida dan jumlah MDAG secara kuantitatif.
2. Karena kadar asam lemak bebas agak tinggi maka perlu dilakukan deasidifikasi kembali pada produk interesterifikasi enzimatis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Riset Unggulan Strategis Nasional-Riset Teknologi (RUSNAS-RISTEK) Industri Hilir Kelapa Sawit yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aini IN, Razali I, Lida HMDN, Miskandar MS, Radzuan J. (2001). Blending of palm products with other commercial oil and fats for food applications. Di dalam: *Cutting-Edge Technologies For*

Sustained Competitiveness Food Technology and Nutrition Conference. Proceedings 2001 PIPOC International Palm Oil Congress; Malaysia, 20-22 August 2001. Malaysia: Malaysian Palm Oil Board.

Amri NI, Xu X. (2005). Physicochemical properties of enzymatically interesterified palm oil and fish oil blend. Di dalam: *Proceedings of Nutraceutical, Nutrition and Functional Food Conference. PIPOC 2005 International OAlm Oil Congress Technological Breakthroughs and Commercialization The Way Forward*; Malaysia, 25-29 September 2005. Malaysia: Malaysian Palm Oil Board.

Anonymous. (1999). Bruker Minispec PC 100 Typical Applications Food Industry. Bangkok: Bruker South East Asia.

Ashfaq MK, Zuberi HS, and Waqar MA. (2001). "Vitamin-E and β -carotene affect anti cancer immunity: in vitro and in vivo studies". Di dalam: *Cutting-Edge Technologies For Sustained Competitiveness Food Technology and Nutrition Conference. Proceedings 2001 PIPOC International Palm Oil Congress*; Malaysia, 20-22 August 2001. Malaysia: Malaysian Palm Oil Board.

Canfield LM, Liu Y, deKaminsky R, Castillo C, Zavala G, Garner C, and Pagoaga E. (1996). Supplementation of mothers with red palm oil increases infant vitamin A status. Di dalam: Chandrasekran dan Sundram K, editor. *Competitiveness for The 21st Century Nutrition Conference. Proceedings of the 1996 PORIM International Palm Oil Congress*; Malaysia, 23-28 September 1996. Malaysia: Palm Oil Research Institute of Malaysia

Dieffenbacher A. (1988). *The Optimal Use of Oil and Fats in Foods*. Nestec Ltd. Technical Assistance, Vevey, Switzerland.

Djarmiko B, dan Ketaren S. (1985). *Pemurnian Minyak*. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Bogor: Fateta-IPB.

Gee, PT. (2007). Analytical characteristics of crude and refined palm oil and fractions. *Eur.J.Lipid. Sci. Technol* (109):373-379.

Klaui H, and Bauernfeind JC. (1981). Carotenoid as Food Colour. Di dalam: Bauernfeind JC, editor. *Carotenoids as*

- Colorants and Vitamin A Precursor*. London: Academic Press.
- Kritchevsky D, Tepper SA, Czarnecki SK, and Sundram K. (2001). "Red palm oil in experimental atherosclerosis". Di dalam: *Cutting-Edge Technologies For Sustained Competitiveness Food Technology and Nutrition Conference. Proceedings 2001 PIPOC International Palm Oil Congress*; Malaysia, 20-22 August 2001. Malaysia: Malaysian Palm Oil Board.
- Ketaren, S. (2005). *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Lida HMDN, Sundram K, Siew WL, Aminah A, and Mamot S. (2002). TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil, and palm kernel olein before and after chemical interesterification. *JAACS* 79(11):1137-1144.
- Lida HMDN, and Ali ARM. (1998). Physicochemical characteristics of palm-based oil blends for the production of reduced fat spreads. *JAACS* 75(11):1625-1631.
- Lam NT, Yet HT, Hai LT, Huong PT, Ha NT, and Huan TT (2001). Effects of red palm oil supplementation on vitamin a and iron status of rural underfive children in vietnam. Di dalam: *Cutting-Edge Technologies For Sustained Competitiveness Food Technology and Nutrition Conference. Proceedings 2001 PIPOC International Palm Oil Congress*; Malaysia, 20-22 August 2001. Malaysia: Malaysian Palm Oil Board.
- Long K, Zubir I, Hussin AB, Idris N, Ghazali HM, and Lai OM. (2003). Effect of enzymatic transesterification with flaxseed oil on the high-melting glycerides of palm stearin and palm olein. *JAACS* 80(2):133-137.
- Mas'ud, F. (2007). Kendali proses deasidifikasi untuk meminimalkan kerusakan karotenoid dalam pemurnian minyak sawit (*Elaeis guineensis*, Jacq). [tesis]. Bogor: Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Narine SS, and Marangoni AG. (1999). Fractal nature of fat crystal networks. *Phys. Rev.* Vol.59.
- Pandiangan P. (2008). Studi proses interesterifikasi enzimatik (EIE) campuran minyak sawit dan minyak kelapa untuk produksi bahan baku margarin bebas asam lemak *trans* [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- PORIM. (1995). *PORIM Test Methods*. Malaysia: Palm Oil Research Institute of Malaysia; Ministry of Primary Industries.
- Siew WL, Cheah KY, and Tang WL. (2007). Physical properties of lipase-catalysed interesterification of palm stearin with canola oil blends. *Eur.J.Lipid Sci.Technol* (109):97-106.
- Unnithan UR, and Foo SP. (2001). FTN6: Red Palm Oil: Current Advancements in Our Knowledge. Di dalam: *Cutting-Edge Technologies For Sustained Competitiveness Food Technology and Nutrition Conference. Proceedings 2001 PIPOC International Palm Oil Congress*; Malaysia, 20-22 August 2001. Malaysia: Malaysian Palm Oil Board.
- Willis WM, and Marangoni AG.(2002). Enzymatic interesterification. Di dalam: Akoh CC, Min DB, editor. *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Second Edition, Revise and Expand*. New York, Basel.
- Winarno FG. (1999). *Minyak Goreng dalam Menu Masyarakat*. Pusat Pengembangan Teknologi Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yassin AAA, Ibrahim MN, Ibrahim IO, and Yusoff MSA. (2001). Enzymatic interesterification of palm olein using immobilized lipase. Di dalam: *Cutting-Edge Technologies For Sustained Competitiveness Chemistry and Technology Conference. Proceedings of the 2001 PIPOC International Palm Oil Congress*; Malaysia, 20-22 August 2001. Malaysia: Malaysian Palm Oil Board.
- Zainal Z, and Yusoff MSA. (1999). Enzymatic interesterification of palm stearin and palm kernel olein, production of structured lipid containing oleic and palmitic acid in organic solvent free system. *J.Am. Oil Chem. Soc.*, Vol. 76,1003-1008.
- Zhang H, Jacobsen CM Pedersen LS, Christensen MW, and Adler-Nissen J. (2006). Storage stability of margarines

produced from enzymatically interesterified fats compared to those prepared by conventional methods-chemical properties. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol* (108) 227-238.

Zhang H, Smith P, and Nissen JA. (2004). Effects of degree of enzymatic interesterification on the physical properties of margarine fats:solid fat content, crystallization behaviour, crystal

morphology, and crystal network. *J.Agric.Food.Chem* (52):4423-4431.

Zhang H, Xu X, Nilsson J, Mu H, Adler-Nissen J, and Høy CE.(2001). Production of margarine fats by enzymatic interesterification with silica-granulated *Thermomyces lanuginosa* lipase in a large-scale study. *JAOC* Vol.78(1):57-64.