STUDI PEMBUATAN MENTEGA COKELAT TIRUAN DARI MINYAK SAWIT DENGAN PROSES INTERESTERIFIKASI ENZIMATIK

Budiatman Satiawihardja

Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian - IPB

ABSTRACT

The more abundance palm oil supply in Indonesia in one hand and the higher demand of cocoa butter on the other hand, has resulted in the requirement to diversify palm oil's products. Cocoa butter equivalent/substitute (CBE/S) is one of the choices. Therefore, the main aim of this study is to create a reliable CBE/S technological process.

The study is an explorative research. The basic principle in the preparation of CBE is an effort to produce the major triglyceride components of CBE namely 1,3 dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol (POP), 1-palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoyl-glycerol (POS), and 1,3-distearoyl-2-oleoyl-glycerol (SOS) in particular composition and concentrations.

There were several steps in the exploration of CBE preparation. The first one was the approach through the concentration increment of triglyceride POP from olein by mean of the enzymatically acidolysis reaction with palmitic acid , the second one was the concentration increment of the monoglyceride 2-mono-oleat by mean of the enzymatic hydrolysis of olein using a specific lipase-1,3 , the third one was acidolysis of POP rich olein, acidolysis of 2-mono-oleat olein as well as the direct acidolysis of olein(all with stearic acid) which was followed by the experiments using our own designed packed bed reactor for one of the best results of reaction mixture.

Having trimmed the less successful results, the main results of this study can be summarized as follows. The interesterification reaction (i.e. acidolysis of stearic incorporation into a glyceride mixture) required a microaqeous condition which was achieved by utilizing either anhydrous sodium sulphate and/or molecular sieves. Small scale experiments of interesterification process in shaken flasks revealed two best conditions. Firstly, the use of stearic acid/olein ratio of 0.5: 1.0 in 30 ml hexane for 60 hr, with 10 % of Lipozyme IM (on olein basis which was 6 g), temperature of 55 °C at rotation of 250 rpm. Secondly, the use of stearic acid/olein ratio of 1.5:1.0 in 50 ml hexane for 48 hr, with the rest conditions were the same as in the first case. The CBE indexes achieved were 55.8 and 57.5 for the first and the second respectively, while the composition of POP/POS/SOS were 14.83%/38.14%/23.69% and 10.55%/27.41%/19.13% for the first and the second respectively. A scale up study for these two best conditions (5X, 10X and 20 X for the first, and 10X, 20 X for the second) showed the decrease of the CBE index to become around 30 and around 17 for the first and the second respectively. Among the scale-up results, the POP/POS/SOS compositions were relatively close one among the others, but with lower concentrations as compared to the original scale. On the development process using our own bioreactor (packed bed reactor with recirculation), the best result needed 6 hr reaction time and resulted in CBE index of 51.11 having POP/POS/SOS of 5.71%/11.47%/5.96%. It happened here (and in the scale up process too) that the concentrations of POP, POS and SOS decreased dramatically as compared to those of original shaken flasks. It was probably due to the lesser intensity of molecular collision.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan penghasil minyak sawit terbesar kedua di dunia setelah Malaysia. Dari total produksi yang dihasilkan, kebanyakan digunakan untuk ekspor dalam bentuk *Crude* Palm *Oil*/CPO dan sebagian lagi diolah menjadi minyak makan untuk keperluan dalam negeri. Produksi minyak sawit Indonesia pada tahun 1999 mencapai 5.900.000 ton (Pulungan *et al.,* 2000) dan pada tahun 2020 diproyeksikan mencapai 17.137.000 ton (Ditjen Perkebunan, 1995); suatu jumlah yang hampir menyamai produksi dunia pada tahun 1994 yang sebesar 17.540.000 ton (CIC,1994). Dengan demikian perlu diversifikasi produk olahannya yang antara lain memungkinkan untuk dibuat *cocoa butter equivalent* (CBE).

Cocoa butter (mentega cokelat) banyak digunakan pada pembuatan cokelat batang, permen cokelat dan bentuk-bentuk lainnya. Lemak cokelat cukup mahal dan mempunyai keistimewaan yaitu meleleh di atas suhu tubuh dan berbentuk padat pada suhu ruang. Karakteristik sifat fisik lemak cokelat berhubungan dengan komponen utama asam lemak dalam trigliseridanya, yaitu *2-oleoyl-1-palmitoyl-3-stearoyl-glyserol* (POS) 37%, *2-oleoyl-1,3-dipalmitoyl-glyserol* (POP) 17%, *2-oleoyl-1.3-distearoyl-glyserol* (SOS) 23% (Pantzaris, 1997). Mentega cokelat banyak digunakan pada industri makanan dan industri kosmetik serta memiliki harga yang relatif mahal, sehingga diperlukan suatu bahan yang mempunyai sifat fisik dan kimia yang sama dengan mentega cokelat yang diharapkan dapat menggantikan mentega cokelat, yaitu CBE. CBE adalah minyak nabati non hidrogenasi yang memiliki kandungan asam lemak dan triasilgliserol tak jenuh tunggal yang serupa dengan mentega cokelat serta memiliki kandungan lemak padat (*Solid Fat Content*) yang tinggi pada suhu ruang dan cepat meleleh pada suhu tubuh. Mentega cokelat dan CBE memiliki sifat fisik dan kimiawi yang hampir sama dan dapat saling menggantikan dalam fungsinya. CBE dapat digunakan sebagai pencampur mentega cokelat. CBE dengan kualitas yang baik sulit untuk dibedakan dari mentega cokelat yang asli bahkan pada tingkat pencampuran CBE 100% (Pantzaris, 1997).

Hasil fraksinasi dari pengolahan minyak makan diperoleh fraksi keras berbentuk pasta yang disebut stearin dan fraksi cair yang disebut olein. Menurut Pantzaris (1997), stearin kaya akan asam palmitat (62,2%), olein mengandung asam lemak tak jenuh tunggal yaitu asam oleat sekitar 42,4% dan asam stearat sekitar 4,4%. Asam oleat ini terletak pada posisi 2 dalam triasilgliserol sekitar 62%. Jumlah asam stearat pada olein ini masih dirasakan masih kurang untuk pembentukan komponen CBE, oleh karena itu diperlukan inkorporasi asam stearat pada oleat untuk memperkaya komponen CBE (triasilgliserol POP, POS, SOS).

Lipase-1,3 merupakan kunci dalam memproduksi lemak cokelat tiruan dari minyak lain yang lebih murah dengan penambahan asam lemak (asidolisis) dari luar seperti palmitat dan stearat. Penggunaan enzim yang memiliki sifat spesifik seperti lipase 1,3 akan memberikan kontribusi yang sangat besar dalam memodifikasi lemak. Lypozime IM® merupakan enzim komersial yang berasal dari lipase mikroba *Rhizomucor miehei* yang mempunyai kespesifitasan posisional molekul triasilgliserol yaitu pada posisi primer (sn-1 dan atau sn-3) (Anonimous, 1999).

Beberapa peneliti yang hampir berhasil membuat CBS dan CBE dari minyak sawit antara lain Loebis (1985), Bloomer *et al.* (1990), dan Chong *et al.* (1992). Loebis (1985) membuat CBS dengan teknik fraksinasi menggunakan pelarut organik. Bloomer *et al.* (1990) membuat CBE dari fraksi tengah minyak sawit dengan proses inter-esterifikasi enzimatik tanpa diikuti proses fraksinasi, sedangkan Chong *et al.* (1992) membuat CBE dengan proses interesterifikasi enzimatik diikuti oleh proses fraksinasi.

Satiawihardja *et al.* (1994) memodifikasi pekerjaan Chong *et al.* (1992), yaitu menggunakan lipase 1,3 bebas untuk interesterifikasi antara fraksi olein dengan asam stearat, lalu diikuti proses fraksinasi menggunakan pelarut organik. Salah satu fraksi dari hasil fraksinasi dengan pelarut organik mendekati sifat CBS dari segi kandungan lemak padat pada berbagai suhu.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah minyak RBD (*Refined Bleached Deodorized*) *palm olein* yang diperoleh dari PT. Intiboga Sejahtera, asam stearat digunakan yang berasal dari Wako Pure Chemical Industries, *Lipozym IM®* (Lipase *Rhizomucor miehei* imobil) yang merupakan produk Novo Nordisk Bioindustrial Ltd, Denmark, metanol, etanol, aquades, heksanaa, gas nitrogen, aseton, asetonitril, dan isopropanol, *molecular sieve*, silika gel (70 - 230 mesh), natrium sulfat anhidrous, NaOH, fenolftalein,

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, corong pemisah, High Performance liquid Cromatography (HPLC) Hewlett Packard series 1100 dengan *isopump* G 131 OA, detektor UV G1314, kolom *supelcosil LC 18* (15 cm x 4,6 mm, partikel 5 μm) yang dipasang seri dengan kolom V*ydac* (25 cm x 4,6 mm, partikel 5 μm), neraca analitik, oven vakum, pompa vakum dan shaker, kertas saring milipore diameter 0,45 μ m.

Persiapan Bahan Baku

Bahan-bahan yang akan diinteresterifikasi seperti minyak olein dan heksana dikurangi terlebih dahulu kandungan airnya dengan cara penambahan *molecular sieve* sebanyak 2,5%. Sebelum digunakan dilakukan pemisahan *molcular sieve.*

Produksi Komponen Kaya akan 2-Mono-Oleat dari Olein

Komponen ini adalah hasil hidrolisis olein oleh lipase spesifik 1,3, yaitu Lipozyme IM. Di dalam labu Erlenmeyer 250 ml sebanyak 6 g olein ditambahkan 10 ml aquades, 2,5 ml $CaCl_2$ 0,063 M, 5 ml buffer Tris.HCl, 100 mg Lipozyme IM. Campuran kemudian dikocok di atas mesin pengocok pada suhu 55 °C, 200 rpm selama 12 jam. Produk hidrolisis dipisahkan dari air menggunakan corong pemisah, selanjutnya ditambahkan larutan NaOH 0,5 N dalam etanol 50% untuk menetralkan asam lemak bebas. Hidrolisat yang telah dibebaskan asam lemaknya dilewatkan pada saringan yang berisi Na_2SO_4 anhidrous untuk menghilangkan sisa air yang tertinggal. Produk hidrolisis ini selanjutnya digunakan sebagai salah satu bahan baku dalam proses interesterifikasi.

Inkorporasi Asam Stearat pada Hidrolisat Olein dan Olein

Bahan baku olein atau hidrolisat olein sebanyak 6 g di dalam Erlenmeyer 250 ml ditambah dengan asam stearat 3 g, Lipozyme IM 0,6 g dan silika gel 3 g serta heksanaa 30 ml. Setelah itu campuran tersebut dikocok dengan mesin pengocok pada 250 rpm, suhu 55 °C selama 72 jam dengan pengambilan contoh setiap interval 12 jam.

Pengaruh Rasio Asam Stearat/Olein dan Waktu Reaksi

Variabel di dalam perlakuan ini adalah rasio asam stearat/olein 0,5:1,0; 1,0:1,0; 1,5:1,0; dan 2,0:1,0 dengan basis olein sebanyak 6 g, sedangkan waktu reaksi diamati pada 24 jam, 36 jam, 48 jam dan 60 jam. Di dalam Erlenmeyer 250 ml, 6 g olein dicampur dengan asam stearat sebanyak sesuai dengan perlakuan, silika gel sebanyak stearat, dan Lipozyme IM 0,6 g serta heksana 30 ml. Setelah itu campuran dikocok dan diinkubasi seperti pada 1. Waktu reaksi dihentikan sesuai dengan perlakuan.

Pengaruh Rasio Asam Stearat/Olein dan Konsentrasi Enzim

Pada bagian ini variasi perlakuan yang diterapkan adalah rasio stearat/olein (rasio berat) dan konsentrasi enzim. Rasio stearat/olein (b/b) yang digunakan adalah 0,5:1,0 : 1,0:1,0 : 1,5:1,0 : 2,0:1,0 dengan berat olein yang digunakan adalah 6 gram, sedangkan variasi konsentrasi enzim adalah 5%, 7,5%, 10%, 12,5% terhadap berat olein. Bahan-bahan lain yang akan turut dalam proses interesterifikasi seperti silika gel sebanyak stearat serta heksana 30 ml, dicampurkan dan diinkubasi menggunakan inkubator bergoyang pada suhu 55°C, dengan kecepatan putaran 250 rpm selama 48 jam. Proses inkubasi dilakukan selama 48 jam berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Oktaviani (1999). Waktu 48 jam adalah waktu optimum terjadinya proses interesterifikasi.

Penggandaan Skala Proses

Hasil terbaik yang diperoleh pada percobaan-percobaan di atas digandakan skala prosesnya menjadi 5X, 10X dan 20X. Untuk Penggandaan 5X dan 10X digunakan Erlenmeyer 1 L, sedangkan untuk penggandaan 20 X digunakan Erlenmeyer 2 L.

Pengembangan Proses dengan Bioreaktor

Sebagai suatu usaha untuk menjalankan proses pada skala yang lebih besar, maka dilakukan proses interesterifikasi dengan menggunakan bioreaktor interesterifikasi enzimatik yang dirancang sendiri. Skema alur proses dalam bioreaktor terlihat pada Gambar 1, sedangkan diagram alir bahan pada sistem bioreaktor terlihat pada Gambar 2.

Pada tangki bahan atau subsrat (tangki 3) terdapat pamanas ulir yang suhunya diatur oleh termostat. Untuk reaktor-1 dan reaktor-2, pemanasan dilakukan oleh plat pemanas-1 (PM1) dan plat pemanas-2 yang masing-masing terletak di bagian bawah reaktor dan sekaligus juga berlaku sebagai pengaduk magnetis (*magnetic stirer*). Pengaturan suhu di masing-masing reaktor dilakukan oleh termostat. Secara keseluruhan, reaktor dan seluruh komponennya dipanaskan oleh pemanas IR (infra merah) di dalam sungkup S.

Jalannya proses dengan bioreaktor ini adalah sebagai berikut. Bahan-bahan yang dilarutkan dalam heksana disimpan di tangki 3 dan dipanaskan sampai 55°C. Selanjutnya larutan bahan/substrat (terdiri atas olein, asam stearat dalam heksana) disemprotkan dengan bantuan pompa 3 ke tangki reaktor-1 atau ke tangki reaktor-2. Pada tangki reaktor-1 dan reactor-2 terdapat tumpukan (bed) enzim amobil Lipozyme IM yang ditumpuk berlapis. Setiap lapis dibatasi oleh kain kasa nilon. Terdapat 5 lapis dengan tebal keseluruhan lapisan bed sekitar 5 cm. Tumpukan/bed Lipozyme IM pada reaktor-1 dan reaktor-2 mengandung silika yang berlaku sebagai *solid support* pengontrol kadar air.

Substrat atau bahan yang disemprotkan ke atas tumpukan enzim amobil (yang mengandung *solid support*) selanjutnya akan merembes dan menetes ke bagian bawah tumpukan (sebelumnya bed enzim amobil dijenuhkan dengan uap heksana yang dihasil-kan oleh pemanas heksana di bawah bed). Apabila tetesan heksana (mengandung hasil reaksi enzima-tik) dibagian bawah bed sudah terkumpul sekitar 600 ml, disirkulasikan ulang melalui saluran Su1 (sebe-lum sirkulasi sampel dapat diambil terlebih dahulu melalui kran K-1). Sirkulasi dilakukan sampai pro-duk sudah mendekati konsentrasi dan komposisi CBE. Pada reaktor-2 sirkulasi dilakukan melalui saluran Su2 dan mengambil contoh melalui kran K-2. Aliran sirkulasi pada Su1 dilakukan oleh pompa P1 dan pada saluran Su2 oleh pompa P2.

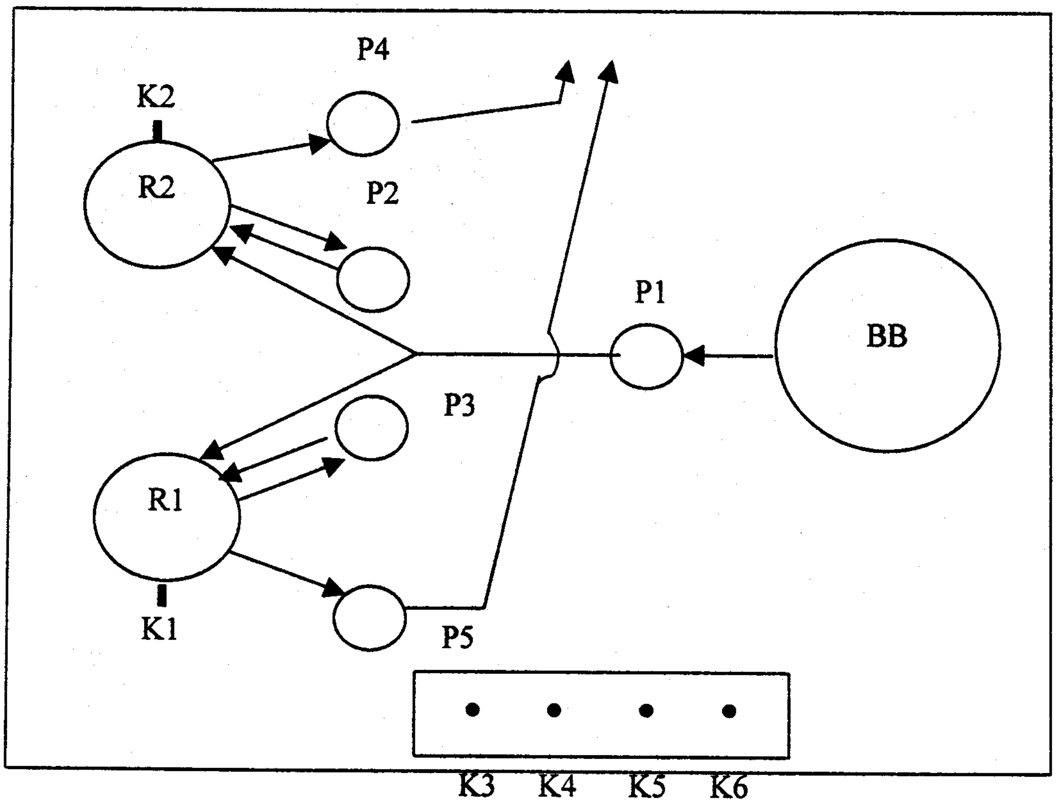
Bila setelah disirkulasi sebanyak n-kali, konsentrasi dan komposisi produk sudah dianggap mendekati CBE, produk dari reaktor 1 dikeluarkan melalui saluran Sp1 yang dilakukan oleh pompa P4 dan dari reaktor 2 dikeluarkan melalui saluran Sp2 yang dilakukan oleh pompa P5. Produk yang dikeluarkan ini mungkin masih akan mengalami proses fraksinasi agar benar-benar dapat menjadi produk CBE.

Adapun perlakuan yang dikerjakan pada masing-masing reaktor-1 dan reaktor-2 adalah sebagai berikut :

- Komposisi susunan bed lipozyme IM/silika 3 : 2 dan 2 : 3
- Komposisi bahan (substrat)
  - Heksana (ml) : Olein (gr) : Asam stearat (gr) adalah sebanding dengan komposisi hasil terbaik pengembangan Proses I

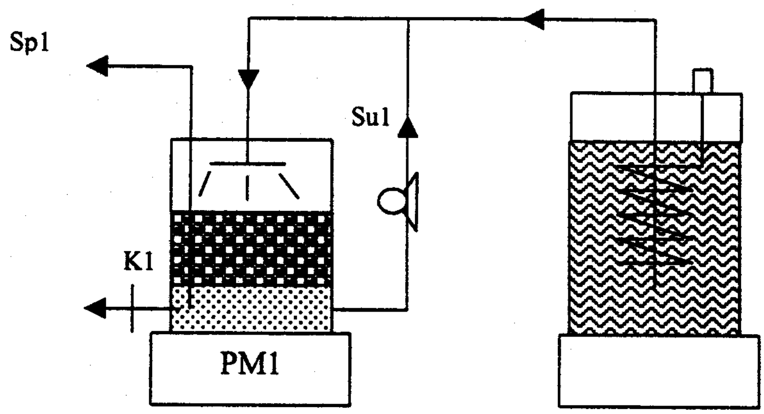
Dengan perlakuan ini diperkirakan konsentrasi enzim akan sekitar 15 - 20 % dari substrat olein.

Pengamatan pada percobaan-percobaan butir 1 sampai dengan 5 meliputi rendemen, komposisi triasilgliserol POP, POS, SOS dan indeks CBE. Secara selektif pada hasil penggandaan skala akan diamati juga profil kandungan lemak padat pada berbagai suhu.



Keterangan : P = Pompa, K = Kran, BB = Bejana Bahan, R = Reactor

Gambar 1. Skema alur proses dalam sistem bioreactor.



Gambar 2. Diagram alir bahan di dalam sistem bioreaktor yang memperlihatkan antara bejana pensuplai bahan dan reaktor-1

Pemisahan TAG Hasil Proses Interesterifikasi

Setelah diinkubasi dilakukan proses untuk mengekstraksi TAG yaitu dilakukan pemisahan antara silika gel dan enzim dari filtrat dengan menggunakan pompa vakum. Silika gel dan enzim dicuci dengan heksana 50 ml sebanyak 3 kali untuk membersihkan dari sisa-sisa filtrat yang melekat. Filtrat selanjutnya dilewatkan pada natrium sulfat anhidrous untuk menyerap air yang mungkin ada pada produk reaksi dan menyempurnakan pemisahan filtrat dari enzim dan silika. Asam lemak bebas yang terdapat pada filtrat dinetralisasi dengan NaOH 1M dalam etanol 50% dengan menggunakan indikator fenolftalein sampai berwarna merah muda, kemudian dilakukan pemisahan antara sabun dengan filtrat TAG menggunakan corong pisah. Selanjutnya dilakukan penguapan pelarut dengan menggunakan *rotary-evaporator*. Ekstrak TAG tersebut siap dianalisis dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

Analisis

Analisis Trigliserida dengan HPLC

Produk reaksi yang sudah bebas pelarut siap dianalisis kandungan dan komposisi TAG menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). HPLC yang digunakan menggunakan elusi isokratik dengan kecepatan aliran eluen 0,8 ml/menit. Fase mobil yang digunakan terdiri dari asetonitril, 2-propanol dan heksana dengan perbandingan 70 : 20 : 10 (v/v/v), detektor UV G1314 pada panjang gelombang 210 nm. Kolom yang digunakan adalah kolom ganda Vydac C18 dan *supelcosil* LC 18 *reverse phase* C18 yang dipasang seri dan dimasukkan ke dalam oven suhu 40°C. Sebelum disuntikkan, sampel diencerkan sebesar 200 kali dengan isopropanol dan disaring dengan kertas milipore 0,45 μm.

Perhitungan Indeks CBE

Konsentrasi POP, POS dan SOS yang dihasilkan kemudian dihitung indeks CBE-nya dengan rumus (Bloomer *et al.*, 1990) :

$$\text{Indeks CBE} = \frac{[\%\ \text{POS}] + 2\ [\%\ \text{SOS}]}{[\%\text{POP} + \%\text{POS} + \%\text{SOS}]} \times 100$$

Analisis Profil Solid Fat Content (SFC)

Analisis ini dilakukan dengan menggunakan alat *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) yang terlebih dahulu dilkalibrasi dengan standar 0%, 30,9% dan 72% lemak padat. Sebelum dianalisis, sampel harus terlebih dahulu dicairkan dan bebas dari air. Sampel dimasukkan ke dalam tabung NMR dengan menggunakan pipet tetes sebanyak 2,5 ml (setinggi *dry block* pengisiannya) lalu dipanaskan pada suhu 70^{0}C selama 30 menit di alat pemanas kering. Setelah itu sampel dimasukkan ke dalam gelas piala berisi pecahan es (suhu harus 0^{0}C) selama 90 menit, selan-jutnya diinkubasi pada suhu 20, 25, 30, 35, 40 dan 45 ^{0}C selama 30 menit. Setelah 30 menit diinkubasi, sampel kini siap dianalisis menggunakan NMR Bruker yang dilengkapi dengan minispec pc 120. Teknik ini didasarkan pada kecepatan mobiletas proton yang berbeda pada fase cair dan padat. Resonansi proton akan menginduksi signal yang akan dipancarkan oleh alat NMR sehingga akan mewakili jumlah fase cair ataupun padat pada sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Inkorporasi Asam Stearat pada Olein dan Hidrolisat Olein

Hasil percobaan inkorporasi asam stearat pada olein dan hidrolisat olein dengan proses interesterifikasi enzimatik disajikan pada Tabel 1, sedangkan perubahan indeks CBE disajikan pada Gambar 3.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa perlakuan inkorporasi asam stearat terhadap hidro-lisat olein tanpa support silika gel dapat menghasil-kan indeks CBE tinggi (56,29), tetapi tidak menghasilkan TAG POS. Bila digunakan support, indeks CBE menurun (30,16 - 38,80) tetapi menghasilkan POS lebih tinggi (29,7 - 46,9 %). Oleh sebab itu penggunaan bahan hidrolisat olein tidak dikembangkan lebih lanjut. Dari tabel tersebut juga terlihat bahwa hasil terbaik adalah perlakuan penggunaan olein dengan *support* selama 60 jam, indeks CBE 55,78 dengan komposisi POP/POS/SOS = 14,83/38,14/23,69 %. Penggunaan silica gel dalam reaksi interesterifikasi sudah dilaporkan oleh Berger *et al.* (1992) pada reaksi asidolisis antara gliserol dengan donor asil dalam pelarut organik. Dalam hal ini silika gel digunakan untuk menyerapkan gliserol agar gliserol dapat direaksikan dalam lingkungan hidrofobik karena dapat dikeluarkan sedikit demi sedikit. Pada penelitian ini silika gel diharapkan dapat mengikat air dan melepaskannya sebatas yang diperlukan pada kondisi sedikit tersedia air (*microaqueous*).

Adapun reaksi interesterifikasi olein dengan asam stearat pertama kali dikerjakan oleh Chong *et al.* (1992) dan mereka melanjutkannya dengan tahap fraksinasi gliserida setelah pembebasan asam lemak melalui proses destilasi. Sebelum proses fraksinasi, hasil proses interesterifikasi yang mereka peroleh memiliki indeks CBE 51.1 dengan komposisi POP/POS/SOS = 9,9/18,6/10,8%. Hasil terbaik yang diperoleh pada percobaan ini dapat memperbaiki hasil yang diperoleh Chong *et al*. (1992), yaitu indeksi CBE 55,8 dengan komposisi POP/POS/SOS = 14,8/38,1/23,7 % (total 76,6%).

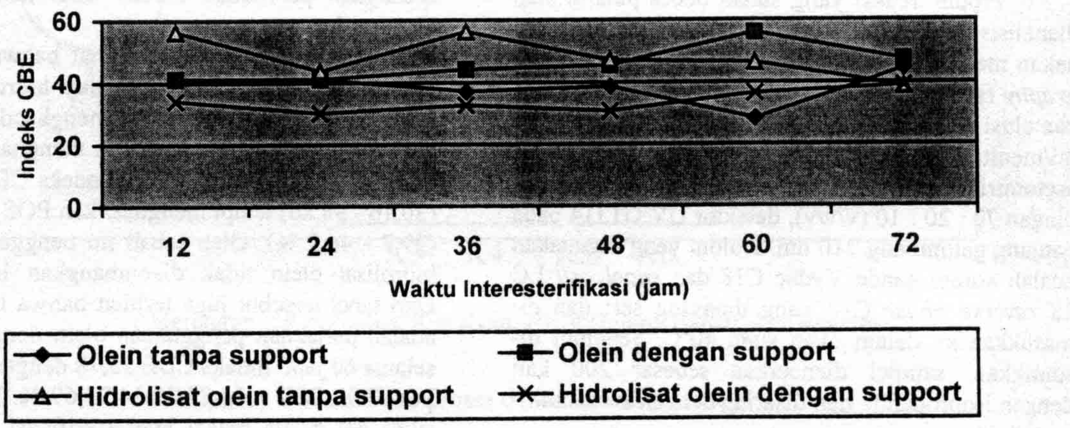
Pengaruh Rasio Asam Stearat/Olein dan Waktu Reaksi

Dari serangkaian perlakuan yang dilakukan (variabel rasio stearat/olein dan waktu reaksi) dengan data seperti terlihat pada Tabel 2, ternyata perlakuan terbaik diperoleh pada rasio asam stearat/olein 1,5:1,0 dengan waktu reaksi 48 jam seperti terlihat pada Gambar 4. Komposisi POP/POS/SOS yang diperoleh adalah 12,8/18,3/12,1 % dengan indeks CBE 49,2. Sebenarnya indeks CBE tertinggi diperoleh setelah kondisi yang sama (berlangsung setelah 60 jam), yaitu 53,3 dengan komposisi POP/POS/SOS = 8,9/11,4/11,0 %, akan tetapi setelah 60 jam rendemen menurun dibandingkan dengan 48 jam (40,5 % vs 54,3 % terhadap olein).

Tabel 1. Indeks CBE Produk Interesterifikasi pada Berbagai Perlakuan dan Waktu Reaksi

Waktu Reaksi (jam)	Olein				Hidrolisat Olein			
	Tanpa Support		Dengan Support		Tanpa Support		Dengan Support	
	Indeks CBE	% *	Indeks CBE	% *	Indeks CBE	% *	Indeks CBE	% *
12	41,24	53,52	41,25	74,22	56,22	30,17	34,07	72,00
24	41,02	54,06	41,09	68,92	43,63	24,25	30,16	51,25
36	37,18	52,86	44,11	72,70	56,29	32,99	32,62	83,29
48	38,57	40,92	45,37	62,85	47,00	63,29	30,73	53,59
60	28,29	21,33	55,78	76,65	46,20	18,19	36,40	55,67
72	44,36	32,38	47,20	80,07	38,65	47,54	38,80	68,18

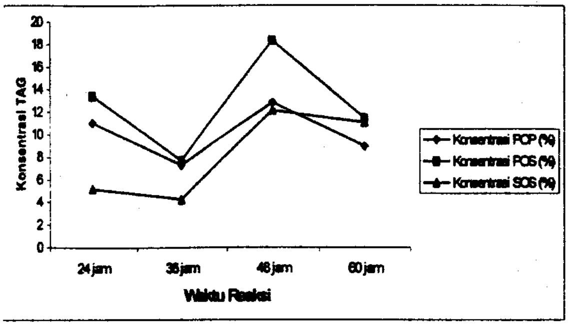
*Merupakan jumlah persentase dari komponen POP, POS, SOS



Gambar 3. Pola Hubungan Antara Indeks CBE dengan Waktu Reaksi

Tabel 2. Pengaruh Rasio Stearat/Olein dan Waktu Reaksi

Rasio	24jam			36 jam			48 jam			60 jam		
stearat : Olein	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
0,5 : 1,0	38,8	30,0	8,7	14,1	8,9	3,5	13,9	12,3	3,3	28,5	12,3	3,3
1,0 : 1,0	17,4	20,2	7,6	6,0	5,4	2,8	6,7	6,9	5,3	9,5	6,9	5,3
1,5 : 1,0	11,1	13,4	5,2	7,2	7,6	4,2	12,8	18,3	12,1	8,9	18,3	12,1
2,0 : 1,0	6,5	8,7	3,3	3,1	4,2	2,6	16,2	24,5	9,5	9,8	24,5	9,5

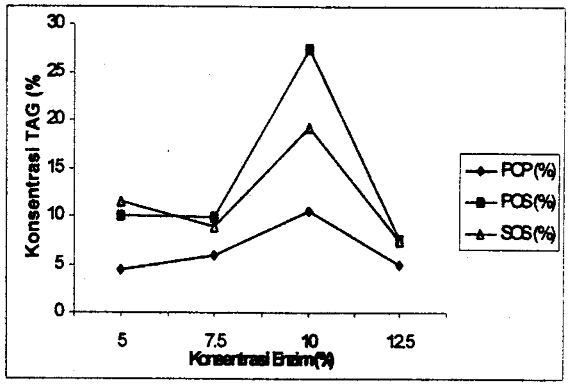


Gambar 4. Kurva Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Konsentrasi POP, POS dan SOS pada Rasio Stearat/Olein 1,5 : 1,0

Gambar 4 memperlihatkan bahwa pada rasio stearat : olein 1,5:1,0 terjadi dulu penurunan ketiga konsentrasi gliserida dan selanjutnya meningkat pada 48 jam dan menurun lagi pada 60 jam. Hal ini adalah kecenderungan pola untuk kondisi kelebihan stearat (seperti yang terjadi pada rasio stearat/olein 2,0:1,0). Dalam hal ini pada kondisi turunnya konsentrasi ketiga gliserida ini mungkin terjadi dulu pelepasan gugus asil dimana ketiga gliserida ini diubah dulu menjadi mono atau diasil gliserida, dan selanjutnya terjadi inkorporasi stearat. Reaksi ini adalah reaksi kesetimbangan sehingga dapat difahami adanya fluktuasi, sehingga pada 60 jam terlihat menurun kembali. Pada kondisi stearat tidak berlebih atau sedikit berlebih (rasio 0,5:1,0 dan 1,0:1,0) perpanjangan waktu melebihi 24 jam cenderung menurunkan konsentrasi ketiga trigliserida ini walaupun teramati juga sedikit adanya fluktuasi.

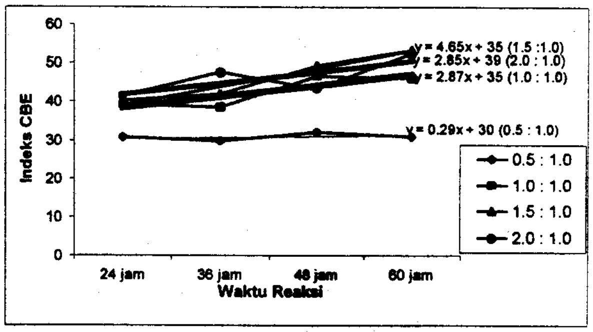
Pengaruh Rasio Asam Stearat/Olein dan Konsentrasi enzim

Dalam rangkain percobaan ini, kesimpulan dari rangkaian percobaan pada butir 2 dikonfirmasi, yaitu kondisi terbaik diperoleh pada rasio asam stearat/olein = 1,5:1,0 , konsentrasi enzim 10 %, dengan waktu 48 jam (data lengkap pada Tabel 3, sedangkan kurva yang bersangkutan terlihat pada Gambar 5). Komposisi POP/POS/SOS dari konfirmasi ini adalah 10,6/27,4/19,1 % dengan indeks CBE 57,5. Bloomer *et al.* (1990) dengan menggunakan palm oil mid fraction (POMF) sebagai bahan baku bersama-sama dengan etil stearat pada perbandingan 2 g : 2 g di dalam 6.8 ml heksana jenuh air dan Lipozyme 1 %, dapat menghasilkan indeks CBE sekitar 51,5 dalam waktu 24 jam. Hasil yang diperoleh pada percobaan ini sedikit kurang efektif dibandingkan dengan hasil dari Bloomer *et al.*(1990).



Gambar 5. Pola perubahan konsentrasi POP, POS, SOS terhadap konsentrasi enzim pada rasio Stearat/olein 1,5:1,0

Adapun perubahan indeks CBE terhadap waktu pada kisaran waktu yang dipelajari cenderung membentuk kurva linear atau reaksi ordo-0, seperti terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pola Perubahan Indeks CBE terhadap Waktu Reaksi pada berbagai Rasio Stearat/Olein

Tabel 3. Pengaruh rasio asam stearat/olein dan konsentrasi enzim terhadap komposisi trigliserida POP, POS dan SOS (dalam %)

Rasio stearat/olein	Enzim 5 %			Enzim 7.5 %			Enzim 10 %			Enzim 12.5 %		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
0.5 : 1.0	10,3	8,0	6,0	10,7	9,2	6,4	16,4	19,8	9,6	10,0	13,5	6,2
1.0 : 1.0	11,3	10,1	11,0	6,7	8,3	6,7	13,5	22,8	13,3	6,9	9,7	6,2
1.5 : 1.0	4,4	10,0	11,5	6,0	9,8	8,9	10,6	27,4	19,1	4,9	7,5	7,4
2.0 : 1.0	4,0	11,9	11,7	5,1	9,0	8,2	9,7	28,7	18,2	5,6	11,0	11,6

Penggandaan Skala

Dari hasil-hasil yang disajikan pada butir 1 sampai dengan 3, diperoleh dua kondisi terbaik, yaitu:

a. Olein 6 g, asam stearat 3 g, Lipozyme IM 0,6 g, silika gel 3 g, heksana 30 ml, suhu 55 °C, pengocokan 250 rpm dan wkatu reaksi 60 jam; menghasilkan indeks CBE 55,8 dengan komposisi POP/POS/SOS = 14,8/38,1/23,7 %.
b. Olein 6 g, asam stearat 9 g, Lipozyme IM 0,6 g, silika gel 9 g, heksana 50 ml, suhu 55 °C, pengocokan 250 rpm; menghasilkan indeks CBE 57,5 dengan komposisi POP/POS/SOS = 10,6/27,4/19,1 %.

Terhadap kondisi terbaik a dilakukan penggandaan 5X, 10X dan 20X, sedangkan pada kondisi terbaik b hanya dilakukan penggandaan 10X dan 20X. Hasil yang diperoleh disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase TAG POP,POS,SOS dan indeks CBE hasil penggandaan pada kondisi terbaik a dan b

	Kondisi terbaik a			Kondisi terbaik b	
	5X	10X	20X	10X	20X
POP (%)	23,27	22,12	20,10	16,9	23,8
POS (%)	17,50	16,15	12,33	8,6	11,9
SOS (%)	5,12	5,32	4,62	0,0	0,13
Indeks CBE	30,3	30,7	29,1	16,8	17,0

Dari Tabel 4 terlihat bahwa untuk proses terbaik I indeks CBE dari hasil penggandaan skala 5X dan 10X hampir sama yaitu sekitar 30, sedangkan penggandaan skala 20X sedikit turun yaitu 29. Skala yang lebih besar bila dibandingkan dengan skala kecil asalnya (berbasis 6 gram olein), indeks CBE menurun cukup tajam. Kenyataan ini mengundang kewaspadaan bila hasil suatu proses akan digandakan.

Kandungan lemak padat dari hasil penggandaan hasil terbaik I dianalisis, sedangkan terhadap hasil penggandaan hasil terbaik II, tidak dilakukan analisis profil kandungan lemak padat, Tabel 5 menunjukkan profil kandungan lemak padat pada berbagai suhu yang dibandingkan dengan contoh pembanding CBS (CF 36 dan CF 42). Profil kandungan lemak padat terbaik diperoleh pada penggandaan skala 5X, menunjukkan skala yang lebih kecil lebih baik, pada semua penggandaan skala lainnya. Kandungan lemak padat pada suhu kurang dari 30°C masih terlalu rendah.

Pengembangan Proses pada Bioreaktor

Dari studi proses dengan menggunakan bioreaktor, hasil terpenting adalah waktu maksimum yang dibutuhkan untuk mendapatkan indeks CBE yang mendekati 57. Dari studi perlakuan yang dikerjakan di dalam proses dengan bioreaktor, indeks CBE yang dapat mendekati *Cocoa Butter* adalah kurang dari 12 jam yaitu pada waktu 6 jam, (sirkulasi ke-24, pada pemakaian lipozyme ke-1 dengan rasio enzim/silika 2,0 : 3,0, yaitu sebesar 51,11 dengan kadar komposisi konsentrasi POP, POS dan SOS berturut-turut sebesar 5,71%, 11,47% dan 5,96% (Gambar 25 dan 26). Kadar komposisi konsentrasi POP, POS dan SOS yang diperoleh masih rendah. Kalaupun dilanjutkan indeks CBE yang diperoleh tetap rendah dan bahkan menurun. Hal ini dapat disebabkan oleh partikel enzim terselubung lapisan lemak, yang pada akhirnya dapat menghalangi kontak reaksi lebih lanjut dengan substrat, sementara tidak ada pemanasan di bagian unggun untuk mencairkan lemak dan asam stearat. Dapat pula disebabkan oleh kurang intensifnya tumbukan molekul.

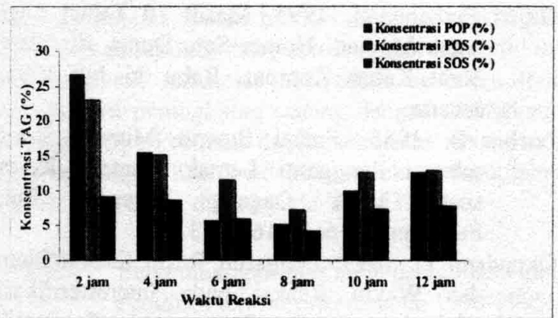
Tabel 5. Profil kandungan lemak padat pada berbagai suhu dari produk penggandaan skala

Kode sampel*	Kandungan lemak padat (%)					
	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C
I	36,40	28,76	20,08	14,45	8,10	2,32
II	28,94	25,05	20,38	13,06	6,64	0,63
III	25,75	19,77	15,16	10,14	4,02	0,38
CF 36	79,20	54,16	24,74	5,98	0,00	0,00
CF 42	81,44	65,78	39,30	16,24	6,80	1,34
CB**	79,00	62,00	37,00	19,00	0,00	0,00

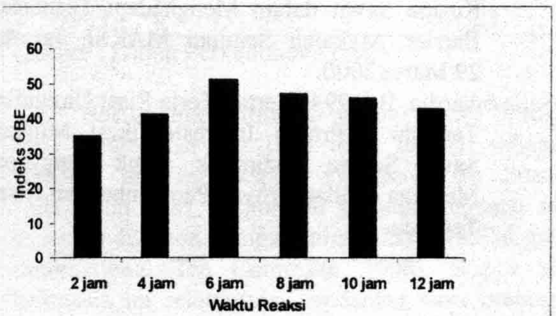
*) I, II, dan III menunjukkan penggandaan 5X, 10X dan 20 X CF 36 dan CF 42 adalah produk komersil sebagai pembanding

**)Satiawihardja, 1994

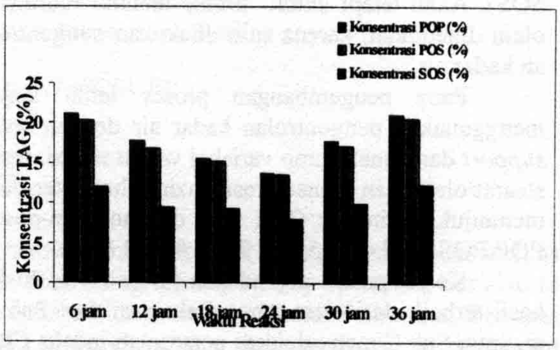
Di lain pihak percobaan dengan Lipozyme pemakaian pertama dengan rasio enzim/silika 3,0 : 2,0 pada waktu 6 jam (sirkulasi ke-28) menghasilkan indeks CBE 41,50 dengan konsentrasi POP, POS dan SOS berturut-turut 21,70, 21,0 dan 12,50 dengan pola perubahan indeks CBE fluktuatif sedangkan komposisi ketiga trigliserida tersebut berupa parabola terbuka ke atas (Gambar 7 dan 8). Rasio enzim/silika yang terbaik dicapai pada 2,0 : 3,0 dimana tumpukan unggun lebih tinggi yang menyebabkan substrat lebih lama melewati tumpukan unggun tersebut sehingga reaksi interesterifikasi lebih optimal. Rendemen paling tinggi diperoleh pada waktu 36 jam sebesar 60,95% pada pemakaian lipozyme ke-1. Hasil rendemen yang diperoleh berbanding lurus dengan waktu reaksi, demikian pula dengan pemakaian lipozyme. Semakin banyak pemakaian ulang Lipozyme menurunkan rendemen (data tidak disampaikan di sini).



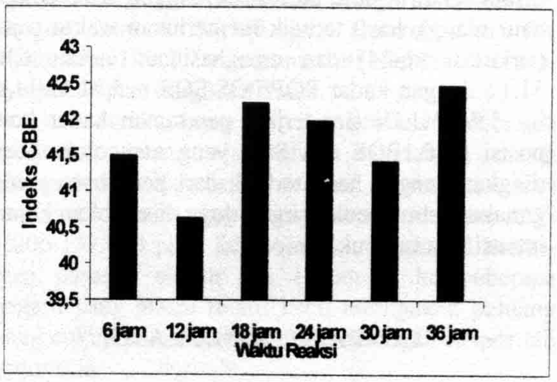
Gambar 7. Kurva pengaruh waktu reaksi terhadap konsentrasi POP, POS dan SOS pada rasio enzim/silika 2,0 : 3,0, pemakaian Lipozyme ke-1



Gambar 8. Pola perubahan indeks CBE terhadap waktu reaksi pada rasio enzim/silika 2,0 : 3,0, pemakaian Lipozyme ke-1



Gambar 9, Kurva pengaruh waktu reaksi terhadap konsentrasi POP, POS dan SOS pada rasio enzim/silika 2,0:3,0, pemakaian Lipozyme ke-3



Gambar 10. Pola perubahan indeks CBE terhadap waktu reaksi pada rasio enzim/silika 2,0:3,0, pemakaian Lipozyme ke-3

KESIMPULAN

Pengkayaan 2-monooleat dari olein yang dilakukan dari olein dengan hidrolisis oleh lipase spesifik 1,3 (Lipozym IM), keberhasilannya yang dinyatakan dalam parameter derajat hidrolisis dapat mencapai 60 %. Inkorporasi asam stearat secara enzimatik oleh Lypozyme IM terhadap hidrolisat olein yang kaya 2-monooleat ini, hasilnya tidak lebih baik dibandingkan dengan menggunakan olein langsung.

Pengembangan proses berikutnya dengan pengontrolan kadar air (menggunakan *solid support*) tanpa diikuti proses fraksinasi, hasil terbaik dari hidrolisat olein hanya menghasilkan indeks CBE 38,80 dengan komponen POP, POS dan SOS berturut-turut 19,23 %, 44,99 % dan 3,96 %, sedangkan hasil terbaik dari olein manghasilkan indeks CBE 55,78 dengan komposisi POP, POS dan SOS berturut-turut 14,83 %, 38,14 % dan 23,69 %. Hasil perbaikan modifikasi ini adalah meningkatnya secara nyata kadar ketiga trigliserida POP, POS, dan

SOS). Akan tetapi untuk proses melalui hidrolisat olein dihentikan, karena sulit dilakukan pengontrolan kadar air.

Pada pengembangan proses lebih lanjut menggunakan pengontrolan kadar air dengan *solid support* dan penelusuran variabel waktu reaksi, rasio stearat/olein dan konsentrasi enzim, hasil ter-baik menunjukkan indeks CBE 57,5 dengan kom-posisi POP/POS/SOS = 10,55 %/ 27,41 %/ 19,13 %.

Ketika proses digandakan (5 X, 10 X, 20 X) hasil terbaik dari olein tanpa fraksinasi dari Sub B maupun Sub C menunjukkan penurunan indeks CBE dan penurunan kadar komposisi tetapi relatif sama pada setiap hasil penggandaan tersebut. Indeks CBE pada hasil terbaik dari Sub B sekitar 30, sedangkan dari hasil terbaik sub C sekitar 17.

Pada pengembangan dengan bioreaktor hasil disain sendiri (yaitu bioreaktor unggun diam dengan daur ulang), hasil terbaik memerlukan waktu 6 jam (sirkulasi ke-24) dan menghasilkan indeks CBE 51,11 dengan kadar POP/POS/SOS = 5,71 %/11,47 %/ 5,96 %. Di sini terjadi penurunan kadar komposisi POP, POS dan SOS yang mencolok dibandingkan dengan hasil terbaik dari percobaan menggunakan labu kocok yang diduga disebabkan kurang intensifnya tumbukan molekul.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada rekan-rekan peneliti : Dr, Purwiyatno Hariyadi, Dr. Slamet Budijanto, serta Dr. Mapiratu yang telah turut serta mencurahkan pemikiran-pemikirannya serta kerja samanya. Demikian juga kepada para teknisi di Lab. Mikrobiologi Pangan Jurusan TPG, Lab. Kimia Pangan dan Lab. Mikrobiologi Pangan dari Pusat Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. Terima kasih yang tak terhingga juga penulis sampaikan kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, yang telah mendanai penelitian ini melalui Proyek Hibah Bersaing VII 1-3.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimous. 1999. LipozymeR IM. Novo Nordisk A/S, Novo Alle, Bagsuaerd, Denmark.

Berger, M., K. Lauman dan M.P. Schneider, 1992. Enzymatic Esterification of Glycerol I. Lipase Catalyzed Synthesis of Regioisomerically Pure 1,3-sn-diacylglycerols. JAOC 69(10): 955-960.

Bloomer, S,, A, Patrick, dan B, Mattiason, 1990. Tryglyceride Interesterification by Lipases 1. Cocoa Butter Equivalent from a Fraction of Palm Oil, JAOC 67(8): 519-524.

Chong, C.N., Y.M., Hoh dan C.W. Wang, 1992. Fractionation Procedures for Obtaining Cocoa Butter Like Fat from Enzymatically Interesterified palm olein. JAOC 69(2):137-140.

CIC. 1994. Studi tentang Perkebunan dan Pemasaran Minyak Kelapa Sawit Indonesia, CIC Consulting Group, Jakarta.

Ditjen Perkebunan, 1995. Masih 10 Tahun Lagi untuk Menjadi Nomer Satu Dunia, *di dalam* Surat Kabar Kompas, Rabu 26 Juli 1995, Jakarta.

Loebis B. 1985. Fraksi Stearin Minyak Sawit sebagai Pengganti Lemak Mentega Keras suatu Mata Dagang Harapan, Bul, Perkebunan 16(4): 169-173.

Oktaviani, D. 1999. Pengaruh Rasio Stearat/Olein dan Waktu Reaksi pada Interesterifikasi Olein dengan Asam Stearat secara Enzimatik untuk Menghasilkan Cocoa Butter Equivalent. Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.

Pantzaris, T.P. 1997. Pocketbook of Palm Oil Uses, PORIM, Kualalumpur, Malaysia.

Pulungan, Z., Darnoko, P. Guritno, dan K. Pamin. 2000. Strategi Penelitian dan Pengembangan Kelapa Sawit dalam Menghadapi Technical Barrier, Makalah Seminar MAKSI, Jakarta 29 Maret 2000.

Satiawihardja, B. 1994. Kertas Kerja Riset Unggulan Terpadu : Proses Interesterifikasi Minyak Sawit Secara Enzimatik untuk Pengganti Mentega Coklat. Proyek Pengembangan Riset Terpadu.