

SKRIPSI

**PEMURNIAN, KARAKTERISASI DAN APLIKASI  
MONO- DAN DIASILGLISEROL YANG DIPRODUKSI  
DARI DESTILAT ASAM LEMAK MINYAK KELAPA MELALUI  
TEKNIK ESTERIFIKASI DENGAN KATALIS LIPASE *Rhizomucor miehei***

Oleh:  
**WINDY LUKITA**  
F02496020



2000  
**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR**

Windy Lukita. F02496020. **PEMURNIAN, KARAKTERISASI DAN APLIKASI MONO- DAN DIASILGLISEROL YANG DIPRODUKSI DARI DESTILAT ASAM LEMAK MINYAK KELAPA MELALUI TEKNIK ESTERIFIKASI DENGAN KATALIS LIPASE *Rhizomucor miehei***. Di bawah bimbingan Slamet Budijanto dan Purwiyatno Hariyadi.

## RINGKASAN

Emulsifier memiliki peran penting pada industri pangan. Campuran mono- dan diasilgliserol (M-DAG) merupakan salah satu emulsifier yang sering digunakan dalam industri pangan, misalnya pada pengolahan margarin, mentega kacang, puding, roti, biskuit dan kue-kue kering yang mengandung lemak.

Kitu (1999) telah berhasil memproduksi campuran M-DAG melalui reaksi esterifikasi antara gliserol dengan destilat asam lemak minyak kelapa (DALMIK) dengan katalis enzim lipase dari *Rhizomucor miehei*. Akan tetapi campuran M-DAG yang dihasilkan masih memiliki bau yang tidak enak (tengik), sehingga menghambat aplikasi M-DAG sebagai emulsifier. Bau tengik ini diduga disebabkan oleh asam laurat bebas yang terdapat pada campuran M-DAG.

Penelitian ini bertujuan untuk mengurangi bau tengik pada campuran M-DAG, dan mempelajari karakterisasi dan aplikasi campuran M-DAG yang dihasilkan.

Tahapan penelitian adalah sebagai berikut : (1) penentuan berat molekul (BM) rata-rata dan jumlah asam lemak bebas dalam DALMIK, (2) produksi campuran M-DAG, (3) pemurnian campuran M-DAG, (4) analisis campuran produk, (5) penentuan karakter dan aplikasi campuran M-DAG sebagai emulsifier.

Reaksi esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan 30g DALMIK dan 45.92g gliserol dengan suhu reaksi 50°C, waktu reaksi 4 jam dan suhu fraksinasi 10°C selama 24 jam. Rendemen campuran M-DAG yang diperoleh dari reaksi esterifikasi ini adalah 31.06%.

Pemurnian campuran M-DAG dilakukan dengan pencucian berulang sebanyak tiga kali menggunakan pelarut heksana dengan perbandingan produk dan pelarut = 1 : 5 (w/v) dan suhu fraksinasi 10°C selama 2 jam. Rendemen yang diperoleh setelah pencucian ketiga adalah 19.49%.

Kandungan asam lemak bebas tidak berbeda jauh pada produk sebelum mengalami pencucian dan pada produk setelah pencucian, yaitu 6.65% pada produk sebelum pencucian, 5.62% pada produk setelah pencucian pertama, dan 5.01% pada produk setelah pencucian kedua dan ketiga. Dengan demikian dapat diketahui bahwa kandungan asam lemak bebas yang hampir sama inilah yang menyebabkan produk hasil pencucian berulang masih berbau tengik. Triasilgliserol (TAG) sudah dapat hilang 100% pada pencucian kedua. *Yield* MAG yang hilang sampai pencucian ketiga adalah 26.75%, sedangkan DAG mengalami kehilangan yang sangat besar yaitu 73.72%.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa proses pencucian ini tidak efektif, karena kandungan asam lemak bebas pada produk M-DAG yang diharapkan banyak berkurang ternyata hanya berbeda sedikit setelah dilakukan pencucian. Disamping itu terjadi kehilangan MAG terutama DAG yang terlalu banyak.

Komposisi produk sebelum pencucian adalah 75.40% MAG, 16.64% DAG, 6.65% FFA dan 1.31% TAG. Sedangkan komposisi produk setelah pencucian dua kali hampir sama dengan komposisi produk setelah pencucian tiga kali. Produk hasil pencucian dua kali terdiri dari 84.99% MAG, 9.99% DAG dan 5.01% FFA. TAG hilang 100% pada pencucian kedua ini. Perbedaan komposisi fraksi antara produk hasil pencucian dua kali dengan produk pencucian tiga kali terletak pada jumlah fraksi MAG dan DAG-nya. Pada pencucian ketiga, kandungan MAG pada produk adalah 88.02% sedangkan kandungan DAG-nya 6.97%.

Penentuan karakter M-DAG yang dilakukan hanya penentuan titik leleh M-DAG, dan diperoleh nilai 42-43°C. Kemampuan emulsifier M-DAG dari DALMIK diujikan pada stabilitas emulsi w/o dan o/w, produk aerasi seperti *cake* dan *icing sugar*, dan juga interaksinya dengan pati (*starch complexing*). Dari pengujian stabilitas emulsi diketahui bahwa M-DAG dari DALMIK cocok sebagai emulsifier untuk produk emulsi yang bertipe w/o. Pada pembuatan *cake*, M-DAG dari DALMIK mampu meningkatkan volume *cake* lebih besar daripada emulsifier komersial GMS. *Icing sugar* dengan penambahan M-DAG memiliki penampakan yang lebih putih dan halus dibandingkan *icing sugar* dengan penambahan lesitin komersial. Sedangkan kemampuan meningkatkan volume *icing sugar* emulsifier M-DAG sama dengan lesitin komersial. Pada pengujian kemampuan emulsifier untuk membentuk kompleks dengan pati, didapatkan bahwa M-DAG dari DALMIK memiliki kemampuan berinteraksi dengan pati sebaik GMS.

**PEMURNIAN, KARAKTERISASI DAN APLIKASI  
MONO- DAN DIASILGLISEROL YANG DIPRODUKSI  
DARI DESTILAT ASAM LEMAK MINYAK KELAPA MELALUI  
TEKNIK ESTERIFIKASI DENGAN KATALIS LIPASE *Rhizomucor miehei***

Oleh:

**WINDY LUKITA**

**F02496020**

**SKRIPSI**

Sebagai satu syarat memperoleh gelar

**SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi

Fakultas Teknologi Pertanian

Institut Pertanian Bogor

**2000**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

**BOGOR**

INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

PEMURNIAN, KARAKTERISASI DAN APLIKASI  
MONO- DAN DIASILGLISEROL YANG DIPRODUKSI  
DARI DESTILAT ASAM LEMAK MINYAK KELAPA MELALUI  
TEKNIK ESTERIFIKASI DENGAN KATALIS LIPASE *Rhizomucor miehei*

SKRIPSI

Sebagai satu syarat memperoleh gelar  
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN  
Pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi  
Fakultas Teknologi Pertanian  
Institut Pertanian Bogor

Oleh:

WINDY LUKITA

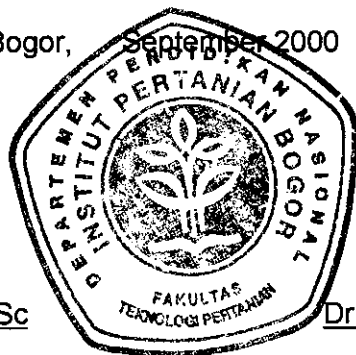
F02496020

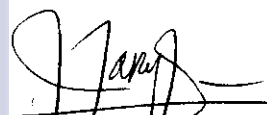
Dilahirkan di Purwokerto, 12 April 1978


Tanggal lulus: 2 September 2000

Menyetujui,

Bogor, September 2000



  
Dr. Ir. Purwyatno Hariyadi, MSc  
Dosen Pembimbing II

  
Dr. Ir. Slamet Budijanto, MAgr  
Dosen Pembimbing I



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Bapa Yang Maha Pengasih, karena berkat kasih dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini, yaitu :

1. Bapak Dr. Ir. Slamet Budijanto, MAgr sebagai dosen pembimbing pertama atas bimbingan, arahan dan nasehat kepada penulis selama menyelesaikan studi di IPB.
2. Bapak Dr. Ir. Purwiyatno Hariyadi, MSc sebagai dosen pembimbing kedua atas bimbingan dan dorongannya selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi.
3. Ibu Ir. Hanifah Nuryani Lioe yang berkenan menjadi dosen penguji dan telah memberikan masukan serta mengarahkan penulis dalam menyempurnakan skripsi ini.
4. Papa, Mama, Tina, Opa dan Oma tercinta atas doa, kasih sayang dan dorongan semangatnya kepada penulis.
5. Aries terkasih yang telah memberikan semangat, kasih sayang dan doanya kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
6. Ratna, temanku selama penelitian. Terima kasih atas segalanya.
7. Keluarga Bapak Rahmat, terima kasih atas perhatiannya kepada penulis selama masa studi di IPB.

8. Teman-teman kostku tersayang: Rita, Eva, Damai, Mbak Nana, Mbak Dilla dan Novia atas perhatian dan dukungannya kepada penulis.
9. Irene, Vicky, Ari, Yeti, Bagan, Edna, Arin, Sapta, Toni, Budi, Camus dan teman-temanku TPG-33 yang lain atas dukungannya.
10. Ibu Astrid dan Ibu Dedeh yang telah memberi kesempatan dan bimbingan kepada penulis untuk melakukan penelitian di LIPI Bandung.
11. Staf laboran: pak Sobirin, mbak Antin, mas Taufik, pak Karna dan staf lainnya di lingkungan Fateta yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas bantuan dan kerjasamanya yang baik.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkannya.

Bogor, September 2000

Penulis

# DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
I. PENDAHULUAN .....	1
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. EMULSIFAIER .....	4
B. MONO- DAN DIASILGLISEROL .....	11
III. BAHAN DAN METODE .....	17
A. BAHAN DAN ALAT .....	17
B. METODE PENELITIAN .....	18
1. Tahapan penelitian .....	18
2. Prosedur penelitian .....	19
a. Analisis komposisi asam lemak dengan kromatografi gas..	19
b. Pengukuran jumlah asam lemak bebas pada DALMIK (Lowry dan Tinsley, 1976) .....	21
c. Produksi M-DAG melalui reaksi esterifikasi (Kitu, 1999 yang dimodifikasi) .....	22
d. Pencucian produk M-DAG dengan pelarut heksan .....	23
e. Analisis campuran produk dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	23
f. Penentuan titik leleh (AOAC, 1971) .....	24



g. Stabilisasi emulsi minyak-air (Akoh, 1992 yang dimodifikasi) .....	25
h. Aplikasi pada produk <i>cake</i> .....	25
i. Aplikasi pada produk <i>icing sugar</i> (Nonstandardized Method 8.3 dalam O'Brien, 1988) .....	26
j. <i>Starch complexing</i> (Krog, 1971 yang dimodifikasi) .....	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	28
A. PRODUKSI CAMPURAN M-DAG .....	28
B. PEMURNIAN CAMPURAN M-DAG .....	30
C. KARAKTERISASI DAN APLIKASI CAMPURAN M-DAG DARI DALMIK SEBAGAI EMULSIFAIER .....	38
1. Titik leleh .....	38
2. Stabilitas emulsi .....	39
3. <i>Cake</i> .....	42
4. <i>Icing sugar</i> .....	47
5. <i>Starch complexing</i> .....	49
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	53
A. KESIMPULAN .....	53
B. SARAN .....	54
DAFTAR PUSTAKA .....	55
LAMPIRAN .....	58

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Jenis gugus hidrofilik dan lipofilik .....	5
Tabel 2. Fungsi emulsifier pada produk pangan .....	6
Tabel 3. Klasifikasi surfaktan/emulsifier berdasarkan jenis muatan .....	9
Tabel 4. Karakteristik lipase <i>R. miehei</i> .....	16
Tabel 5. Formulasi <i>cake</i> .....	26
Tabel 6. Formulasi <i>icing sugar</i> .....	26
Tabel 7. Perbandingan rendemen; kandungan MAG, DAG, ALB dan TAG dari campuran M-DAG 1 dan 2 .....	29
Tabel 8. Perbandingan kestabilan emulsi .....	40
Tabel 9. Perbandingan dan penambahan volume <i>cake</i> tanpa emulsifier dan <i>cake</i> dengan penambahan emulsifier .....	43
Tabel 10. Perbandingan volume <i>icing sugar</i> .....	48
Tabel 11. Jumlah pati kompleks yang terbentuk dengan penambahan emulsifier GMS dan M-DAG dari DALMIK .....	51

## DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Struktur monoasilgliserol dan diasilgliserol .....	14
Gambar 2.	<i>Spotting</i> pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	23
Gambar 3.	Penurunan rendemen produk selama pencucian .....	32
Gambar 4.	Emulsifaier M-DAG dari DALMIK .....	34
Gambar 5.	Kandungan fraksi MAG, DAG, ALB dan TAG pada produk sebelum pencucian berulang dan produk hasil pencucian berulang .....	34
Gambar 6.	Persen kehilangan MAG, DAG, ALB dan TAG selama pencucian .....	36
Gambar 7.	Diagram batang persentase <i>yield</i> MAG dan DAG yang diperoleh dari 30g DALMIK dan 45.92g gliserol .....	37
Gambar 8.	Emulsi air dalam minyak (perbandingan air : minyak = 10 : 90 (v/v)) .....	41
Gambar 9.	Perbandingan kulit <i>cake</i> tanpa emulsifaier; dan dengan penambahan 1% emulsifaier GMS dan M-DAG dari DALMIK .....	46
Gambar 10.	Perbandingan bentuk <i>cake</i> tanpa emulsifaier; dan dengan penambahan 1% emulsifaier GMS dan M-DAG dari DALMIK .....	46
Gambar 11.	Perbandingan volume <i>icing sugar</i> tanpa penambahan emulsifaier, dengan penambahan GMS dan M-DAG .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi asam lemak dalam DALMIK .....	58
Lampiran 2. Penentuan persentase jumlah asam lemak bebas dalam DALMIK .....	58
Lampiran 3. Penentuan perbandingan jumlah sampel DALMIK dengan gliserol untuk reaksi esterifikasi .....	59
Lampiran 4. Rendemen campuran M-DAG yang diperoleh sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	60
Lampiran 5. Kandungan fraksi MAG pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	60
Lampiran 6. Kandungan fraksi DAG pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	60
Lampiran 7. Kandungan fraksi FFA pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	61
Lampiran 8. Kandungan fraksi TAG pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	61
Lampiran 9. Persentase <i>yield</i> MAG yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	61
Lampiran 10. Persentase <i>yield</i> DAG yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	62
Lampiran 11. Persentase <i>yield</i> FFA yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	62
Lampiran 12. Persentase <i>yield</i> TAG yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan .....	62

Lampiran 13. Persentase kehilangan MAG yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan .....	63
Lampiran 14. Persentase kehilangan DAG yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan .....	63
Lampiran 15. Persentase kehilangan FFA yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan .....	63
Lampiran 16. Persentase kehilangan TAG yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan .....	64
Lampiran 17. Pengukuran jumlah amilosa yang tidak terkompleks dengan emulsifier .....	64

Halaman ini adalah bagian dari dokumen yang diterbitkan oleh IPB University dan merupakan sumber informasi yang akurat dan terpercaya. Kami tidak bertanggung jawab atas kesalahan atau ketidakakuratan yang mungkin terjadi. Untuk informasi lebih lanjut, silakan hubungi kami di alamat yang tertera di bawah ini.

## I. PENDAHULUAN

Destilat asam lemak minyak kelapa (DALMIK) adalah produk samping yang dihasilkan dari proses pemurnian minyak kelapa kasar menjadi minyak kelapa, yaitu pada tahap pemisahan asam lemak bebas dari minyak. Pemisahan untuk menghasilkan DALMIK dilakukan dengan cara penyulingan atau destilasi.

Menurut Ketaren (1986), minyak kelapa yang belum dimurnikan mengandung asam lemak bebas kurang dari 5%. Indonesia yang merupakan negara penghasil kelapa ketiga di dunia setelah Filipina dan India (APCC, 1990), pada tahun 1996 memproduksi 699.500 ton minyak kelapa (BPS, 1997). Sehingga dapat diperkirakan produksi DALMIK di Indonesia pada tahun 1996 dapat mencapai sekitar 30.000 ton. Sampai saat ini pemanfaatan DALMIK masih terbatas pada industri sabun dan cat, sehingga perlu dicoba alternatif lain penggunaan DALMIK yaitu sebagai bahan baku produksi emulsifaier komersial campuran mono- dan diasilgliserol (M-DAG).

Emulsifaier adalah bahan yang berfungsi untuk mengurangi tegangan permukaan diantara dua fase yang tidak bercampur, sehingga dapat bersatu dan membentuk suatu emulsi (Dziezak, 1988). Penggunaan emulsifaier pada produk pangan maupun non pangan telah berkembang sejak pertama kali diaplikasikan pada pembuatan margarin untuk menstabilkan emulsi air dalam minyak sebagai pengganti mentega pada tahun 1889 (Hasenhuettl dan Hartel, 1997). Predicasts (1984) melaporkan bahwa penggunaan emulsifaier pada tahun 1982 adalah 120 juta kg. Sedangkan pada tahun 1997, penggunaan emulsifaier meningkat menjadi 500 juta kg (Hasenhuettl dan Hartel, 1997).

Emulsifaier M-DAG merupakan jenis emulsifaier yang paling banyak digunakan. Sampai saat ini jumlah penggunaan emulsifaier M-DAG adalah 70% dari seluruh penggunaan emulsifaier (O'Brien, 1998). Penggunaan M-DAG yang luas ini disebabkan kelebihan sifat M-DAG sebagai emulsifaier dibanding emulsifaier lainnya, seperti tidak terlalu dipengaruhi suasana asam dan basa dan multifungsi.

Krog (1990) memprediksi kebutuhan monoasilgliserol (MAG) sebagai emulsifaier pangan pada era pasar global akan mencapai 132.000 ton/tahun. Sehingga Indonesia yang sampai saat ini masih mengimpor emulsifaier MAG diharapkan pada era pasar global nanti mampu memenuhi sendiri kebutuhan MAG-nya.

Emulsifaier M-DAG dapat dihasilkan melalui reaksi esterifikasi asam lemak secara enzimatis dengan katalis lipase, dengan menggunakan DALMIK yang merupakan sumber asam lemak bebas dan gliserol sebagai substrat. Keunggulan DALMIK adalah memiliki kandungan asam laurat (C12 : 0) yang cukup tinggi. Asam lemak ini menghasilkan monolaurin. Selain penggunaannya sebagai emulsifaier, monolaurin berfungsi sebagai antimikroba. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Mappiratu (1999), terbukti bahwa monolaurin mempunyai aktivitas antibakteri (*Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*).

Kitu (1999) telah mensintesis emulsifaier M-DAG yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi antara gliserol dan DALMIK secara enzimatis yaitu dengan enzim lipase dari *Rhizomucor miehei*. Menurut Yang dan Parkin (1994) dan Yang dan Chen (1994), metode produksi secara enzimatis ini merupakan metode yang menghasilkan produk aman dikonsumsi (tidak memberikan dampak negatif terhadap kesehatan). Akan tetapi campuran M-DAG dari DALMIK ini masih

memiliki bau tengik. Bau tengik ini diduga disebabkan asam lemak bebas terutama asam laurat yang merupakan asam lemak tertinggi dalam DALMIK.

Salah satu syarat emulsifier yang merupakan bahan tambahan makanan adalah tidak memberikan bau yang menurunkan mutu organoleptik produk yang dihasilkan. Untuk itu, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari metode pemurnian produk M-DAG dari DALMIK dan sekaligus mempelajari karakterisasi dan aplikasi emulsifier M-DAG dari DALMIK.





## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. EMULSIFAIER


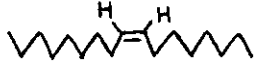
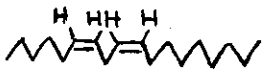
Emulsifaier adalah bahan yang dapat mengurangi tegangan permukaan pada interfase dua fase yang pada keadaan normal tidak saling bercampur, sehingga keduanya bercampur dan membentuk emulsi (Dziezak, 1988).

#### Struktur emulsifaier

Secara struktur emulsifaier adalah molekul amphifilik, yang memiliki gugus hidrofilik dan gugus lipofilik sekaligus. Gugus hidrofilik adalah bagian yang suka air dan merupakan bagian yang polar, sedangkan lipofilik adalah bagian yang suka lemak, terdiri dari hidrokarbon yang berupa rantai lurus ataupun siklik (Dziezak, 1988). Jenis gugus hidrofilik dan lipofilik dapat dilihat pada Tabel 1.

Bagian ujung lipofilik dapat terdiri dari asam lemak C16 (palmitat) atau asam lemak dengan rantai yang lebih panjang lain. Rantai yang lebih pendek, seperti C12 (laurat), dapat berfungsi sebagai emulsifaier yang baik, tetapi mudah terhidrolisa sehingga memberikan bau sabun atau flavor lain yang tidak diinginkan. Sedangkan asam lemak tidak jenuh adalah molekul C18 yang memiliki satu ikatan rangkap (oleat) dan dua ikatan rangkap (linoleat). Asam linoleat biasanya dihindari karena mudah teroksidasi dan menyebabkan *off-flavor* (ketengikan) pada produk akhir (Hasenhuettl dan Hartel, 1997).

Tabel 1. Jenis gugus hidrofilik dan lipofilik

Ujung lipofilik	Ujung hidrofilik
 Jenuh; palmitat atau stearat	-OH -CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
 Tidak jenuh; oleat	-CO <sub>2</sub> H -(OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> )OH
 Tidak jenuh; linoleat	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ -\text{O}-\text{P}-\text{O}^- \\   \\ \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2 \end{array}$

Sumber : Hasenhuettl dan Hartel, 1997.

### Fungsi Emulsifaier

Menurut Krog (1977), fungsi emulsifaier antara lain : (1) meningkatkan stabilitas emulsi, stabilitas sistem aerasi, dan mengontrol aglomerasi globula lemak, (2) memodifikasi tekstur, umur simpan dan sifat reologi dengan membentuk kompleks dengan protein dan lemak, (3) memperbaiki tekstur makanan yang berbasis lemak dengan pengontrolan polimorfisme lemak. Emulsifaier juga mampu meningkatkan kekentalan, melindungi dan menstabilkan emulsi meskipun dibedakan dengan stabilizer. Stabilizer sendiri adalah bahan yang digunakan untuk mencegah peningkatan atau pengendapan fase dispersi

pada emulsi dan suspensi. Tabel 2 menjelaskan berbagai fungsi emulsifaier pada berbagai produk pangan.

Tabel 2. Fungsi emulsifaier pada produk pangan

Fungsi emulsifaier	Contoh produk
Bahan pengaerasi	<i>Whipped toppings, icing cakes</i>
Pendispersi	Flavor dan vitamin
Pelembut adonan	Roti dan produk bakeri lain
<i>Defoamer</i>	Pembuatan <i>yeast</i> dan gula
Pengkompleks pati	Makaroni, pasta
Anti kristalisasi	Minyak salad
Bahan anti staling	Produk bakeri
Bahan anti lengket	Permen, permen karet
Bahan <i>antispattering</i>	Margarin
Penstabil pelelehan produk beku	<i>Topping</i> beku, pemutih kopi
Peningkatan <i>gloss</i>	Bahan pelapis konfeksioneri
Pembentuk <i>cloud</i>	Produk minuman
Bahan penghidrasi	Produk susu bubuk
Bahan enkapsulasi	Flavor, aroma
Penstabil dispersi	Mentega kacang

Sumber : Hasenhuettl dan Hartel, 1997

Sedangkan menurut O'Brien (1988), fungsi-fungsi emulsifaier yang paling sering digunakan untuk aplikasi makanan antara lain :

#### a. Stabilitas emulsi

Emulsifaier dapat menyatukan campuran dari dua cairan yang pada umumnya tidak dapat bercampur, yaitu dengan menaikkan pembentukan sistem terdispersi dengan menurunkan tegangan permukaan pada interfase antara dua substansi yang tidak saling bercampur. Kemampuan emulsifaier untuk mengatur interfase terjadi pada struktur molekulnya. Gugus yang polar dari emulsifaier memiliki afinitas untuk air, sedangkan bagian asam lemak dari emulsifaier memiliki afinitas untuk minyak .

b. *Starch complexing*

Pati terdiri dari dua jenis karbohidrat yaitu amilosa dan amilopektin. Gel terbentuk pada saat karbohidrat ini dicampur dengan air dan dipanaskan. Komponen pati akan mengkristal kembali dari gel atau disebut retrogradasi, yang menyebabkan proses staling pada produk-produk bakeri, kelengketan pada pasta dan produk kentang olahan, dan pengerasan pada pati permen jelly. Emulsifaier dapat membentuk kompleks dengan pati sehingga dapat memperlambat proses retrogradasi.

c. *Dough conditioning*

Gluten, protein pada tepung gandum, membentuk jaringan yang dapat memperkuat adonan. Emulsifaier tertentu dapat memperkuat gluten, sehingga mencegah pecahnya dinding sel yang akan mengganggu gas hasil fermentasi. Emulsifaier ini membuat sel yang terbentuk seragam, memberikan remah yang halus pada roti dan adonan yang tidak lengket atau keras.

d. Modifikasi kristal

Trigliserida bersifat polimorfik, yaitu dapat berada pada satu atau lebih bentuk kristal. Perubahan bentuk kristal dapat diperlambat dengan inkorporasi emulsifaier yang mempunyai kemampuan memodifikasi kristal. Bentuk alfa seperti surfaktan propilen glikol monoester, *acetylated monogliserides*, dan *lactylated monogliserides* dapat menstabilkan mono- dan diasilgliserol menjadi bentuk alfa yang lebih aktif untuk memperbaiki

fungsinya. Sorbitan ester mencegah pembentukan *bloom* pada produk coklat dengan memperlambat pembentukan lebih lanjut kristal beta.

e. Aerasi

Beberapa produk pangan disajikan dalam bentuk emulsi dan teraerasi membentuk busa. Emulsifaier pengaerasi memberikan aerasi dan laju pengocokan yang lebih cepat, struktur sel yang lebih mantap, dan volume yang lebih besar pada produk bakeri dan produk aerasi seperti *icing* dan *whipped toppings*.

### Klasifikasi Emulsifaier dan Faktor dalam Pemilihan Emulsifaier

Sistem emulsifaier harus disesuaikan pada aplikasi yang spesifik karena kinerja emulsifaier sangat dipengaruhi kondisi proses dan keberadaan ingredien lain (O'Brien, 1998).

Menurut Kamel (1994) dan Cowles (1998), faktor yang mempengaruhi pemilihan emulsifaier dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

1. Berdasarkan *Hydrophilic-Lipophilic balance* (HLB)

Sistem HLB atau *Hydrophilic-Lipophilic Balance* adalah salah satu cara yang digunakan untuk mengklasifikasikan dan memilih emulsifaier (O'Brien, 1988).

Nilai HLB berkisar antara 1 sampai 20, tetapi beberapa dapat bernilai 40. Emulsifaier yang mempunyai nilai HLB lebih rendah dari 9.0 mempunyai sifat lipofilik yang lebih kuat, sedangkan emulsifaier dengan nilai HLB lebih dari 11.0 lebih bersifat hidrofilik. Menurut Stauffer (1996), emulsifaier dengan nilai HLB 2.0 sampai 6.5 cocok digunakan pada sistem



emulsi w/o, sedangkan nilai HLB 8.5 sampai 16.5 cocok digunakan untuk emulsi o/w. Lebih jauh Kamel (1991) menyatakan bahwa emulsifier yang baik digunakan untuk stabilitas emulsi adalah yang mempunyai HLB 3.5 – 12, karena di luar kisaran tersebut, laju koalesen akan meningkat pesat. Nilai HLB yang terlalu ekstrim menyebabkan emulsifier hanya akan larut dalam fase kontinyu (Hassenhuettl, 1997).

## 2. Berdasarkan muatan

Tabel 3. Klasifikasi surfaktan/emulsifier berdasarkan jenis muatan

Jenis surfaktan / emulsifier	Keterangan
Anionik	Surfaktan yang sisi aktif molekulnya bermuatan negatif
Kationik	Surfaktan yang sisi aktif molekulnya bermuatan positif
Nonionik	Molekul tidak bermuatan yang memiliki bagian lipofilik dan hidrofilik (seperti monoasilgliserol dari asam lemak rantai panjang)
Amfoterik	Jenis surfaktan yang dapat bersifat kationik atau anionik tergantung pada pH larutan.
Zwitterionic	Bermuatan positif dan negatif sekaligus dan dapat sebagai bagian aktif permukaan

## 3. Berdasarkan kelarutan

Bancroft (1913) di dalam Hasenhuettl dan Hartel (1997), menyatakan bahwa kelarutan emulsifier menunjukkan jenis emulsi yang dibentuk. Emulsifier yang larut dalam lemak akan membentuk emulsi dengan lemak

sebagai fase kontinu, dan emulsifier yang larut dalam air akan membentuk emulsi dengan air sebagai fase kontinyunya.

4. Berdasarkan gugus fungsional

Gugus fungsional dapat berupa asam lemak jenuh atau tidak jenuh, asam, alkohol, etilen oksida dan lain-lain. Gugus fungsional ini memberikan karakteristik tertentu pada emulsifier tersebut.

5. Berdasarkan sumbernya, seperti sintetik atau alami.

Contoh emulsifier sintetik adalah monoasilgliserol dan turunannya, sedangkan contoh emulsifier alami adalah gum, polisakarida, saponin, lipoprotein dan *bile salts*.

6. Berdasarkan titik leleh emulsifier

Penggunaan emulsifier harus disesuaikan dengan sistem emulsi, yaitu suhu pada waktu emulsifier dicampurkan dan kondisi sistem emulsi sesudahnya (Bergenstahl, 1997).

Titik leleh masing-masing emulsifier berbeda-beda sesuai dengan titik leleh asam lemak pembentuk emulsifier. Semakin tinggi kandungan asam lemak tidak jenuh, maka titik leleh emulsifier akan semakin rendah (Hasenhuettl dan Hartel, 1997).

7. Sinergis dan kompetisi emulsifier

Sinergisme adalah pencampuran dua jenis emulsifier atau lebih yang bersifat komplementer satu sama lain dan membentuk emulsi yang sangat stabil (Kamel, 1991). Kombinasi dua atau lebih emulsifier bertujuan dapat

memberikan stabilitas yang lebih tinggi daripada penggunaan satu emulsifaier (Griffin dan Lynch, 1972).

Kompetisi pada pencampuran emulsifaier dapat menurunkan kinerja emulsifaier. Pada sistem emulsi yang menggunakan emulsifaier ionik, stabilitas emulsi dipengaruhi oleh dominasi jenis muatan pada permukaan partikel teremulsi, sehingga perlu diperhatikan untuk tidak mencampurkan emulsifaier yang memiliki perbedaan muatan karena akan saling menetralkan satu sama lain sehingga tidak efektif lagi.

#### 8. Konsentrasi penambahan emulsifaier

Jumlah emulsifaier yang digunakan harus optimal. Penggunaan emulsifaier dengan konsentrasi yang terlalu rendah akan menyebabkan kerja emulsifaier tidak maksimal, sebaliknya konsentrasi emulsifaier yang terlalu tinggi juga akan merusak produk (Dziezak, 1988). Menurut Nash dan Brickman (1972), polisorbit 80 pada konsentrasi 0.03-0.1% berfungsi sebagai bahan pengaerasi, sedangkan pada konsentrasi 0.005%, emulsifaier ini akan menghambat pembentukan busa atau aerasi produk.

### B. MONO- DAN DIASILGLISEROL

Mono- dan diasilgliserol merupakan emulsifaier *food grade* (tercantum dalam GRAS dan FDA) yang paling banyak digunakan pada industri pangan maupun non pangan. Monoasilgliserol komersial biasanya mengandung campuran mono-, di dan triester asam lemak dengan kandungan monoasilgliserol sekitar 45%. Meskipun demikian, produk dapat dipekatkan menjadi lebih dari 90% monoester yang dapat diperoleh dengan molekuler destilasi. Secara komersial,



produk ini tersedia dalam bentuk bubuk, serpihan, butiran, plastis atau berbentuk cair (O'Brien, 1998).

Keuntungan monoasilgliserol sebagai emulsifier adalah bersifat non ionik, tidak terlalu dipengaruhi (tidak terlalu sensitif) oleh suasana asam dan basa, dan merupakan emulsifier yang bersifat multifungsi. Emulsifier lain pada umumnya memberikan fungsi yang lebih spesifik atau terbatas. Di samping itu sifat lipofiliknya menyebabkan M-DAG sempurna sebagai emulsifier jenis water-in-oil. Pada suhu ruang, mono- dan diasilgliserol tidak larut dalam air dan hanya sangat sedikit larut dalam minyak, kecuali pada suhu yang meningkat (O'Brien, 1988).

Monoasilgliserol sebagai emulsifier digunakan secara luas baik pada industri pangan maupun industri non pangan (Sonntag, 1982). Dalam industri pangan, monogliserol terutama digunakan sebagai surfaktan atau emulsifier. Selain itu, monoasilgliserol juga berfungsi sebagai *conditioning agents* dan *anti-staling agents*. Permukaan aktif monogliserol disebabkan karena struktur molekulernya, yang merupakan kombinasi dari bagian hidrofilik dan bagian lipofilik. Keseimbangan bagian hidrofilik dan bagian lipofilik inilah yang menyebabkan monoasilgliserol menjadi penyekat untuk wilayah interfase dalam lingkungan yang merupakan fase campuran seperti air dan minyak (Elizabeth dan Boyle, 1997).

Produk-produk pangan yang menggunakan monoasilgliserol sebagai emulsifier adalah margarin, mentega kacang, puding, roti, biskuit dan kue-kue kering yang mengandung lemak (Ronsivalli *et al.*, 1990 dan Hui, 1996). Monoasilgliserol memperbaiki tekstur adonan roti dan juga memperpanjang umur simpan tortila jagung (dari segi tekstur), (Twillman dan White, 1988). Monoasilgliserol dalam adonan roti akan bereaksi dengan pati membentuk

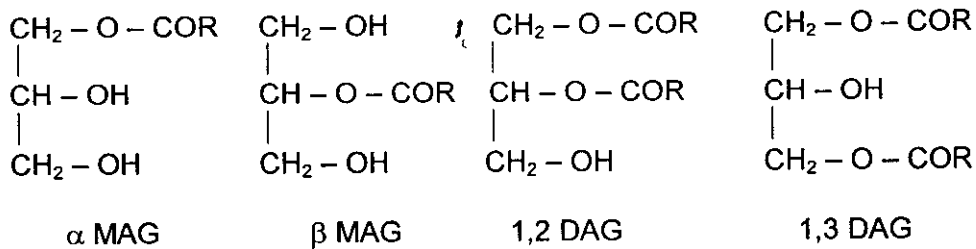


senyawa kompleks yang berperan memperbaiki tekstur roti serta memperpanjang umur simpan roti tersebut (Huang dan White, 1993; Elizabeth dan Boyle, 1997).

Pada prakteknya, penggunaan monoasilgliserol sering dikombinasikan dengan koemulsifier untuk meningkatkan daya emulsinya, seperti campuran monoasilgliserol dengan lesitin yang diaplikasikan pada pembuatan mentega, dan campuran monoasilgliserol dengan propilen glikol monoester pada pembuatan kue akan meningkatkan kestabilan emulsi kue tersebut.

Secara kimia monoasilgliserol disusun oleh satu rantai asil asam lemak yang diesterifikasikan ke dalam rantai gliserol, kelompok hidroksil bebas yang mempunyai karakteristik hidrofilik (menyukai substrat air), sedangkan kelompok yang teresterifikasi disebut gugus lipofilik (menyukai substrat minyak). Rantai asil lemak dapat teresterifikasi ke satu atau tiga grup hidroksil pada molekul gliserol menjadi monoasilgliserol, diasilgliserol dan triasilgliserol (Elizabeth dan Boyle, 1997).

Monoasilgliserol merupakan kristal cair (seperti lemak, dan berada dalam bentuk  $\alpha$ , atau dalam bentuk kristal  $\beta$  yang lebih stabil) yang mempunyai sifat amfifilik yang baik, dapat bergabung dengan air dan membentuk struktur fisik yang jelas yang diketahui sebagai mesofase. Mesofase mempunyai karakteristik dari dua bentuk fisik sekaligus, contohnya fase semi cair/semi padat (Elizabeth dan Boyle, 1997). Sedangkan diasilgliserol mempunyai dua struktur yaitu 1,2 diasilgliserol dan 1,3 diasilgliserol yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur monoasilgliserol dan diasilgliserol

R = gugus asam lemak

### Sintesis Mono- dan Diasilgliserol

M-DAG pertama kali diproduksi oleh Berthelot pada tahun 1853 melalui reaksi esterifikasi antara asam lemak dan gliserol. M-DAG dapat diproduksi secara kimia melalui gliserolisis, dan secara enzimatis melalui reaksi esterifikasi dengan bantuan enzim lipase (Elizabeth dan Boyle, 1997).

**Gliserolisis.** Sintesis M-DAG secara gliserolisis dilakukan dengan mereaksikan lemak atau minyak (trigliserida) dengan gliserol pada suhu tinggi (180-220°C) dengan bantuan katalis inorganik. Panas dan katalis tersebut meningkatkan transesterifikasi (pemindahan atau transfer rantai asil dari trigliserida ke gliserol). Produk yang dihasilkan berupa campuran mono- dan diasilgliserol dan trigliserida yang tidak ikut bereaksi atau teresterifikasi (Elizabeth dan Boyle, 1997).

**Esterifikasi enzimatis.** Sintesis M-DAG secara enzimatis dapat dilakukan melalui hidrolisis trigliserida menjadi monoasilgliserol, atau melalui reaksi esterifikasi asam lemak bebas atau ester asam lemak dengan gliserol, dengan katalis enzim lipase (Bornscheuer, 1995).

Keuntungan produksi M-DAG dengan metode enzimatis dibandingkan dengan gliserolisis adalah: M-DAG yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi (tidak

memberikan efek yang merugikan terhadap kesehatan) (Yang dan Parkin, 1994), kondisi reaksi yang lebih ramah (terutama penggunaan suhu yang lebih rendah yaitu 22-70°C, dapat menggunakan lipase spesifik untuk produk yang lebih spesifik, energi yang diperlukan lebih kecil, dan proses yang lebih ramah lingkungan. Kerugiannya antara lain masih memerlukan langkah untuk menghilangkan pelarut yang tertinggal dalam produk dan memerlukan biaya yang tinggi.

**Destilat Asam Lemak Minyak Kelapa (DALMIK).** DALMIK merupakan sumber asam lemak bebas, yang bersama-sama dengan gliserol dapat digunakan sebagai substrat pada reaksi esterifikasi enzimatis untuk menghasilkan M-DAG.

DALMIK ini merupakan produk samping yang dihasilkan pada salah satu tahap pemurnian minyak kelapa, yaitu tahap netralisasi yang bertujuan untuk memisahkan asam lemak bebas dari minyak.

**Lipase.** Lipase yang merupakan katalis pada reaksi esterifikasi ini adalah salah satu enzim yang banyak digunakan pada proses-proses industri. Menurut *Nomenclatur Comittee of The International Union of Biochemistry*, lipase termasuk dalam kelompok enzim hidrolase, sebuah subgrup esterase dengan nama sistemik gliserol ester hidrolase (E. C. 3. 1. 1. 3.). Lipase mengkatalisis reaksi reversible pemecahan triasilgliserol menjadi M-DAG, asam lemak bebas dan gliserol (Vasel *et al.*, 1993; Kilara, 1985). Enzim lipase juga dapat digunakan dalam reaksi interesterifikasi minyak dan lemak untuk memperoleh produk-produk bernilai tinggi (seperti *cocoa butter substitute*), sintesis ester asam lemak,

sintesis alkil glikosida dari ester asam lemak serta alkoholisis minyak dan lemak (Bornscheuer, 1995).

Selain dapat digunakan sebagai biokatalis hidrolisis triasilgliserol dan sebagai katalis sintesa ester, enzim ini juga dapat mengkatalisis reaksi enzim lainnya. Hal ini disebabkan karena lipase dapat menerima bermacam-macam substrat (Engel, 1992a).

Lipozyme<sup>®</sup> IM adalah lipase komersial yang dihasilkan oleh *R. miehei* (Novo, 1992). Lipase ini terdapat dalam bentuk imobil dan pada umumnya berbentuk granula dengan ukuran partikel 0.2 - 0.6 mm, densitas sebesar 350 – 450 kg/m<sup>3</sup> dan kadar air sebesar 2 – 3% (Novo, 1992). Beberapa karakteristik lain dari lipase *R. miehei* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik lipase *R. miehei*

Berat molekul	32.000 (SDS-PAGE)
Titik isoelektrik	4
Aktivitas spesifik	$8 \cdot 10^6$ LU/g protein
Spesifitas, asam lemak	luas
gliserida	posisi 1,3-
alkohol	primer
pH optimum	6 – 8
Temperatur	40 – 50 °C (dalam bentuk emulsi)

Sumber : Novo Industri AS (1989)



### III. BAHAN DAN METODE

#### A. BAHAN DAN ALAT

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah Destilat Asam Lemak Minyak Kelapa (DALMIK) yang diperoleh dari PT BARCO Jakarta dan lipase *Rhizomucor miehei* (Lipozyme<sup>®</sup> IM) yang diperoleh dari NOVO, Denmark.

Bahan kimia yang digunakan untuk analisa DALMIK adalah benzena (p.a CICA, Japan), larutan cupric acetate-piridine (5% w/v larutan cupric acetate dalam air dan diatur pH 6.0-6.2 dengan menggunakan piridine), standar asam palmitat ( $C_{16}H_{32}O_2$ , Sigma),  $BF_3$ /Metanol (p.a. Merck), NaOH, MeOH, NaCl, heksan (p.a. J.T. Baker),  $Na_2SO_4$  anhidrat, standar internal (margaric acid, Sigma) dan gas nitrogen.

Bahan kimia yang digunakan untuk memproduksi campuran mono- dan diasilgliserol adalah gliserol (p.a. Merck) dan heksan (p.a. J.T. Baker).

Bahan kimia yang digunakan untuk pemurnian adalah arang aktif, *bleaching earth*, metanol dan heksan (p.a. J.T. Baker).

Bahan kimia yang digunakan untuk analisis campuran MAG, DAG, FFA dan TAG adalah 1-monooleoyl-rac-glycerol (Sigma), 1,3-diolein (Sigma), triolein (Sigma), petroleum eter (p.a. Merck), dietil eter (p.a. Merck), asam asetat glasial (p.a. J.T. Baker), heksan (p.a. J.T. Baker), asam sulfat 50%.

Bahan yang digunakan untuk aplikasi adalah gliserol monostearat (GMS), lesitin, minyak sayur, margarin, *shortening*, gula halus, padatan susu non fat, garam, air, tepung *cake*, dan telur.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, kertas saring biasa, kertas saring Whatman no. 42, *waterbath shaker*, refrigerator, *rotary evaporator*, pipa kapiler, lempeng KLT (20x20 cm<sup>2</sup>, ketebalan silika gel 0.25 mm; E. Merck), bejana pengembang, *TLC scanner* (CAMAG), alat penyemprot (CAMAG), timbangan, oven, vortex, spektrofotometer, termometer, mixer dan peralatan gelas.

## B. METODE PENELITIAN

### 1. Tahapan penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 5 tahapan yaitu, (1) Analisa komposisi asam lemak dan pengukuran jumlah asam lemak bebas dari DALMIK, (2) produksi campuran M-DAG, (3) pemurnian produk M-DAG, (4) analisis campuran produk, (5) penentuan karakter dan aplikasi M-DAG sebagai emulsifier.

Analisis komposisi asam lemak dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas. Hasil analisis yang diperoleh bersama-sama dengan hasil pengukuran jumlah asam lemak bebas dari DALMIK digunakan untuk menentukan rasio molar antara gliserol dengan DALMIK.

Tahap produksi dilakukan dengan mereaksikan 30g DALMIK dan 45.92g gliserol pada suhu reaksi 50°C selama 4 jam. Reaksi

tersebut dikatalisis dengan lipase *R. miehei* sebesar 2% (w/w). Produk yang diharapkan terbentuk dari reaksi ini adalah campuran M-DAG.

Pemurnian produk M-DAG dilakukan dengan tiga metode, yaitu dengan menggunakan kolom arang aktif dan kolom *bleaching earth*; dan pencucian berulang dengan menggunakan pelarut heksan. Hasil yang diharapkan adalah asam lemak bebas pada produk hasil pemurnian dapat berkurang, dan TAG yang masih terdapat pada produk juga berkurang sehingga penampakan produk tidak terlalu berminyak.

Penentuan persen berat fraksi MAG, DAG, FFA dan TAG dilakukan dengan metode analisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Penentuan karakter M-DAG yang dipelajari pada penelitian ini adalah penentuan titik leleh. Sedangkan untuk mengetahui kinerja M-DAG sebagai emulsifier, maka M-DAG ditambahkan pada produk emulsi w/o dan o/w, produk aerasi seperti *cake* dan *icing sugar*, dan juga interaksinya dengan pati (*starch complexing*).

## 2. Prosedur penelitian

### a. Analisis komposisi asam lemak dengan kromatografi gas

Sebelum diinjeksikan ke dalam alat GC (*Gas Chromatography*), terlebih dahulu sampel dimetilasi dengan metode AOCS (1990) sebagai berikut. Sebanyak  $\pm 25$  mg sampel dicampur dengan 1 ml Standar Internal C17:0 (1mg/ml) dalam



tabung reaksi bertutup ulir. Campuran ditambahkan 1.5 ml NaOH/MeOH 0.5 N dan divorteks. Isi tabung dihembus dengan gas nitrogen, ditutup rapat dan dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 5 menit. Setelah agak dingin, ditambahkan 1 ml heksan dan divorteks kembali. Selanjutnya campuran ditambahkan 2 ml BF<sub>3</sub>/Metanol 14% dan divorteks kembali. Isi tabung dihembus dengan gas nitrogen, ditutup rapat dan dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 30 menit. Setelah agak dingin (30-40°C), ditambahkan 1 ml heksan dan 3 ml NaCl jenuh kemudian divorteks kembali. Fase heksan dipisahkan, sedangkan sisanya diekstrak kembali dengan 1 ml heksana. Seluruh hasil ekstraksi digabung dan dimasukkan dalam tabung vial berwarna 5 ml setelah sebelumnya dihilangkan airnya menggunakan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat. Sampel disimpan pada suhu -20°C di bawah kondisi nitrogen sampai saat analisis.

Analisis komposisi asam lemak dalam sampel menggunakan kromatografi gas GC-9AM (Shimadzu, Jepang) yang dilengkapi dengan detektor FID, *integrator chromatopac* C-R 6A dan kolom kapiler DB-23 (30 m x 0.25 mm i.d.; J & W Scientific, Folsom, CA). Penyuntikan sampel pada GC sebanyak 1 µl menggunakan sistem langsung (*splitless mode*) dengan suhu injektor 250°C, suhu detektor 260°C, suhu kolom awal 140°C yang dipertahankan selama 6 menit, penambahan suhu kolom 3°C/menit hingga mencapai suhu 230°C dan dipertahankan selama 20 menit. Gas helium digunakan sebagai gas pembawa, dengan tekanan

1 kg/cm<sup>2</sup>. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan standar ester metil asam lemak dan kuantifikasi masing-masing jenis asam lemak dilakukan dengan perbandingan terhadap standar internal C17:0.

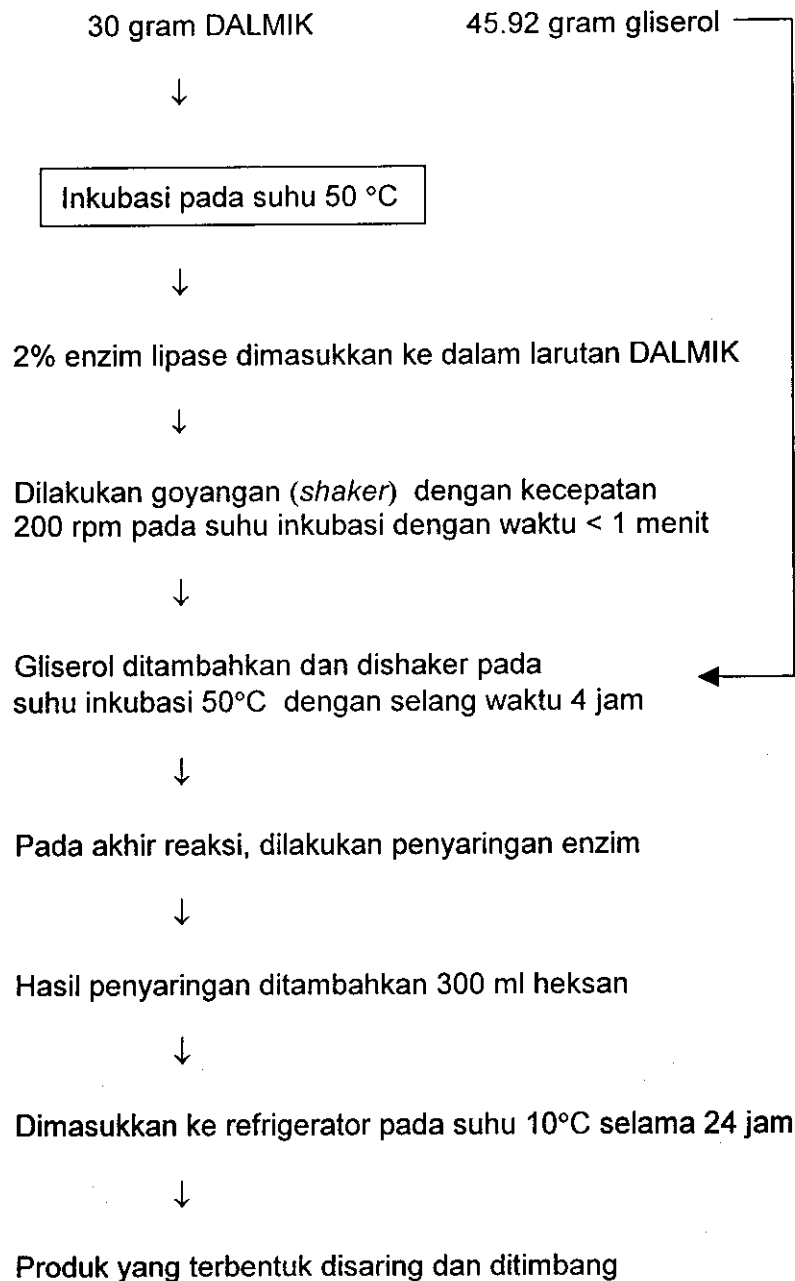
- b. Pengukuran jumlah asam lemak bebas pada DALMIK (Lowry dan Tinsley, 1976)

Sebanyak 0.4 ml sampel DALMIK yang telah mengalami pengenceran sebanyak 100 kali dengan benzena direaksikan ke dalam 4.6 ml benzena dan divorteks selama 30 detik. Selanjutnya ditambahkan 1 ml larutan cupric acetate-piridine (pH 6.0 – 6.2) dan divorteks selama 2 menit. Campuran dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm.

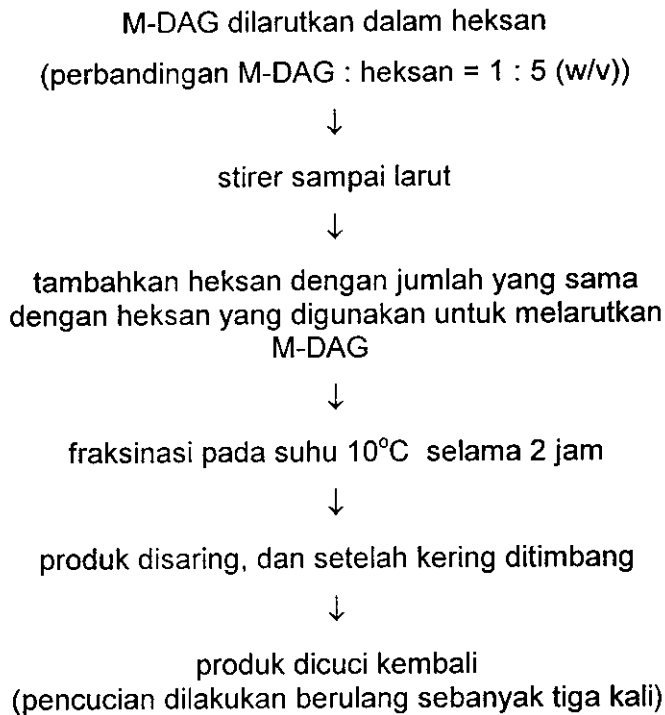
Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap standar C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> (asam palmitat) dan blanko, akan tetapi pada blanko sampel DALMIK diganti dengan benzena.



- c. Produksi M-DAG melalui reaksi esterifikasi (Kitu, 1999 yang dimodifikasi)

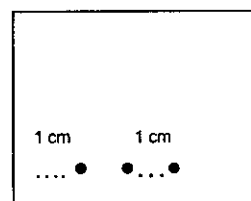


d. Pencucian produk M-DAG dengan pelarut heksan



e. Analisis campuran produk dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sebanyak 100 mg produk campuran MAG, DAG, FFA, TAG dilarutkan dalam 1 ml heksan. Selanjutnya 1  $\mu$ l dari larutan tersebut diaplikasikan pada lempeng KLT dalam bentuk spot bulat. Setiap lempeng KLT (ukuran 20x20 cm<sup>2</sup>) dapat memuat 12 spot. Jarak antar spot adalah 1 cm seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Spotting pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Setelah *spotting* selesai dilakukan, lempeng KLT dikembangkan atau dielusi menggunakan campuran petroleum eter : dietil eter : asam asetat glasial (90:10:1 v/v/v) yang sebelumnya telah dijenuhkan. Waktu yang diperlukan untuk mengelusi adalah 1,5 jam. Lempeng kemudian dikeluarkan dari bejana pengembang dan dibiarkan beberapa menit sampai uap yang masih tertinggal hilang. Untuk identifikasi, pewarnaan dilakukan dengan asam sulfat 50% yang disemprotkan pada lempeng dan selanjutnya dipanaskan pada oven bersuhu 120°C selama 1 jam. Spot-spot yang timbul akan tampak berwarna abu-abu tua dan siap untuk dibaca dengan *TLC Scanner*.

Lempeng ditempatkan pada alat *TLC Scanner* dan diatur koordinat X dan Y untuk tiap-tiap spot. Panjang gelombang yang digunakan adalah 405 nm. Kondisi lainnya adalah sensitivitas = 5, lebar celah = 6, kecepatan scan 2 mm/detik, range 0,1 dan *chart speed* 60 mm/menit. Pengukuran berat fraksi masing-masing fraksi dilakukan dengan menghitung luas area masing-masing spot dan dibandingkan masing-masing standar MAG, DAG, FFA dan TAG.

Analisis campuran produk dengan KLT ini dilakukan juga setelah produk dicuci dengan pelarut.

#### f. Penentuan titik leleh (AOAC, 1971)

Emulsifier dimasukkan ke dalam pipa kapiler setinggi 1 cm. Pipa kapiler tersebut dimasukkan ke dalam lemari pendingin

(freezer) selama 16 jam. Bersama dengan termometer, pipa kapiler tersebut dicelupkan ke dalam 600 ml gelas piala yang telah berisi air suling. Gelas piala dipanaskan dengan kenaikan suhu  $0.5^{\circ}\text{C}$  per menit. Tepat bila contoh mulai naik, termometer dibaca dan bila telah naik 4 cm dari semula, suhu dicatat lagi. Titik cair adalah rata-rata pembagian dari kedua pembacaan suhu tersebut.

g. Stabilisasi emulsi minyak-air (Akoh, 1992 yang dimodifikasi)

Emulsi air dalam minyak (w/o) dibuat dengan memanaskan 0,5% emulsifaier dalam minyak kedelai (Mazola) suhu  $70^{\circ}\text{C}$  kemudian didinginkan sampai suhu  $25^{\circ}\text{C}$ . Kemudian dihomogenkan dengan *hand blender* dengan kecepatan rendah serta ditambahkan air. Pengocokkan dilanjutkan selama 2 menit. Emulsi yang terbentuk dipindahkan ke dalam gelas ukur 100 ml dan disimpan pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan terhadap emulsi yang terbentuk selama 12 jam.

Perbandingan air : minyak yang digunakan adalah 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40 dan 70:30. Digunakan kontrol minyak kedelai dan air tanpa digunakan emulsifaier dan minyak kedelai dengan penambahan emulsifaier kuning telur sebagai pembanding.

h. Aplikasi pada produk *cake*

Sesuai yang dianjurkan, emulsifaier yang ditambahkan pada *cake* hanya kurang lebih 1.0 – 2.5% dari berat keseluruhan

(Kamel, 1991). Dalam pembuatan cake ini, emulsifaier ditambahkan pada konsentrasi 1.0 % dan 0 (kontrol). Sebagai emulsifaier komersial pembanding digunakan GMS.

Tabel 5. Formulasi cake

Bahan	Jumlah
Telur utuh	2 butir
Gula pasir	62.5 g
Margarin	20 g
Emulsifaier	2.3 g (1%)
Tepung cake	45 g

- i. Aplikasi pada produk *icing sugar* (Nonstandarized Method 8.3 dalam O'Brien, 1998)

Tabel 6. Formulasi *Icing Sugar*

Bahan	Berat
<i>Shortening</i>	16,7%
<i>Gula halus</i>	66,9%
<i>Padatan susu nonfat</i>	4,1%
<i>Garam</i>	0,5%
<i>Air</i>	11,8%
Emulsifaier	4%

Semua bahan dikocok selama 2 menit pada kecepatan awal. Kemudian pengocokan dinaikkan menjadi kecepatan tinggi selama 5 menit. Mixer dihentikan dan diukur volume spesifiknya (cc/gram).

j. *Starch complexing* (Krog, 1971 yang dimodifikasi)

Pati jagung : air destilata : emulsifaier

0.2 g : 100 ml : 5% emulsifaier (dari berat pati)



dipanaskan pada suhu 70 °C



sentrifuse 3500 rpm; 5 menit



supernatan diambil 2 ml



ditambah 2 ml larutan iodin 1%



dibaca dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 625 \text{ nm}$





## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. PRODUKSI CAMPURAN M-DAG

Campuran M-DAG pada penelitian ini diproduksi dengan menggunakan metode Kitu (1999) yang telah dimodifikasi. Kitu (1999) telah mensintesis campuran M-DAG melalui reaksi esterifikasi dengan bantuan katalis *R. miehei* pada beberapa parameter reaksi, seperti rasio molar DALMIK dan gliserol (1 : 2.2 ; 1 : 3 ; 1 : 3.8), suhu reaksi (40°C dan 50°C), waktu reaksi (4 jam dan 5 jam) dan suhu fraksinasi (0°C, 5°C dan 10°C), serta lama fraksinasi 24 jam. Kondisi optimum yaitu pada rasio molar DALMIK dan gliserol 1 : 3.8, suhu reaksi 50°C, waktu reaksi 4 jam dan suhu fraksinasi 5°C.

Kondisi reaksi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu pada rasio molar DALMIK dan gliserol (1 : 3.8), suhu reaksi 50°C, waktu reaksi 4 jam, suhu fraksinasi 10°C dan lama fraksinasi 24 jam. Modifikasi yang dilakukan adalah dengan meningkatkan jumlah substrat menjadi tiga kali lipat lebih banyak daripada substrat yang direaksikan Kitu (1999). Pada kondisi yang sama, Kitu (1999) memproduksi M-DAG dengan mereaksikan 10g DALMIK dan 14g gliserol, sedangkan produksi M-DAG yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan mereaksikan 30g DALMIK dan 45.92g gliserol. Perbedaan jumlah gliserol yang direaksikan disebabkan karena perbedaan kandungan asam lemak bebas DALMIK yang digunakan Kitu (1999) dan DALMIK yang digunakan pada penelitian ini. Kitu (1999) menggunakan DALMIK dengan kandungan asam lemak bebas 81.99%, sedangkan pada penelitian ini digunakan DALMIK dengan

kandungan asam lemak bebas 7.17%. Perhitungan untuk penentuan jumlah gliserol yang dibutuhkan untuk reaksi esterifikasi dapat dilihat pada Lampiran 3.

Rendemen campuran M-DAG yang dihasilkan pada penelitian ini dengan kondisi tersebut adalah 31.06%, dimana rendemen merupakan perbandingan berat endapan yang dihasilkan dengan berat total substrat (DALMIK dan gliserol). Endapan ini kemudian dianalisa dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui berat fraksi MAG, DAG, FFA dan TAG-nya. Dari hasil analisis tersebut, diketahui produk yang dihasilkan terdiri dari 75.39% MAG, 16.64% DAG, 6.65% FFA dan 1.31% TAG. Perbandingan rendemen; kandungan MAG, DAG, FFA dan TAG dari campuran M-DAG yang diperoleh Kitsu (1999) dengan campuran M-DAG yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Perbandingan rendemen; kandungan MAG, DAG, FFA dan TAG dari campuran M-DAG 1 dan 2

	1	2
Rendemen (%)	29.47	31.06
MAG (%)	77.68	75.39
DAG (%)	14.71	16.64
FFA (%)	7.39	6.65
TAG (%)	0.22	1.31

1 = M-DAG yang disintesis Kitsu (1999); (substrat yang direaksikan 10g DALMIK dan 14g gliserol)

2 = M-DAG yang dihasilkan pada penelitian ini; (substrat yang direaksikan 30g DALMIK dan 45.92g gliserol)

M-DAG 1 dan M-DAG 2 disintesis pada kondisi yang sama (suhu reaksi 50 °C, waktu reaksi 4 jam, suhu fraksinasi 10°C dan waktu fraksinasi 24 jam)

Dari Tabel 7 tersebut dapat dilihat bahwa peningkatan jumlah substrat menjadi tiga kali lebih banyak ternyata tidak memberikan hasil yang jauh berbeda. Selain disebabkan oleh peningkatan jumlah substrat, perbedaan

tersebut juga dipengaruhi antara lain oleh perbedaan bahan baku (DALMIK), aktivitas enzim dan kondisi alat yang digunakan serta waktu penyaringan.

## B. PEMURNIAN CAMPURAN M-DAG

Pemurnian yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mengurangi kandungan asam lemak bebas yang diduga menyebabkan bau tengik pada produk M-DAG yang dihasilkan, dan juga TAG yang masih tertinggal pada campuran produk akhir. Metode pemurnian yang telah dilakukan diantaranya dengan melakukan campuran produk pada kolom arang aktif dan *bleaching earth*, serta pencucian berulang produk dengan pelarut n-heksana 1:5 (w/v).

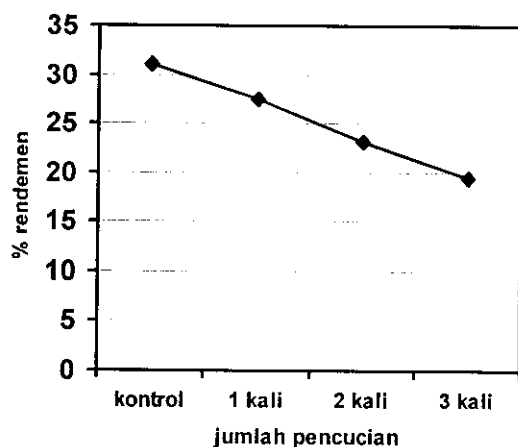
Penggunaan arang aktif bertujuan untuk menyerap sebagian bau yang tidak dikehendaki dan mengurangi jumlah peroksida yang mungkin terkandung dalam campuran M-DAG (Ketaren, 1986). Sebanyak 10 g produk campuran M-DAG dilarutkan dalam 50 ml etanol, kemudian dilalukan pada kolom arang aktif. Setelah selesai filtrasi, maka hasil filtrasi dievaporasi dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan etanol, kemudian filtrat ditambah heksan 50 ml dan difraksinasi kembali selama 24 jam. Hasil yang diperoleh adalah bau pada campuran M-DAG masih kuat, akan tetapi penampakkan produk menjadi kuning dan sangat berminyak.

Penggunaan *bleaching earth* juga mempunyai tujuan yang sama dengan arang aktif. Sebanyak 10 g produk campuran M-DAG dilarutkan dalam 50 ml etanol dan diaduk sampai larut, kemudian dilalukan pada kolom yang berisi *bleaching earth*. Filtrasi berlangsung dalam waktu lama, dan filtrat yang dihasilkan berkurang banyak karena tertahan dalam kolom *bleaching earth*.

Pencucian berulang pada produk M-DAG dengan pelarut heksana bertujuan untuk mengurangi asam lemak bebas dan TAG yang masih tertinggal dalam campuran produk M-DAG. Pelarut yang digunakan adalah heksana, karena heksana bersifat non polar, sedangkan MAG bersifat agak polar sehingga dalam pencucian diharapkan MAG tidak banyak ikut terlarut dalam pelarutnya. Meskipun demikian apabila heksan yang digunakan terlalu banyak, maka kemungkinan MAG yang terlarut juga semakin banyak, sehingga perbandingan campuran M-DAG dan heksan yang digunakan adalah 1:5 (w/v). Sebanyak 10g campuran M-DAG ditambah dengan 50 ml heksana dan diaduk dengan stirer sampai produk cukup larut. Pengadukan dengan stirer ini bertujuan untuk membebaskan asam-asam lemak bebas dan TAG yang terdapat dalam campuran produk M-DAG sehingga terikat dengan heksan. Waktu stirer 5 menit, karena produk sudah cukup banyak larut. Kemudian larutan ditambah heksan sebanyak 50 ml lagi untuk fraksinasi kembali.

Menurut Stevenson *et al.* (1993), suhu yang rendah diperlukan karena pada suhu ini MAG akan mengkristal dan membentuk endapan sehingga dapat dipisahkan dari pelarutnya. Prinsip pembentukan endapan adalah pada suhu tinggi campuran MAG, DAG, FFA dan TAG masih bercampur dengan pelarut, sedangkan pada suhu rendah masing-masing fraksi asilgliserol yang memiliki asam lemak jenuh akan mengkristal dan membentuk endapan. Dengan demikian endapan dapat dengan mudah dipisahkan dari pelarutnya dengan penyaringan. Sehingga fraksinasi kembali dilakukan pada suhu yang sama pada suhu fraksinasi awal yaitu 10°C. Waktu fraksinasi adalah dua jam, karena dalam waktu dua jam kristal telah terbentuk kembali. Kemudian kristal tersebut disaring kembali dan dikeringkan dalam refrigerator untuk menguapkan pelarutnya.

Setelah kering, produk dicuci lagi dengan prosedur yang sama seperti sebelumnya. Akan tetapi waktu stirer diperpanjang menjadi 10 menit, karena waktu stirer 5 menit masih banyak produk yang belum dapat larut. Pencucian berulang dilakukan sebanyak tiga kali, karena pencucian lebih lanjut akan mengurangi jumlah rendemen yang terlalu besar. Penurunan rendemen dapat dilihat pada Gambar 3.



Pemurnian produk M-DAG dilakukan dengan pencucian berulang dengan pelarut heksana sebanyak tiga kali, dengan perbandingan produk : pelarut = 1 : 5 (w/v), suhu fraksinasi kembali 10°C dan waktu fraksinasi 2 jam.

Gambar 3. Penurunan rendemen produk selama pencucian

Rendemen yang diperoleh adalah 27.45% pada pencucian pertama, 23.06% pada pencucian kedua, dan 19.48% pada pencucian ketiga. Pada pencucian pertama rendemen turun sebesar 11.62%. Penurunan rendemen yang besar terjadi pada pencucian kedua dan ketiga. Pencucian kedua menurunkan rendemen sebesar 16.00% dari rendemen hasil pencucian pertama, sedangkan pencucian ketiga menurunkan rendemen sebesar 15.52% dari rendemen hasil pencucian kedua. Hal ini disebabkan karena waktu

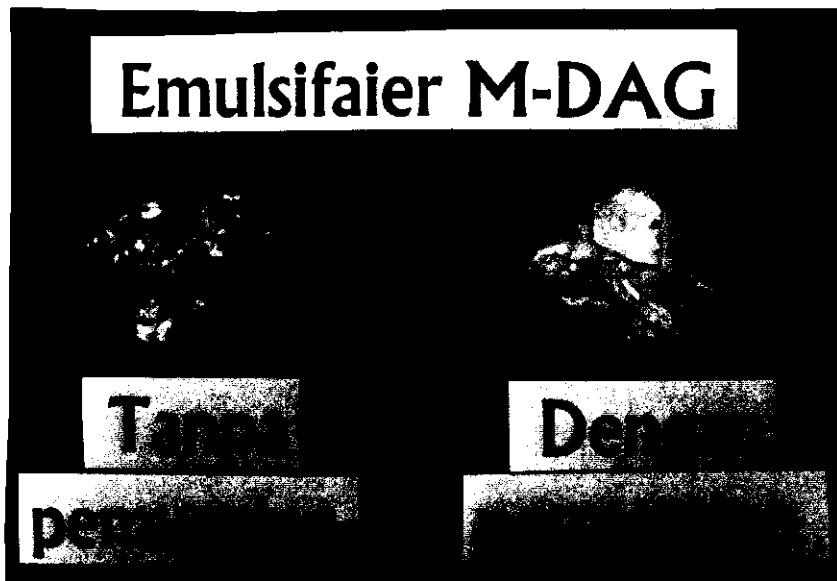
pencucian kedua dan ketiga lebih lama daripada waktu pencucian pertama. Pada pencucian ketiga, waktu pencucian tidak diperpanjang lagi, yaitu tetap sepuluh menit seperti pada pencucian kedua meskipun masih terdapat gumpalan-gumpalan produk yang tidak larut. Hal ini bertujuan untuk menghindari berkurangnya rendemen lebih banyak lagi, karena pada pencucian ketiga rendemen sudah berkurang 25.75% dari rendemen produk awal sebelum dicuci. Data penurunan rendemen selama pencucian selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Hasil pencucian berulang satu kali memiliki warna dan tekstur yang tidak jauh berbeda dengan produk yang belum mengalami pencucian. Pencucian kedua memiliki warna yang lebih putih dan berbentuk gumpalan yang lebih padat, sedangkan produk yang dihasilkan pada pencucian ketiga, memiliki warna yang putih dan berbentuk serpihan. Penampakan produk sebelum dimurnikan dan sesudah dimurnikan dapat dilihat pada Gambar 4.

Ketiga metode pemurnian yang dilakukan ternyata belum dapat menghilangkan bau tengik pada campuran produk, sehingga analisa komposisi campuran M-DAG dilakukan pada produk hasil pemurnian yang memiliki warna dan tekstur yang terbaik. Hal ini dilakukan dengan mengasumsikan bahwa produk yang memiliki warna dan tekstur lebih baik, memiliki kandungan MAG dan DAG yang lebih tinggi dan kandungan asam lemak bebas serta TAG yang lebih rendah dibandingkan produk dengan penampakan yang lebih buruk.

Produk yang memiliki warna dan tekstur terbaik adalah produk yang telah mengalami pencucian berulang dengan pelarut heksana, sehingga hasil pemurnian dengan metode pencucian berulang dianalisa lebih lanjut komposisi MAG, DAG, FFA dan TAG-nya dengan metode analisa kromatografi lapis tipis.

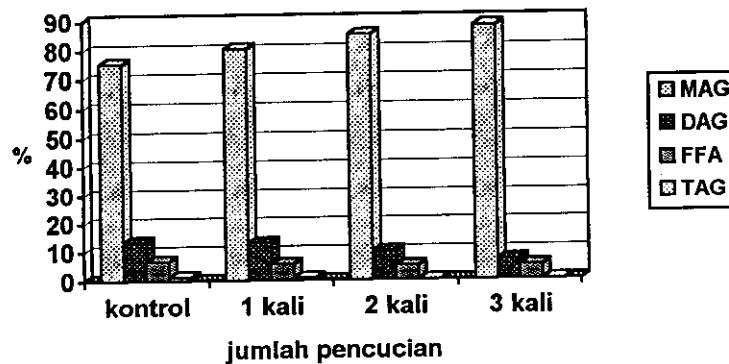




Produk dengan pemurnian adalah produk hasil pencucian berulang dengan heksana sebanyak tiga kali.

Gambar 4. Emulsifaier M-DAG dari DALMIK

Hasil analisa komposisi produk dengan kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 5.



Pemurnian produk M-DAG dilakukan dengan pencucian berulang dengan pelarut heksana sebanyak tiga kali, dengan perbandingan produk : pelarut = 1 : 5 (w/v), suhu fraksinasi kembali 10 °C dan waktu fraksinasi 2 jam.

Gambar 5. Kandungan fraksi MAG, DAG, FFA dan TAG pada produk sebelum pencucian berulang dan dan produk hasil pencucian berulang

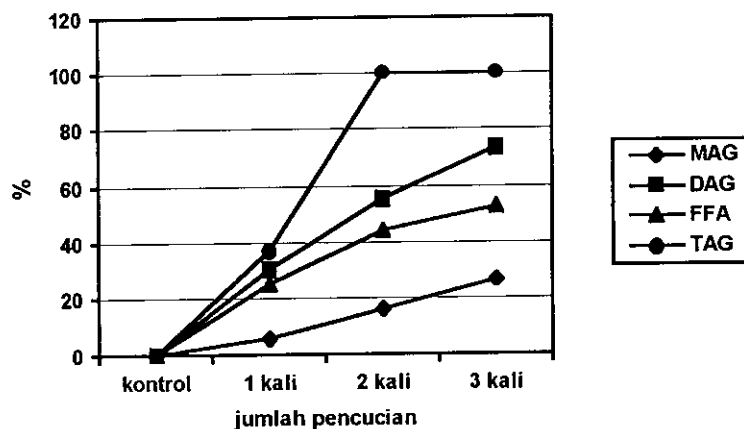
Pencucian berulang mengakibatkan kenaikan kandungan MAG pada produk hasil pencucian. Kandungan MAG tertinggi terdapat pada produk hasil pencucian sebanyak tiga kali, yaitu 88.02%. Sedangkan kandungan MAG pada produk awal sebelum mengalami pencucian adalah 75.40%. Kenaikan kandungan MAG pada produk hasil pencucian ini disebabkan oleh turunnya fraksi DAG, FFA dan TAG pada produk. Kandungan DAG semakin menurun dengan semakin banyaknya pencucian, yaitu dari 16.64% pada produk awal menjadi 6.97% pada produk hasil pencucian tiga kali.

Dari Gambar 5 dapat dilihat bahwa ternyata asam lemak bebas yang diduga menyebabkan bau tengik berada dalam jumlah kecil pada produk, yaitu 6.65%. Kandungan FFA produk awal ini tidak jauh berbeda dengan kandungan FFA terkecil yang terdapat pada produk hasil pencucian kedua dan ketiga. Kandungan FFA pada produk pencucian kedua dan ketiga memiliki nilai yang sama yaitu 5.01%. Sehingga penyebab bau tengik yang masih ada pada produk M-DAG yang telah dicuci adalah kandungan asam lemak yang tidak terlalu jauh berbeda antara produk awal sebelum dicuci dengan produk hasil pencucian berulang.

TAG sudah tidak terdapat lagi dalam produk hasil pencucian kedua dan ketiga (Lampiran 8). Dari data yang diperoleh tersebut dapat diketahui bahwa produk hasil pencucian kedua dan ketiga memiliki kandungan asam lemak bebas yang terendah dan tidak mengandung TAG lagi. Dengan demikian, sebenarnya pencucian ketiga tidak perlu dilakukan karena justru mengakibatkan rendemen semakin berkurang.



Dari data rendemen dan kandungan fraksi MAG, DAG, FFA dan TAG, maka dapat dihitung persen kehilangan MAG, DAG, FFA dan TAG selama pencucian.

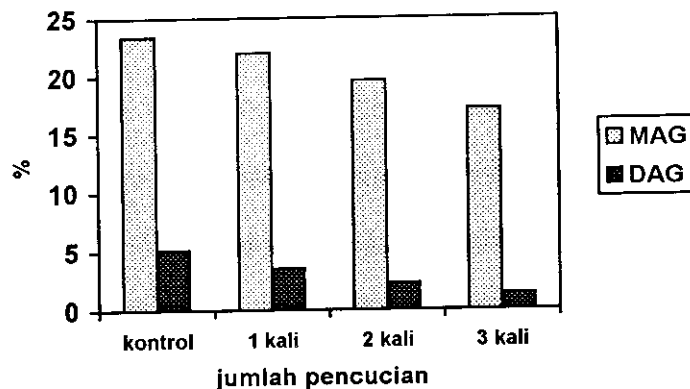


Pemurnian produk M-DAG dilakukan dengan pencucian berulang menggunakan pelarut heksana sebanyak tiga kali, dengan perbandingan produk : pelarut = 1 : 5 (w/v), suhu fraksinasi kembali 10°C dan waktu fraksinasi 2 jam.

Gambar 6. Persen kehilangan MAG, DAG, FFA dan TAG selama pencucian

Dari Gambar 6 dapat dilihat bahwa komponen yang paling banyak hilang selama pencucian menggunakan heksana adalah TAG dan DAG. Pada pencucian pertama TAG hilang sebesar 36.92%, sedangkan TAG 100% hilang pada pencucian kedua. FFA yang diharapkan dapat berkurang banyak dengan pencucian berulang, ternyata kehilangannya sampai pencucian ketiga lebih kecil daripada kehilangan DAG, yaitu 52.71% sedangkan DAG yang hilang adalah sebesar 73.72%. Kehilangan yang tinggi tersebut menyebabkan *yield* DAG yang diperoleh dan kandungan DAG pada produk semakin kecil. Menurunnya kandungan DAG, menyebabkan kandungan MAG meningkat. Namun demikian kehilangan MAG yang terjadi adalah sebesar 26.75% setelah pencucian tiga

kali. Kehilangan MAG setelah pencucian tiga kali tersebut menyebabkan *yield* MAG yang dapat diperoleh hanya 17.15% dari substrat yang direaksikan.



Pemurnian produk M-DAG dilakukan dengan pencucian berulang dengan pelarut heksana sebanyak tiga kali, dengan perbandingan produk : pelarut = 1 : 5 (w/v), suhu fraksinasi kembali 10 °C dan waktu fraksinasi 2 jam.

Gambar 7. Diagram batang persentase *yield* MAG dan DAG yang diperoleh dari 30g DALMIK dan 45.92g gliserol

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa pencucian berulang dengan kondisi tersebut tidak efektif untuk pemurnian M-DAG dari DALMIK. Dengan jumlah heksan yang digunakan dan suhu fraksinasi 10°C, ternyata endapan kristal M-DAG terbentuk kembali dalam waktu dua jam. Endapan yang terbentuk tersebut tidak terpisah dengan jelas, yaitu heksan sedikit sekali terpisah dari endapan. Kemungkinan hal inilah yang menyebabkan sebagian MAG dan DAG ikut turun bersama heksan pada saat. Karena DAG lebih bersifat non polar daripada MAG, maka kehilangan DAG lebih banyak daripada kehilangan MAG. Kondisi demikian juga yang menyebabkan kehilangan DAG lebih besar daripada kehilangan asam lemak bebas. Seharusnya pelarut heksan yang bersifat non polar, melarutkan asam lemak bebas lebih banyak daripada

DAG karena asam lemak bebas lebih bersifat non polar dibandingkan dengan DAG. Tetapi ternyata pada pencucian ini DAG lebih banyak larut daripada asam lemak bebas. Asam lemak bebas yang sudah larut dalam heksan selama pencucian, terperangkap kembali diantara kristal pada saat fraksinasi sehingga pada saat penyaringan tidak seluruhnya ikut turun bersama heksan. Hal ini mungkin dapat diperbaiki dengan menambah jumlah heksan yang digunakan, memperpanjang waktu fraksinasi kembali dan penggunaan suhu fraksinasi yang lebih rendah dari 10°C, sehingga pemisahan yang terjadi antara endapan kristal dan heksan lebih jelas dan mempermudah penyaringan.

### C. KARAKTERISASI DAN APLIKASI CAMPURAN M-DAG DARI DALMIK SEBAGAI EMULSIFAIER

Campuran M-DAG yang dipelajari karakterisasi dan aplikasinya adalah campuran M-DAG yang belum dimurnikan, dengan komposisi sebagai berikut: 75.40% MAG, 16.64% DAG, 6.65% FFA dan 1.31% TAG.

#### 1. Titik leleh

Suhu dan titik leleh emulsifaier yang digunakan harus disesuaikan dengan sistem emulsi, yaitu suhu pada waktu emulsifaier dicampurkan dan kondisi sistem emulsi sesudahnya. Emulsifaier dengan titik leleh yang tinggi tidak akan bekerja sebagai bahan *surface active* sewaktu didispersikan dalam air, hingga mencapai suhu kritis tertentu, yaitu Titik Kraft (Bergenstahl, 1997). Pada titik atau suhu ini, kelarutan emulsifaier mencapai konsentrasi yang cukup untuk membentuk formasi pada interfase.

Setiap emulsifaier mempunyai titik leleh masing-masing tergantung titik leleh asam lemak pembentuk emulsifaier (Hassenhuettl, 1997a). Semakin tinggi kandungan asam lemak tak jenuh, titik leleh emulsifaier akan semakin rendah. Selain itu panjang rantai asam lemak juga menentukan titik leleh. Semakin panjang rantai asam lemak penyusunnya, titik leleh emulsifaier akan semakin tinggi.

Metode yang digunakan untuk penentuan titik leleh pada penelitian ini adalah metode kapiler (AOAC, 1971). Titik leleh M-DAG dari DALMIK berkisar antara 42-43°C. Asam laurat yang merupakan asam lemak tertinggi dalam DALMIK memiliki titik leleh 44.2°C. Titik leleh M-DAG yang diperoleh memiliki nilai yang lebih rendah dari titik leleh asam laurat, hal ini disebabkan karena adanya asam kaprilat (C8:0) sebanyak 9.50% yang memiliki titik leleh 16.7°C dan asam kaprat (C10:0) sebanyak 7.09% yang memiliki titik leleh 31.6°C. Disamping itu dalam DALMIK yang digunakan terdapat 12.83% komponen yang bukan asam lemak yang juga mempengaruhi titik leleh emulsifaier yang dihasilkan. DALMIK sendiri berada dalam bentuk cair pada suhu ruang.

## 2. Stabilitas emulsi

Minyak dan air apabila diagitasi dengan cepat, maka akan terbentuk dispersi droplet air dalam minyak dan droplet minyak dalam air. Dan ketika agitasi dihentikan, fase tersebut mulai memisah; sejumlah kecil air akan menuju interfase, dan minyak akan naik. Emulsi pecah dengan cepat. Penambahan emulsifaier pada sistem akan mengubah akibat yang ditimbulkan setelah agitasi. Dengan penambahan emulsifaier, setelah emulsi

terjadi, salah satu fase menjadi kontinu, sedangkan fase yang lain tetap terdispersi. Fase kontinu adalah fase dimana emulsifaier dapat larut (Bailey, 1996).

Menurut O'Brien (1998), emulsifaier dapat meningkatkan stabilitas emulsi dengan cara meningkatkan pembentukan sistem dispersi untuk menurunkan tegangan permukaan diantara kedua struktur molekul.

Pengujian sifat surfaktan M-DAG dari DALMIK dilakukan dengan melihat pengaruh 0.5% emulsifaier M-DAG terhadap stabilitas emulsi o/w dan w/o. Perbandingan air : minyak yang digunakan adalah 10 : 90 sampai 70 : 30. Sebagai emulsifaier pembanding digunakan kuning telur dengan konsentrasi yang biasa digunakan adalah 4% (Holcomb *et al.*, 1991; O'Brien, 1998). Hasil pengujian stabilitas emulsi dapat dilihat pada Tabel 8.

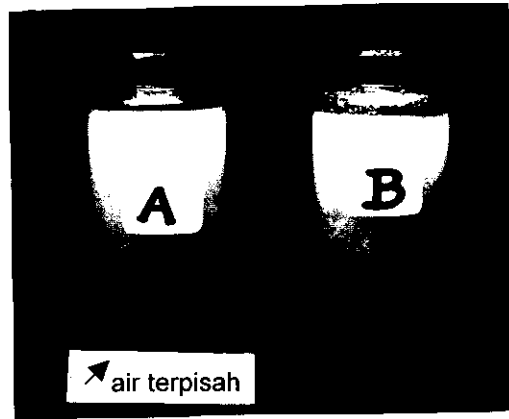
Tabel 8. Perbandingan kestabilan emulsi

Perbandingan w : o (v/v) <sup>1</sup>	Tanpa emulsifaier	Emulsifaier kuning telur 4%	Emulsifaier M-DAG 0.5%
10 : 90	Sedikit air terpisah	Stabil	Stabil
20 : 80	Terpisah	Sedikit air terpisah	Sedikit air terpisah
30 : 70	Terpisah	76% teremulsi	77% teremulsi
40 : 60	Terpisah	75% teremulsi	67% teremulsi
50 : 50	Terpisah	69% teremulsi	57% teremulsi
60 : 40	Terpisah	61% teremulsi	45% teremulsi
70 : 30	Terpisah	52% teremulsi	37% teremulsi

<sup>1</sup> = perbandingan minyak dan air dihitung berdasarkan volume/volume  
Pengamatan stabilitas emulsi dilakukan sampai 12 jam pada suhu ruang.

Dari Tabel 8 dapat diketahui bahwa sampai perbandingan 20 : 80 (minyak : air), penambahan kuning telur 4% dan M-DAG 0.5% memberikan

stabilitas yang sama terhadap emulsi. Di atas perbandingan tersebut, baik kuning telur maupun M-DAG tidak mampu menjaga kestabilan emulsi dengan efektif.



A = emulsi tanpa penambahan emulsifier  
 B = emulsi dengan penambahan 0.5% M-DAG  
 Pengamatan dilakukan terhadap emulsi yang terbentuk selama 12 jam

Gambar 8. Emulsi air dalam minyak (perbandingan air : minyak = 10 : 90 (v/v))

Sifat stabilitas emulsi M-DAG baik digunakan untuk emulsi w/o dengan perbandingan 10 : 90 sampai 20 : 80 (air : minyak). Penambahan air yang lebih banyak menyebabkan kemampuan emulsifier M-DAG dalam menstabilkan emulsi menjadi berkurang, sehingga emulsifier M-DAG tidak mampu melindungi droplet air yang terbentuk pada fase minyak/emulsifier. Ketidakstabilan emulsi tersebut disebabkan oleh koalesen droplet minyak. Koalesen ini mengindikasikan bahwa kemampuan emulsifier M-DAG untuk mencegah koalesen droplet air tidak efektif lagi.

Kinerja emulsifier yang baik pada sistem emulsi w/o sampai perbandingan 20 : 80 (air : minyak), menunjukkan bahwa M-DAG dari DALMIK merupakan emulsifier yang bersifat lipofilik, sehingga cocok untuk

digunakan pada produk-produk w/o terutama seperti mayonnaise yang mengandung 77-82% minyak.

### 3. Cake

Menurut Hasenhuettl dan Hartel (1997), emulsifier memiliki berbagai fungsi pada pembuatan *cake*, antara lain untuk fungsi aerasi, emulsifikasi dan melembutkan remah. Untuk memperoleh beberapa fungsi yang diinginkan pada pembuatan *cake*, maka pada umumnya digunakan campuran emulsifier. Emulsifier yang digunakan pada penelitian ini adalah M-DAG yang disintesis dari DALMIK dan emulsifier komersial GMS (Gliserol monostearat) sebagai pembanding. GMS komersial merupakan monoasilgliserol yang terdapat dalam bentuk sepihan atau bubuk dan asam lemak penyusunnya adalah 1% C<sub>12</sub>, 2% C<sub>14</sub>, 30% C<sub>16</sub>, 65% C<sub>18</sub> dan 2% C<sub>20</sub> (Stauffer, 1990). Banyaknya emulsifier yang biasa digunakan pada pembuatan *cake* adalah 1.0-2.5% dari total bahan. Pada penelitian ini emulsifier yang ditambahkan adalah 1% karena adanya kuning telur yang juga merupakan emulsifier alami.

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan *cake* ini adalah telur utuh, gula, tepung *cake*, margarin dan emulsifier. Fungsi telur adalah untuk membentuk warna, rasa, gizi dan pelunak. Selain itu telur diperlukan pada adonan karena fungsinya sebagai pembentuk busa (Pierce dan Walker, 1987)

Menurut Yamazaki dan Kissel (1978), jumlah gula yang tinggi dalam formula *cake* memainkan peranan penting untuk memperlambat gelatinisasi selama pemanggangan *cake* sehingga gelembung udara dapat ditingkatkan

dengan karbon dioksida dan uap air sebelum *cake* terbentuk. Dengan demikian struktur *cake* yang diperoleh memiliki aerasi dan volume yang lebih besar.

Penambahan margarin selain berfungsi untuk memperbaiki tekstur juga memberikan nilai gizi dan kelezatan rasa. Seperti *shortening*, margarin juga memiliki sifat anti busa yang dapat mengganggu integritas sel udara. Menurut Wooten (1967), adanya emulsifier dapat melindungi integritas dari sel udara.

Tabel 9. Perbandingan dan pertambahan volume\* *cake* tanpa emulsifier dan *cake* dengan penambahan emulsifier

	Ulangan 1 (cc)	Ulangan 2 (cc)	Rata-rata (cc)	Pertambahan Volume (cc)**
Kontrol	492.00	502.25	497.13	0
GMS 1%	546.27	550.08	548.18	51.05
M-DAG 1%	613.89	617.46	615.68	118.55

\*) = volume *cake* diukur dengan rumus = panjang x lebar x tinggi; (tinggi *cake* diukur pada enam titik)

\*\*) = pertambahan volume *cake* dengan penambahan emulsifier 1% dibandingkan dengan kontrol (tanpa emulsifier)

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *cake* dengan penambahan emulsifier M-DAG 1% mempunyai volume tertinggi, dengan pertambahan volume sebesar 118.55 cc dari kontrol. Sedangkan pertambahan volume pada *cake* dengan emulsifier GMS 1% hanya 51.05 cc. Dari data tersebut diketahui bahwa M-DAG dari DALMIK lebih baik untuk meningkatkan volume *cake* dibandingkan GMS, karena dengan jumlah yang sama, M-DAG memberikan pertambahan volume dua kali lebih besar daripada pertambahan volume yang dapat diberikan oleh GMS.



Pembentukan volume *cake* ini berkaitan erat dengan fungsi aerasi. Menurut Hasenhuettl dan Hartel (1997), pada emulsi *cake*, aerasi yang baik diperlukan untuk memperoleh volume yang lebih tinggi. Dengan demikian berarti M-DAG dari DALMIK memberikan sifat aerasi yang lebih baik dibandingkan dengan GMS.

Pengamatan visual dilakukan dengan membandingkan warna kulit, bentuk *cake* dan tekstur remahnya. Warna kulit *cake* tanpa penambahan emulsifier dan *cake* dengan penambahan GMS 1% hampir sama, yaitu coklat muda. Sedangkan *cake* dengan penambahan M-DAG 1% kulitnya lebih gelap (Gambar 9).

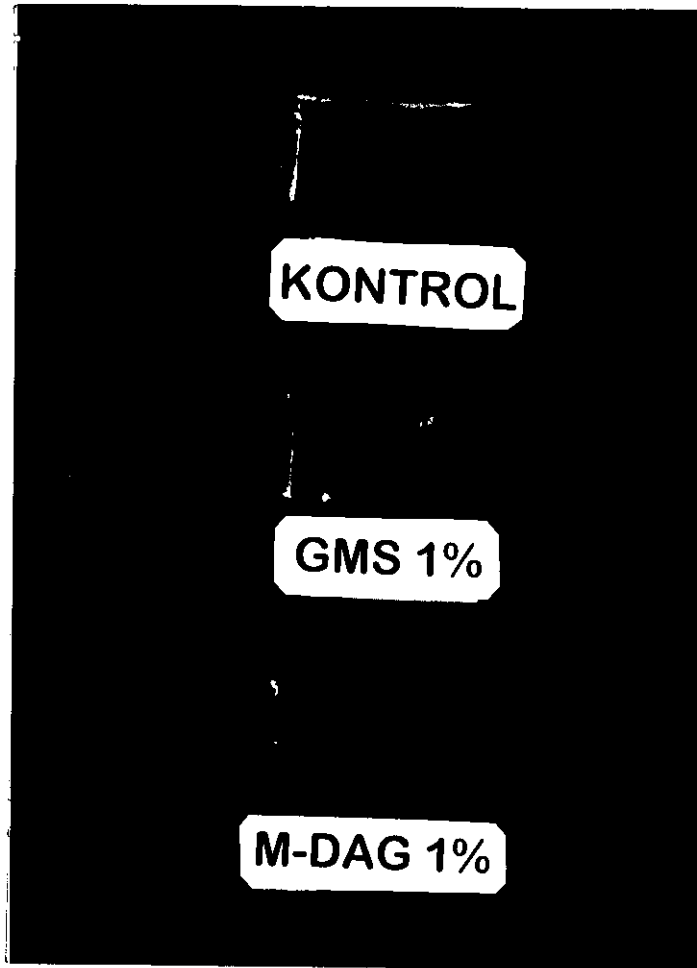
Bentuk *cake* dengan penambahan M-DAG 1% memiliki bentuk yang tidak bagus. Tinggi *cake* sisi kanan berbeda dengan tinggi *cake* sisi kiri, dan pada bagian yang lebih rendah terdapat lekukan yang menunjukkan bahwa selama pemanggangan *cake* tersebut sempat mengembang akan tetapi mengalami penurunan kembali. Penurunan volume *cake* selama pemanggangan tentunya mempengaruhi bentuk permukaan *cake*, sehingga *cake* dengan penambahan M-DAG 1% memiliki permukaan yang lebih berkerut dibandingkan dengan kedua *cake* lainnya. Hal ini berkaitan dengan kestabilan aerasi yang terbentuk. Sehingga meskipun *cake* dengan penambahan M-DAG 1% memiliki volume yang lebih besar daripada *cake* dengan penambahan GMS 1%, tetapi kestabilan aerasi yang diberikan GMS lebih baik daripada M-DAG 1% karena *cake* dengan penambahan GMS 1% memiliki bentuk yang lebih baik (Gambar 10).

Kelembutan remah ditentukan oleh retensi kelembaban, aktivitas *shortening* dan *starch complexing* (Hasenhuettl dan Hartel, 1997). Menurut

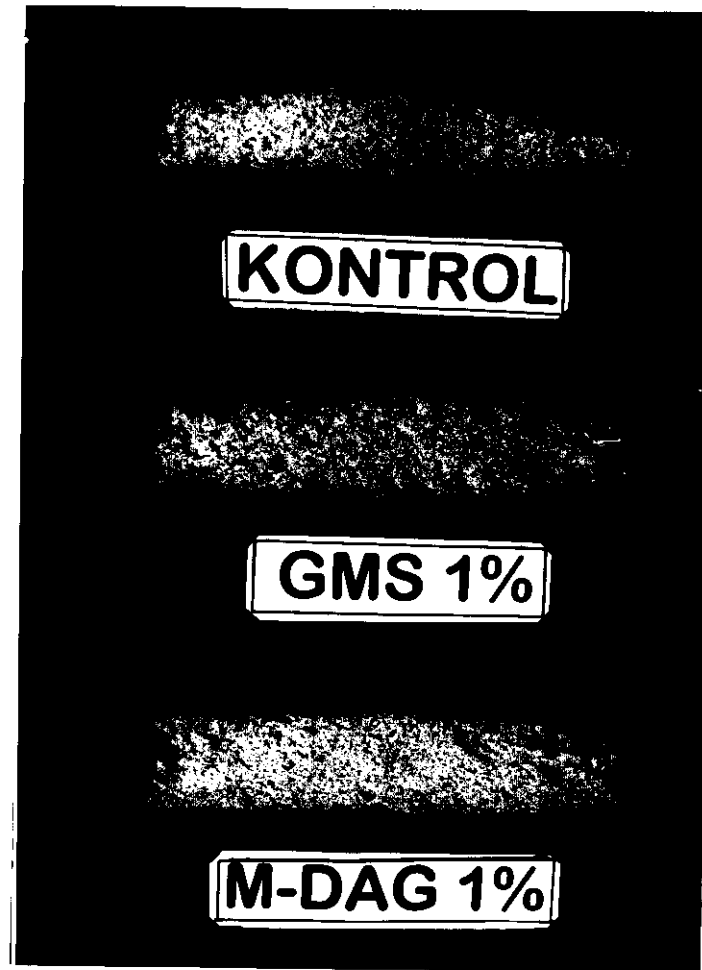
Bailey (1992), pada pemanggangan terjadi gelatinisasi pati pada suhu 60-65°C. Amilosa (polimer linier dengan berat molekul 100-200kDa) sebagian larut pada matrik cairan dalam adonan. Sedangkan amilopektin yang merupakan struktur bercabang dengan berat molekul 10-40 MDa, berada dalam granula pati sebagai bagian mikrokristal yang berhubungan dengan bagian *amorphous* dari molekul. Interaksi antara emulsifaier dan amilosa mengurangi terjadinya gelatinisasi pati, sehingga memperbaiki sifat keempukan *cake* (Krog *et al.*, 1985).

Roti yang baru keluar dari oven pada umumnya mempunyai tekstur remah yang sangat halus, tetapi saat pendinginan amilosa mulai mengkristal dan setelah 24 jam amilosa tersebut mengkristal semuanya. Peristiwa ini disebut retrogradasi. Emulsifaier membentuk kompleks dengan amilosa, sehingga memperlambat retrogradasi tersebut.

Remah dari ketiga jenis *cake* tersebut memiliki kelembutan yang hampir tidak berbeda sampai enam hari. Hal ini disebabkan karena telur yang digunakan adalah telur utuh, di mana kuning telur mengandung lipoprotein yang berfungsi sebagai emulsifaier alami. Dengan demikian pengaruh M-DAG dan GMS terhadap tekstur remahnya tidak dapat dilihat dengan jelas.



Gambar 9. Perbandingan kulit *cake* tanpa emulsifier; dan dengan penambahan 1% emulsifier GMS dan M-DAG dari DALMIK



Gambar 10. Perbandingan bentuk *cake* tanpa emulsifier; dan dengan penambahan 1% emulsifier GMS dan M-DAG dari DALMIK

#### 4. Icing sugar

*Icing sugar* dibuat dari *shortening* dengan menginkorporasikan udara ke dalamnya dan membentuk busa (*foam*). Fungsi emulsifaier pada pembuatan *icing sugar* adalah sebagai *destabilizing agent* atau *deemulsifier* untuk meningkatkan aerasi. Menurut Andreasen (1973) di dalam Dziezak (1988), emulsifaier menyebabkan globula lemak beraglomerasi selama tahap pengocokan dan membentuk jaringan dalam fase kontinyu air di antara gelembung udara. Partikel-partikel lemak akan mengimobilisasi air, melapisi partikel udara dan mencegah koalesen dari gelembung udara sehingga menyebabkan peningkatan kekakuan busa (*foam stiffness*). Persentase emulsifaier yang biasa digunakan pada pembuatan *icing sugar* adalah 1 sampai 4% dari berat *shortening* (Kamel, 1991).

Emulsifaier M-DAG yang tersusun dari asam lemak jenuh maupun asam lemak tidak jenuh sangat baik digunakan sebagai bahan pengaerasi. Emulsifaier M-DAG berfungsi untuk mempercepat laju pengocokan dan menyebabkan distribusi udara yang lebih baik.

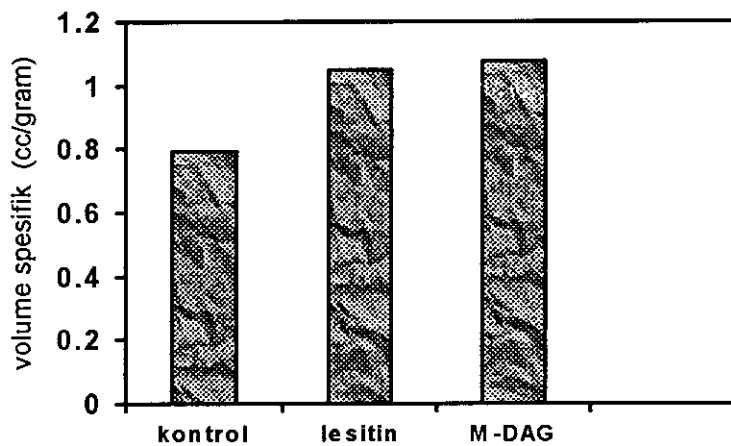
Sistem emulsifaier ini memperbaiki sifat mempertahankan udara pada suspensi semi padat air dalam lemak; sehingga *icing sugar* secara visual menjadi lebih baik dan stabil selama beberapa hari.



Tabel 9. Perbandingan volume *icing sugar*

	Kontrol (cc/gram)	Lesitin (cc/gram)	M-DAG (cc/gram)
Ulangan 1	0.79	1.05	1.09
Ulangan 2	0.80	1.05	1.07
Rata-rata	0.80	1.05	1.08

Jumlah emulsifier yang ditambahkan adalah 4% dari berat *shortening*; Pengembangan volume *icing sugar* diketahui dari nilai volume spesifiknya (cc/gram); pengukuran nilai volume spesifik dilakukan dengan menimbang *icing sugar* pada volume 20 cc.



Jumlah emulsifier yang ditambahkan adalah 4% dari berat *shortening*; Pengembangan volume *icing sugar* diketahui dari nilai volume spesifik (cc/gram); Pengukuran nilai volume spesifik dilakukan dengan menimbang *icing sugar* pada volume 20 cc.

Gambar 11. Perbandingan volume *icing sugar* tanpa penambahan emulsifier, dengan penambahan GMS dan M-DAG

Menurut Keeney (1982), campuran M-DAG merupakan emulsifier yang baik untuk membantu pembentukan awal busa melalui aglomerasi droplet minyak pada interfase udara/air.

M-DAG dari DALMIK memberikan sifat aerasi *icing sugar* sebaik lesitin yang merupakan emulsifier yang umum ditambahkan pada

pembuatan *icing sugar*. Secara visual, *icing sugar* dengan penambahan M-DAG memiliki penampakan yang lebih baik karena berwarna lebih putih dan halus.

### 5. *Starch complexing*

Menurut Hasenhuettl dan Hartel (1997), emulsifaier secara tidak langsung dapat memodifikasi sifat dari komponen utama dalam makanan seperti karbohidrat, protein atau lemak.

Karbohidrat berdasarkan derajat polimerisasinya, dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori: monosakarida dan disakarida, oligosakarida dan polisakarida. Polisakarida lebih lanjut dibagi menjadi fraksi pati dan bukan pati. Pati dapat membentuk kompleks dengan emulsifaier yaitu dengan mengubah karakteristik yang diberikan pati dalam makanan.

Pati terdiri dari molekul yang linier (amilosa) dan molekul yang bercabang (amilopektin). Monoasilgliserol berikatan pada tingkat yang sangat rendah dengan amilopektin dibandingkan dengan amilosa (Hahn dan Hood, 1987; Legendijk dan Pennings, 1970; Twillman dan White, 1988). Amilosa sendiri berada dalam larutan sebagai *random coil*. Dengan kehadiran pengkompleks, maka akan menyebabkan amilosa memiliki konfigurasi heliks (Neszmelyi *et al.*, 1987).

Bagian n-alkil dari emulsifaier seperti gliserol monostearat yang membentuk heliks pada pati, merupakan fenomena bahwa GMS memiliki kemampuan untuk menghambat fraksinasi pati kembali pada remah roti dan memperlambat proses staling (Bailey, 1996). Menurut Hasenhuettl dan Hartel (1997) emulsifaier *starch complexing* ini berfungsi untuk memperlambat



pengerasan atau staling pada roti, mencegah kelengketan pada *instant mashed potatoes*, dan mengontrol tekstur pada produk ekstrusi (Hasenhuettl dan Hartel, 1997).

Lagendijk dan Pennings (1987), menguji *starch complexing* dengan memanaskan amilosa atau amilopektin dengan monoasilgliserol berlebih, kemudian didinginkan dan mengukur jumlah monoasilgliserol yang tidak membentuk kompleks. Hasil yang diperoleh menunjukkan pengaruh ketidakjenuhan pada rantai alkil; ikatan rangkap cis membuat rantai alkil lebih sulit membentuk kompleks dengan heliks amilosa.

Batres dan White (1986) mereaksikan monoasilgliserol dengan amilopektin pada suhu 60°C dan mengisolasi endapan yang dipisahkan setelah pendinginan, kemudian menganalisa kompleks tersebut. Meskipun prosedur yang digunakan berbeda dengan Lagendijk dan Pennings, akan tetapi hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda.

Krog (1971) mereaksikan amilosa berlebih dengan jenis surfaktan tertentu pada suhu 60°C, kemudian memisahkan kompleks endapan yang terjadi setelah pendinginan, dan mengukur jumlah amilosa yang tidak terkompleks yang berada pada supernatan.

Menurut Wong (1989), monoasilgliserol dapat berikatan kompleks dengan amilosa membentuk struktur heliks. Kompleks ini tidak larut dalam air dan akan membentuk endapan yang tidak larut, sehingga dengan adanya kompleks ini pengeluaran amilosa dari granula pati saat pemanasan dapat dihambat.

Pada penelitian ini, kemampuan emulsifaier M-DAG dalam membentuk kompleks dengan pati dilakukan dengan memanaskan pati jagung pada suhu

70°C dan penambahan emulsifaier 5% dari berat pati jagung. Pemanasan dilakukan pada suhu 70°C karena menurut Winarno (1992), pati jagung memiliki suhu gelatinisasi 62 - 70°C.

Penghambatan pengeluaran amilosa dari granula pati akibat pembentukan kompleks dengan emulsifaier ini menyebabkan berkurangnya amilosa yang terdapat pada supernatan. Pengukuran dilakukan terhadap amilosa yang terdapat pada supernatan, dengan menambahkan larutan iodin 1% kemudian dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm.

Larutan pati tanpa penambahan emulsifaier memberikan warna biru tua, sedangkan pati dengan penambahan emulsifaier GMS maupun M-DAG dari DALMIK memberikan warna coklat sedikit biru yang menunjukkan jumlah amilosa yang kecil. Dari hasil pengukuran diperoleh data seperti pada Tabel 11.

Tabel 11. Jumlah pati kompleks yang terbentuk dengan penambahan emulsifaier GMS dan M-DAG dari DALMIK

Emulsifaier yang ditambahkan	Amilosa yang tidak terkompleks (%)	Amilosa yang terkompleks (%)
GMS	17.63	82.37
M-DAG	16.65	83.35

Keterangan :

Amilosa yang diukur adalah amilosa yang dilepaskan pati pada suhu 70°C selama 25 menit

Tabel 11 menunjukkan bahwa kemampuan membentuk kompleks dengan pati M-DAG dari DALMIK sebaik GMS. Asam lemak jenuh yang memiliki panjang rantai semakin besar akan semakin efektif dalam mengkompleks molekul amilosa pati. Sedangkan asam lemak tidak jenuh



mempunyai ikatan rangkap pada rantai menyebabkan adanya lekukan (*bend*) pada bentuk rantai, sehingga tidak efektif dalam membentuk formasi kompleks dalam molekul pati.

Menurut Krog (1971), pembentukan kompleks dengan amilosa yang lebih rendah pada ester stearat dibandingkan dengan ester palmitat yang memiliki rantai lebih pendek disebabkan karena ketidakmampuannya untuk membentuk mesofase yang dapat meningkatkan interaksi rantai alkil dengan heliks amilosa.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. KESIMPULAN

Metode pencucian berulang dengan heksan yang dilakukan pada penelitian ini tidak efektif untuk menghilangkan bau tengik pada produk M-DAG. Hal ini disebabkan oleh perbedaan yang kecil antara kandungan asam lemak bebas pada produk sebelum dicuci dan produk hasil pencucian. Kandungan asam lemak bebas pada produk yang belum dicuci adalah 6.65%, sedangkan kandungan asam lemak bebas terkecil terdapat pada produk hasil pencucian dua dan tiga kali, yaitu 5.01%. Di samping itu, pencucian berulang tiga kali ini mengakibatkan kehilangan MAG yang cukup besar yaitu 26.75% dan kehilangan DAG yang sangat tinggi yaitu 73.72% dari produk awal sebelum dimurnikan. Akan tetapi pencucian ini dapat menghilangkan TAG 100% setelah pencucian kedua.

Emulsifier M-DAG dari DALMIK memiliki titik leleh 42-43°C. Dari pengujian emulsifier M-DAG pada stabilitas emulsi, ternyata M-DAG dari DALMIK hanya stabil pada emulsi tipe w/o. Penambahan M-DAG dari DALMIK mampu meningkatkan volume *cake* lebih besar daripada GMS komersial. Sedangkan pada pembuatan *icing sugar*, M-DAG dari DALMIK memiliki fungsi aerasi sebaik lesitin komersial, tetapi penampakan *icing sugar* dengan penambahan M-DAG dari DALMIK lebih putih dan halus dibandingkan *icing sugar* dengan penambahan lesitin. Emulsifier M-DAG juga memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan pati yang sama baiknya dengan GMS.

## B. SARAN

Saran yang dapat diberikan adalah :

1. perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari metode pemurnian yang tepat sehingga bau yang disebabkan asam laurat dapat berkurang.
2. perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji kemampuan MAG dari DALMIK sebagai senyawa antimikroba dan hubungannya dengan umur simpan.

## DAFTAR PUSTAKA

Akoh, C.C. 1992. Emulsification Properties of Polyesters and Sucrose Ester Blends I: Carbohydrate Fatty Acid Polyesters. JAOCS Vol 69 No 1.

AOAC. 1971. Methods of Analysis of The Association of Official Agricultural Chemist, Washington DC.

AOCS. 1990. Sampling Analysis of Commercial Fats and Oil.

APCC. 1990. Coconut Statistical Yearbook 1988, Asia and Pasific Coconut Community, Jakarta.

Bailey, A.E. 1996. Bailey's Industrial Oil and Food Product. A Wiley Interscience Publ. John Wiley and Sons (ed.), Inc. New York.

Bergenstahl, B. 1997. Physicochemical Aspects of an Emulsifier Functionality. Di dalam : Food Emulsifiers and Their Applications. Hasenhuettl, G.L. dan R.W. Hartel (ed.). Chapman and Hall, New York.

Bornscheuer, U.T. 1995. Lipase-Catalyzed Synthesis of Monoacylglycerols. Enzyme and Microbial Technology Vol 17 : 578-586.

Dziezak, J.D (ed.). 1988. Emulsifaier: The Interfacial Key to Emulsion Stability. Journal of Food Technology.

Elizabeth dan Boyle. 1997. Monoglycerides in Food System : Current and Future Uses. Journal of Food Technology. Vol 51 No 8.

Engel, K.H. 1992. Lipases : Useful Biocatalysis for Enantioselective Reaction of Chiral Flavor Compound. Di dalam : Flavor Precursors. Roy Teranishi, Gary R, Takeoka dan Mathias Gunter (ed.), 21-31, American Chemical Society, Washington D.C.

Griffin, W.C. dan Lynch, M.J. 1972. Surface active agents. Di dalam : Emulsifiers: The Interfacial Key to Emulsion Stability. Dziezak, J.D (ed.). Journal of Food Technology.

Hasenhuettl, G.L. dan Hartel, R.W. 1997. Food Emulsifaier and Their Applications. Chapman and Hall, New York.

Holcomb, D.N., L.D. Ford dan R.W. Martin, JR. 1991. Dressing and Sauces. Di dalam : Food Emulsions. K. Larson dan S.E. Friberg (ed.). Marcel Dekker Inc., New York.

Huang, L.J. dan P. White. 1993. Wax Corn Starch: Monoglyceride Interaction In a Model System. Cereal Chem. 70(1):42-47.

- Kamel, B.S. dan C.E. Stauffer. 1993. *Advances in Baking Technology*. Chapman and Hall, New York.
- Kamel, B.S. 1994. *Creaming, Emulsions, and Emulsifiers*. Di dalam : *The Science of Cookie and Cracker Production*. Hamed Faridi. Chapman and Hall, United States of America.
- Kamel, B.S. 1991. *Emulsifiers*. Di dalam : *Food Additives User's Handbook*. J. Smith (ed.). Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK.
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Kitu, N. E. 1999. *Sintesis Mono- dan Diasilgliserol dari Destilat Asam Lemak Minyak Kelapa Melalui Reaksi Esterifikasi Dengan Katalis Lipase *Rhizomucor miehei**.
- Krog, N.J. 1990. *Food Emulsifier and Their Chemical and Physical Properties*. Di dalam : *Food Emulsions*. K. Larsson dan S.F. Friberg (ed.). Marcel Dekker, New York.
- Krog, N. 1977. *Functions of emulsifiers in food systems*. *JAOCS* Vol 54(3) : 124.
- Lowry, R.R. dan Tinsley, I.J. 1975. *Rapid Colorimetric Determination of Free Fatty Acids*. *JACOS* Vol 15.
- Mappiratu, 1999. *Penggunaan Biokatalis Dedak Padi Dalam Biosintesis Antimikroba Monoasilgliserol dari Minyak Kelapa*. Disertasi Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Nash, N.H. dan Brickman, L.M. 1972. *Food Emulsifiers-Science and Art*. Di dalam : *Emulsifier: The Interfacial Key to Emulsion Stability*. Dziezak, J.D (ed.). *Journal of Food Technology*.
- Novo Industri A/S. 1989. *Enzymatic Interesterification and Esterification*.
- O'Brien, R.D. 1998. *Fats and Oils : Formulating and Processing for Applications*. Technomic Publ. Co. Inc. Lancaster. Basel.
- Pierce, M.M. dan C.E. Walker. 1987. *Addition of Sucrose Fatty Acid Ester Emulsifiers to Sponge Cakes*. *Cereal Chem*. 64(4):222-225.
- Predicasts. 1984. *Surface active agents*. Di dalam : *Emulsifier: The Interfacial Key to Emulsion Stability*. Dziezak, J.D (ed.). *Journal of Food Technology*.
- Ronsivalli, I.J. dan Viera, E.R. 1990. *Elementary Food Science, An Avi Book* Published by Van Nostrand Reinhold, New York.

- Sonntag, N.O.V. 1982. Composition Characteristics of Individual Fats and Oils. Di dalam : Bailey's Industrial Oil and Fat Product. D. Swern, John Wiley (ed). Inc., New York.
- Stauffer, C.E. 1990. Functional Additives For Bakery Foods. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Stevenson, D.E., A.S. Roger dan H.F. Richard. 1993. Glycerolysis of Tallow with Immobilized Lipase. *Biotechnology Vol 15(10):1043-1048.*
- Twillman, T.J. dan White, P.J. 1988. Influence of Monoacylglycerol on the Textural Shelf Life and Dough Rheology of Corn Tortilas. *Cereal Chem 65(3):253-257.*
- Vasel, B., H.J. Hecht, R.D. Schmid dan D. Schomburg. 1993. 3D-Structures of the Lipase from *Rhizomucor miehei* at Different Temperatures and Computer Modelling of a Complex of the Lipase with Tri-laurylglycerol. *J. Biotechnology Vol 28:99-115.*
- Wong, D.W.S. 1989. Mechanism and Theory In Food Chemistry. An AVI Book, New York.
- Wooten, J.C. , *et al.* 1967. The role of emulsifiers in the incorporation of air into layer cake batter systems, *Cer. Chem.*, 44, 333. Di dalam : Food Emulsifier and Their Applications. G.L. Hasenhuettl dan R.W. Hartel. Chapman and Hall, New York.
- Winarno, F.G. 1992. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia, Jakarta.
- Yamazaki, W.T. dan Kissel, L.T. 1978. Cake flour and baking research: A review. Di dalam : Interaction Between Starches, Sugars, and Emulsifiers in High-Ratio Cake Model Systems. Kim C.S. dan C.E. Walker. *Cereal Chem.* 69(2)206-212.
- Yang, B. dan J. Chen. 1994. Gel matrix influence on hydrolysis of triglycerides by immobilized lipase. *J. Food Sci.* 59(2) 424-427.
- Yang, B., Harper J., Parkin, K.L. dan J. Chen., 1993. Screening of Commercial Lipase for Production of Mono and Diacylglycerol from Butteroil by Enzymatic Glycerolysis. *J. Food Science.*

## Lampiran 1. Komposisi asam lemak dalam DALMIK

Asam Lemak	BM	Persentase	Jumlah
Kaprilat (8:0)	144	9.5033	13.6848
Kaprat (10:0)	172	7.0937	12.2012
Laurat (12:0)	200	49.4216	98.8432
Miristat (14:0)	228	18.6556	42.5348
Palmitat (16:0)	256	8.4836	21.7180
Stearat (18:0)	284	1.7998	5.1114
Oleat (18:1)	282	5.0423	14.2193
	BM		208.3127

## Lampiran 2. Penentuan persentase jumlah asam lemak bebas dalam DALMIK

Konsentrasi standar (mM)	Absorbansi
40	0.770
60	1.014
80	1.283
100	1.512
<b>Sampel DALMIK</b> Pengenceran 100 X	U1 = 0.792 U2 = 0.795

Persamaan kurva standar yang diperoleh :  $Y = 0.0125x + 0.2715$

Perhitungan :

Absorbansi rata-rata =  $(U1 + U2) / 2 = 0.7935$

Dari persamaan kurva standar diperoleh konsentrasi = 41.8437mM

% asam lemak bebas = 41.8437 mmol / liter

=  $(41.8437 \times \text{BM Asam lemak}) \text{ mg / liter}$

=  $(41.8437 \times 208.3127) \text{ mg / liter}$

= 8716.57 mg / liter

= 8.71657gram / liter x Faktor pengenceran

= 8.71657 gram / liter x 100

= 871.657 gram / 1000 ml

=  $(87.1657\text{gram} / 100 \text{ ml}) \times 100\%$

= 87.1657 %

### Lampiran 3. Penentuan perbandingan jumlah sampel DALMIK dengan gliserol untuk reaksi esterifikasi

$$\begin{aligned}
 \text{BM TAG} &= \text{BM gliserol} + (3 \times \text{BM DALMIK}) - (3 \times \text{BM H}_2\text{O}) \\
 &= 92 + (3 \times 208.3127) - (3 \times 18) \\
 &= 662.9381
 \end{aligned}$$

Rasio molar gliserol dan DALMIK adalah 3.8 : 1

Perhitungan :

10 gram DALMIK dengan kadar asam lemak bebas (FFA) 87.1657% berarti dalam 10 gram DALMIK terdapat 8.71657 gram asam lemak bebas dan 1.28343 gram TAG. Karena rasio mol yang digunakan 3.8 : 1 maka jumlah pengambilan gliserol adalah 3.8 kali molekul asam lemak bebas dan 3.8 kali molekul triasil gliserol. Kemudian keduanya dikonversi dengan berat molekul gliserol (= 92 g / mol) dan hasilnya dijumlahkan.

$$\begin{aligned}
 \text{Gliserol untuk FFA} &= 3.8 \times (8.71657 \text{ gram} : 208.3127 \text{ g / mol}) \times 92 \text{ g / mol} \\
 &= 14.6286
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Gliserol untuk TAG} &= 3.8 \times (1.28343 \text{ gram} : 662.9381 \text{ g / mol}) \times 92 \text{ g / mol} \\
 &= 0.6768
 \end{aligned}$$

$$\text{Gliserol total} = 15.3054$$

Dengan demikian jumlah gliserol yang dibutuhkan adalah 15.3054 gram untuk 10 gram DALMIK.





Lampiran 4. Rendemen campuran M-DAG yang diperoleh sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Rendemen (%)
Kontrol	31.0554
Pencucian 1 kali	27.4476
Pencucian 2 kali	23.0575
Pencucian 3 kali	19.4779

Data rendemen adalah rendemen rata-rata dari dua kali ulangan  
 Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan  
 Rendemen dihitung dari jumlah substrat yang bereaksi (30g DALMIK dan 45.9162g gliserol);

Lampiran 5. Kandungan fraksi MAG pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	MAG (%)
Kontrol	75.3965
Pencucian 1 kali	80.3581
Pencucian 2 kali	84.9999
Pencucian 3 kali	88.0200

Data kandungan fraksi MAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan  
 Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan

Lampiran 6. Kandungan fraksi DAG pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	DAG (%)
Kontrol	16.6400
Pencucian 1 kali	13.0893
Pencucian 2 kali	9.9878
Pencucian 3 kali	6.9361

Data kandungan fraksi DAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan  
 Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan

Lampiran 7. Kandungan fraksi FFA pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	FFA (%)
Kontrol	6.6531
Pencucian 1 kali	5.6195
Pencucian 2 kali	5.0123
Pencucian 3 kali	5.0139

Data kandungan fraksi FFA adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan  
Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan

Lampiran 8. Kandungan fraksi TAG pada campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	TAG (%)
Kontrol	1.3104
Pencucian 1 kali	0.7338
Pencucian 2 kali	0
Pencucian 3 kali	0

Data kandungan fraksi TAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan  
Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan

Lampiran 9. Persentase *yield* MAG yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	<i>Yield</i> MAG (%)
Kontrol	23.4158
Pencucian 1 kali	22.0579
Pencucian 2 kali	19.6006
Pencucian 3 kali	17.1457

Data *yield* MAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan  
Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan  
Persentase *yield* MAG dihitung dari jumlah substrat yang bereaksi (30g DALMIK dan 45.9162g gliserol);

Lampiran 10. Persentase *yield* DAG yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Yield DAG (%)
Kontrol	5.1664
Pencucian 1 kali	3.5916
Pencucian 2 kali	2.3025
Pencucian 3 kali	1.3556

Data *yield* DAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan  
 Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan  
 Persentase *yield* DAG dihitung dari jumlah substrat yang bereaksi (30g DALMIK dan 45.9162g gliserol);

Lampiran 11. Persentase *yield* FFA yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Yield FFA (%)
Kontrol	2.0650
Pencucian 1 kali	1.5416
Pencucian 2 kali	1.1544
Pencucian 3 kali	0.9766

Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan  
 Persentase *yield* FFA dihitung dari jumlah substrat yang bereaksi (30g DALMIK dan 45.9162g gliserol);

Lampiran 12. Persentase *yield* TAG yang diperoleh dari campuran M-DAG sebelum dan sesudah pencucian berulang dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Yield TAG (%)
Kontrol	0.4080
Pencucian 1 kali	0.2564
Pencucian 2 kali	0
Pencucian 3 kali	0

Data *yield* TAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan  
 Kontrol = Campuran M-DAG yang belum dicuci dengan heksan  
 Persentase *yield* FFA dihitung dari jumlah substrat yang bereaksi (30g DALMIK dan 45.9162g gliserol);

Lampiran 13. Persentase kehilangan MAG yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Kehilangan MAG (%)
Pencucian 1 kali	5.7642
Pencucian 2 kali	16.2748
Pencucian 3 kali	26.7497

Data persentase kehilangan MAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan

Lampiran 14. Persentase kehilangan DAG yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Kehilangan DAG (%)
Pencucian 1 kali	30.4395
Pencucian 2 kali	55.4217
Pencucian 3 kali	73.7214

Data persentase kehilangan DAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan

Lampiran 15. Persentase kehilangan FFA yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Kehilangan FFA (%)
Pencucian 1 kali	25.3179
Pencucian 2 kali	44.0605
Pencucian 3 kali	52.7098

Data persentase kehilangan FFA adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan



Lampiran 16. Persentase kehilangan TAG yang terjadi setelah pencucian berulang campuran M-DAG dengan pelarut heksan

Jumlah pencucian	Kehilangan TAG (%)
Pencucian 1 kali	36.9178
Pencucian 2 kali	100
Pencucian 3 kali	100

Data persentase kehilangan DAG adalah persentase rata-rata dari dua kali ulangan

Lampiran 17. Pengukuran jumlah amilosa yang tidak terkompleks dengan emulsifier

Konsentrasi amilosa yang dibebaskan	absorbansi
1.0000	1.352
0.5000	0.576
0.2500	0.342
0.1250	0.182

Persamaan :  $y = 1.333x - 0.012$

	Absorbansi	Konsentrasi
GMS	(1) 0.225	(1) 0.1778
	(2) 0.221	(2) 0.1748
M-DAG	(1) 0.208	(1) 0.1650
	(2) 0.212	(2) 0.1680

Jumlah pati kompleks yang terbentuk dengan penambahan emulsifier GMS dan M-DAG dari DALMIK

Emulsifier yang ditambahkan	Amilosa yang tidak terkompleks (%)	Amilosa yang terkompleks (%)
GMS	(1) 17.78	(1) 82.22
	(2) 17.48	(2) 82.52
	Rata-rata = 17.63	Rata-rata = 82.37
M-DAG	(1) 16.50	(1) 83.50
	(2) 16.80	(2) 83.20
	Rata-rata = 16.65	Rata-rata = 83.35

Amilosa yang diukur adalah amilosa yang dilepaskan pati pada suhu 70°C selama 25 menit