

INTERESTERIFIKASI ENZIMATIS PALM STEARIN DAN MINYAK IKAN LEMURU UNTUK MEMBUAT LEMAK MARGARIN

[Enzymatic Interesterification of Palm Stearin and Sardine oil to Produce Margarine-fat]

Pudji Hastuti ¹⁾, dan Tyas Utami ¹⁾

¹⁾Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada-Yogyakarta, Jl. Sosio Yustisia Bulaksumur Yogyakarta 55281

Diterima 23 September 2002/Disetujui 21 April 2003

ABSTRACT

*Enzymatic Interesterification of Palm Stearin (PS) and Sardine Oil (SO) as source of Eicosapentaenoic Acid (EPA) and Docosahexaenoic Acid (DHA) have been of interest to modify the physical properties of the triglyceride. An attempt to enzymatic-restructure PS and SO to form Structured Lipid (SL) which is suitable for margarine was investigated using immobilized lipase from *Rhizomucor miehei* and that from *Candida antarctica*.*

The effect of reaction time, course, ratio of PS/SO and ratio of enzyme/substrate were studied in the present study. At the end of interesterification, the enzyme was filtered from the reaction mixture through a filter paper. The Solid Fat Index (SFI) was determined by dilatometry. The Slip Melting Point (SMP) was determined by capillary tube method.

*Both of interesterification catalyzed by immobilized sn 1,3 specific lipase from *R. miehei*, and non specific lipase from *C. antarctica* were found to decrease the SFI value at 10, 21.1 and 33.3°C. The SMP value was decrease from 58-50°C to 37-39°C. The change of these parameters were slightly faster in the reaction which catalyzed by lipase from *R. miehei* then lipase from *C. antarctica*. The more the utilization of the enzyme the faster the change were occurred, especially the increase of enzyme utilization from 2.5% to 5%, which decrease the SFI value at 33.3°C. The decrease of the PS/SO ratio resulted in the decrease of SFI and SMP values. It was found that the most suitable SFI and SMP value for margarine fat is the SL formed by carrying out the enzymatic-interesterification of PS/SO with the ratio of 40/60 using enzyme 2.5% of the total fat, for 8 hours at 60°C.*

Key words : Palm stearin, sardine oil, enzymatic-interesterification, solid fat index and slip melting point

PENDAHULUAN

Margarin merupakan emulsi air dalam minyak, dengan minyak sekurang-kurangnya 80% berat sebagai fase kontinyu. Sifat penting lemak untuk pembuatan margarin, spread dan shortening adalah yang berhubungan dengan sifat pelelehannya, yakni angka yodium, solid fat index (SFI) atau solid fat content (SFC) dan slip melting point (SMP). Untuk keperluan pengendalian mutu secara praktis di pabrik lazim ditentukan SFI atau SFC nya. Margarin mempunyai nilai Solid fat content (SFC) 30-40% pada suhu 5°C agar daya oles (spreadability) yang baik pada suhu refrigerator, SFC 10-20% pada suhu 10°C untuk mendapatkan ketahanan yang baik pada suhu kamar, serta SFC kurang dari 3,5% pada suhu 35°C agar pelelehan di mulut (pada suhu tubuh) sempurna (Gunstone, 1996). Hasil penelitian List, et al., (2000) menunjukkan bahwa margarin dan spread komersial mempunyai SFI 10°C berkisar antara 8,3 - 13,9 (untuk bentuk tub) dan 13,7 - 24,9 (untuk bentuk stick); pada 21,1°C berkisar antara 4,8 - 8,6 (untuk bentuk tub) dan 9,0 - 13,0 (untuk bentuk stick); pada suhu 33,3°C berkisar antara 0,7 - 2,5 (untuk bentuk tub) dan 1,7 - 3,2 (untuk bentuk stick). Untuk mendapatkan margarin seperti itu diperlukan lemak margarin yang mempunyai titik leleh

tinggi dan yang rendah. Untuk menyediakan lemak margarin yang bertitik leleh tinggi sering diperoleh melalui hidrogenasi partial atau interesterifikasi minyak. Proses hidrogenasi dapat memberikan hasil ikutan isomer bentuk trans. Lemak trans ini mempunyai andil dalam resiko beberapa penyakit antara lain jantung koroner (Seriburi dan Akoh, 1998 a,b,c). Untuk menghindari terbentuknya lemak trans dapat dilakukan interesterifikasi. Interesterifikasi dapat dilakukan secara kimiawi dengan katalis kimia dan pada suhu tinggi, namun hal ini dapat berakibat turunnya kualitas minyak. Untuk menghindari terjadinya kerusakan minyak akibat suhu tinggi dilakukan interesterifikasi enzimatis.

Proses interesterifikasi memberi peluang untuk memodifikasi sifat fisik dan potensi nilai gizi lemak/minyak. Penggantian sebagian asam lemak dengan asam lemak lain yang mempunyai titik leleh lebih rendah dan mempunyai nilai gizi yang tinggi, seperti asam lemak dari minyak ikan akan menaikkan nilai komersial palm stearin. Salah satu cara melalui pendekatan interesterifikasi enzimatis, yang melibatkan pertukaran posisi asam lemak dan molekul trigliserida (Lai, et al., 1998). Kelebihan interesterifikasi enzimatis yang lain adalah kondisi prosesnya lebih mild (ringan), kerusakan asam lemak tidak

jenuh, dapat ditekan, serta petukaran gugus asli dapat dikendalikan. Penggunaan enzim lipase amobil akan memberi keuntungan dapat digunakan berulang, sehingga lebih hemat. Lipase spesifik sn-1,3 maupun non-spesifik dapat digunakan dalam restrukturisasi trigliserida. Sistem reaksi interesterifikasi enzimatik melibatkan reaktan, lipase dan sejumlah kecil air dan reaksinya terjadi pada interface. Beberapa penelitian terdahulu telah berhasil membuat lemak margarin dengan titik leleh yang sesuai untuk pembuatan margarin (Ghosh dan Bhattacharyya, 1997; Seriburi dan Akoh, 1998a; 1998b; 1998cLai, et al., 1998). Dalam penelitian-penelitian tersebut terungkap, bahwa untuk memperoleh lemak terstruktur baru yang sesuai SFC nya untuk pembuatan margarin ternyata sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain rasio jenis lemak/minyak yang dicampur, jenis dan konsentrasi enzim atau rasio enzim/substrat (E/S) yang digunakan serta waktu reaksi. Palm stearin (PS) mempunyai SFC 50,7-60 pada 5°C, 40,0-55,2 pada 10°C dan 1,8-11,7 pada suhu 35°C (Basiron, 1996). Palm stearin ini juga mengandung senyawa-senyawa homolog dari tokoferol dan tokotrienol, yang telah diketahui berfungsi sebagai antioksidant dan memiliki aktivitas vitamin E. Lemak ini terlalu tinggi titik lelehnya untuk digunakan sebagai lemak margarin. Minyak ikan lemuru (MIL) mengandung asam lemak omega-3, EPA (eicosa pentaenoic acid) dan DHA (docosa hexaenoic acid) yang bermanfaat bagi kesehatan, terutama dalam pencegahan penyakit degeneratif. Minyak ini terlalu tinggi titik lelehnya untuk digunakan sebagai lemak margarin. Dengan interesterifikasi enzimatik campuran kedua lemak dan minyak ini diharapkan terjadi pertukaran asli dapat diperoleh lemak baru yang mempunyai titik leleh yang sesuai untuk lemak margarin. Oleh karena itu pada penelitian ini dikaji interesterifikasi PS dengan MI. PS sebagai sumber lemak ber titik leleh tinggi dan mengandung tokoferol dan tokotrienol, sedangkan MIL sebagai sumber asam lemak tidak jenuh sumber asam lemak EPA dan DHA untuk menaikkan nilai gizi lemak margarin yang dihasilkan.

Penelitian dalam skala laboratorium ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh waktu reaksi, rasio PS/MIL dan rasio E/S (enzim/substrat) terhadap SMP dan SFI hasil interesterifikasi, sebagai pertimbangan dalam pembuatan lemak margarin.

METODOLOGI

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah palm stearin (pemberian PT Bimoli Surabaya) minyak ikan lemuru (lemuru dibeli dari PT Maya Muncar,

Banyuwangi, Jawa Timur), lipase amobil *Candida antarctica* dan lipase dari *Micor miehei* dari Novo.

Interesterifikasi dilakukan dengan mencampur palm stearin (PS) dan minyak ikan lemuru (MIL) dengan rasio 6:4 menggunakan lipase 2,5% berat substrat diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam dalam penangas air goyang, dengan goyangan 100 stroke per menit, diamati Slip Melting Point (SMP) dan Solid Fat Indeks (SFI) nya pada 10, 21 dan 33°C pada jam ke 0,5; 2; 6; 8; 10; 12 dan 24. Pengaruh rasio PS:MIL (4:6; 5:5; 6:4; 7:3 dan 8:2) dikaji dengan melakukan interesterifikasi selama 8 jam. Sedang konsentrasi enzim dikaji pada konsentrasi 1,25; 2,5 dan 5% terhadap substrat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat umum palm stearin dan minyak ikan lemuru yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat umum Palm Stearin dan Minyak Ikan Lemuru

Sifat	Palm stearin	M. Ikan lemuru
Kadar air, %	0,17	0,07
Asam lemak bebas	0,045	0,535
Bilangan penyabunan	242,2	127,9
Bilangan peroksida	28,6	5,18
Slip Melting Point	52-54	12-18
Solid Fat Indeks pada		
10°C	42,7	4,9
21,1°C	36,2	3,3
33,3°C	32,9	1,5

Hasil interesterifikasi :

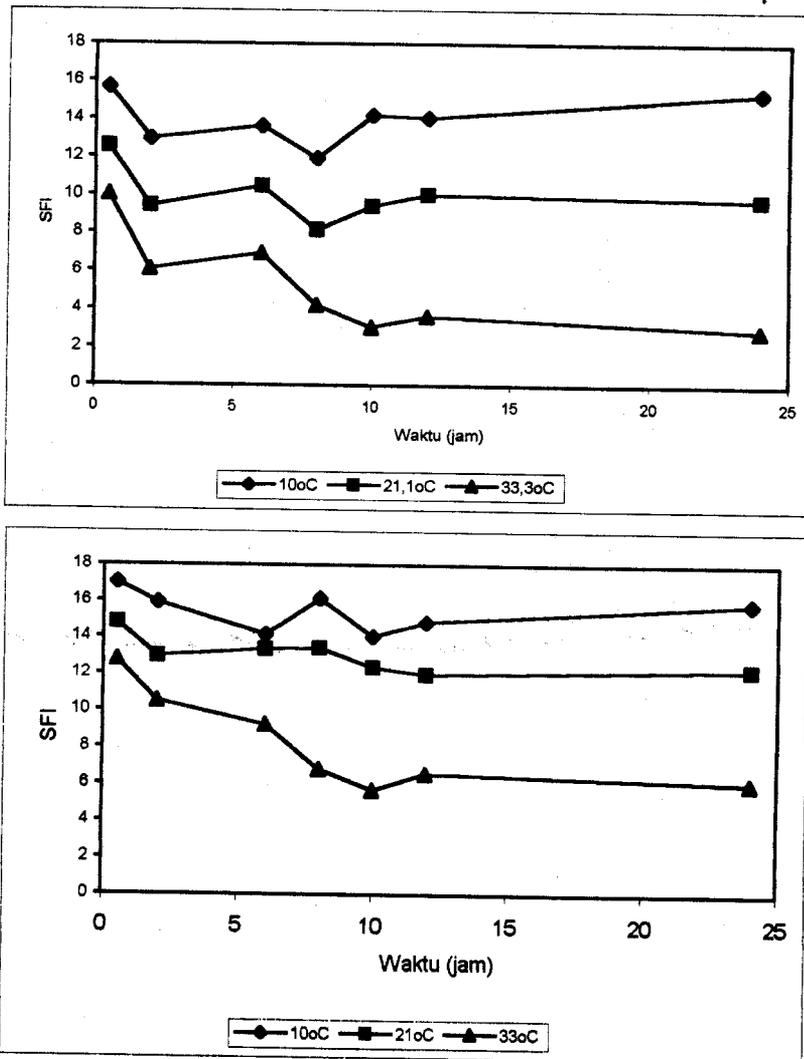
Perubahan SMP nya yang dapat dilihat pada Tabel 2. Makin lama interesterifikasi berlangsung terlihat akan makin menurunkan SMP hasil interesterifikasi. Hal ini dimungkinkan karena selama interesterifikasi akan terjadi perubahan susunan asam lemak dalam trigliserida. Perubahan susunan asam lemak ini berakibat pada perubahan sifat pelelehannya. Dibandingkan dengan nilai drop melting point lemak margarin dan spread komersial yang diteliti List, et al., (2000) yang berkisar antara 31,2 – 33,1 (untuk bentuk tub) dan 32,1 – 35,1 (untuk bentuk stick). SMP hasil interesterifikasi yang sesuai dengan produk komersial diperoleh setelah reaksi interesterifikasi berlangsung 10 jam.

Nilai SFI hasil interesterifikasi secara umum menunjukkan bahwa kedua enzim memberikan hasil trigliserida baru dengan pola SFI yang sama; sampai dengan 8 jam kecenderungannya turun, selanjutnya sedikit naik (untuk SFI 10°C), tetap (untuk SFI 21°C) dan sedikit

Tabel 2. Slip melting point (SMP) lemak/minyak sebelum dan setelah interesterifikasi palm stearin dengan minyak ikan lemuru menggunakan enzim lipase dari *R. miehei* dan *C.antartica* pada beberapa waktu reaksi

Waktu, jam	SMP, °C	
	<i>Rhizomucor miehei</i>	<i>Candida antartica</i>
0	48-50	48-50
0,5	43-45	47-49
2	39-41	40-45
6	38-40	39-42
8	36-38	37-39
10	34-36	34-36
12	33-35	33-35
24	28-30	29-34

Perubahan SFI menunjukkan perubahan fraksi padat pada lemak atau minyak yang bersangkutan. Hal ini disebabkan adanya pertukaran asil pada trigliserida yang ada pada campuran PS dan MIL. Untuk lebih menyajikan perubahan susunan asam lemak dalam trigliserida setelah interesterifikasi perlu dilakukan analisis profil trigliserida dengan cara khromatografi cairan kinerja tinggi (HPLC) yang belum dikerjakan pada penelitian ini. Jika dibandingkan dalam waktu reaksi yang sama, penggunaan lipase *R. miehei* menyebabkan perubahan SFI yang sedikit lebih besar dibanding dengan lipase *C. antartic* karena perubahan tersebut merupakan akibat perubahan susunan asam lemak pada trigliserida baru sebagai hasil interesterifikasi, diduga lipase *R. miehei* mengkatalis pertukaran asil sedikit lebih cepat.



Gambar 1. Solid Fat Indeks (SFI) pada suhu 10°C; 21,1°C dan 33,3°C hasil interesterifikasi Palm Stearin dengan Minyak Ikan Lemuru (6:4) dengan menggunakan lipase dari *R. miehei* (A) dan lipase *C. antartica* (B) pada suhu 60°C pada penangas air goyang 100 stroke/menit.

Dugaan ini perlu dibuktikan dengan mengukur kecepatan reaksi interesterifikasi yang dikatalis lipase *R. miehei* dan lipase *C. antarctica* yang belum dikerjakan dalam penelitian ini. Fenomena ini sejalan dengan hasil yang dikemukakan peneliti terdahulu (Ghosh dan Bhattacharyya, 1997; Seriburi dan Akoh, 1998a; 1998b; 1998c; Lai, et al., 1998). Sejauh mana perubahan susunan asam lemak dalam trigliserida baru tersebut sebenarnya dapat diketahui dengan analisis profil trigliserida secara HPLC yang tidak dikerjakan dalam penelitian ini. Hasil penelitian List, et al., (2000) menunjukkan bahwa margarin dan spread komersial mempunyai SFI 10°C berkisar antara 8,3 – 13,9 (untuk bentuk tub) dan 13,7 – 24,9 (untuk bentuk stick); pada 21,1°C berkisar antara 4,8 – 8,6 (untuk bentuk tub) dan 9,0 – 13,0 (untuk bentuk stick); pada suhu 33,3°C berkisar antara 0,7 – 2,5 (untuk bentuk tub) dan 1,7 – 3,2 (untuk bentuk stick). Dengan demikian, hasil interesterifikasi 8 jam memberikan SFI yang berada dalam rentang yang dijumpai pada produk komersial normal.

Pola pengaruh rasio palm stearin dengan minyak ikan lemuru

Dengan menggunakan waktu reaksi 8 jam, beberapa rasio PS:MIL dikaji pola perubahan SMP dan SFI nya, yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Pada Tabel 3 terlihat sudah adanya perbedaan nilai SMP sebelum interesterifikasi. Pada campuran keduanya, makin rendah fraksi palm stearin atau makin tinggi fraksi minyak ikan lemuru, campuran tersebut makin rendah nilai SMP nya. Makin tinggi fraksi minyak ikan akan memberikan potensi donor asam lemak tidak jenuh yang makin banyak pula. Hal ini dapat memberi peluang penggantian asil jenuh dengan tidak jenuh yang makin tinggi pula, makin banyak fraksi minyak ikan lemuru makin besar penurunan SMP. Dibandingkan penggunaan lipase *R. miehei* memberikan penurunan SMP relatif lebih banyak dibanding dengan penggunaan lipase *C. antarctica*. Hal ini

sejalan dengan aktivitas enzim yang menunjukkan bahwa aktivitas lipase *C. antarctica* lebih rendah dibanding lipase *R. miehei*. Hal ini juga menguatkan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa kemampuan mengkatalisa sintesis ester oleh lipase *C. antarctica* lebih rendah dibanding lipase *R. miehei*.

Jika dilihat SFI pada Gambar 2 ternyata sejalan dengan perubahan SMP nya. Jika dibandingkan antara kedua enzim yang digunakan penurunan SFI hasil interesterifikasi menggunakan lipase *R. miehei* lebih besar dibanding menggunakan lipase *C. antarctica*.

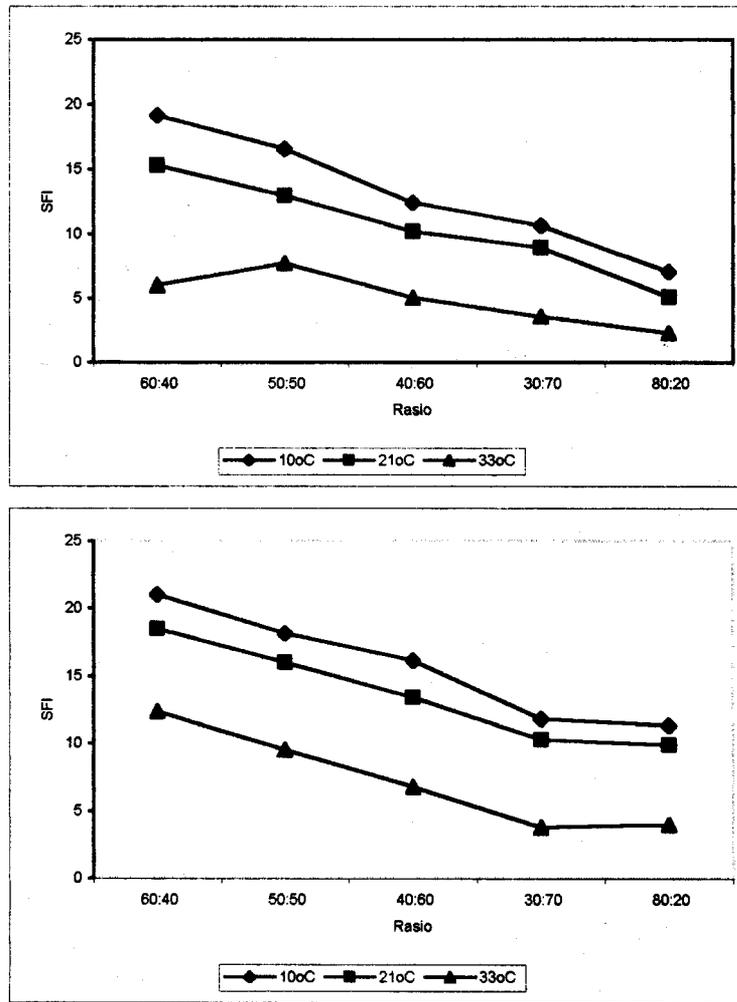
Pola pengaruh rasio enzim substrat

Sampai saat ini enzim masih merupakan bahan yang harganya relatif mahal. Sebagai alternatif untuk menekan biaya adalah dengan menggunakan bentuk amobil yang dapat digunakan berkali kali, mencari sumber enzim yang lebih murah atau menekan jumlah enzim yang digunakan. Untuk alternatif yang terakhir dicoba penggunaan enzim yang bervariasi jumlahnya, dengan waktu reaksi yang sama dikaji pengaruhnya terhadap SFI dan SMP nya. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4 (SMP) dan Gambar 3 (SFI).

Dengan menggunakan lipase dari *R. miehei* ternyata penggunaan enzim yang lebih banyak (dari 2,5% menjadi 5%) akan mempercepat turunnya titik leleh. Kemungkinan karena potensi kontak antara enzim dengan substrat lebih banyak sehingga akan berakibat pertukaran asil lebih cepat. Sebenarnya ini dapat didukung pembuktian dengan analisis profil trigliserida dengan HPLC yang tidak dikerjakan dalam penelitian ini. Informasi ini sangat berharga dalam terapannya, jika diinginkan waktu reaksi yang lebih pendek dapat digunakan enzim dalam jumlah yang relatif lebih banyak.

Tabel 3. Slip melting point lemak/minyak sebelum dan setelah interesterifikasi palm stearin dengan minyak ikan lemuru menggunakan enzim lipase dari *R. miehei* dan *C. antarctica* pada beberapa rasio campuran Palm Stearin dan Minyak Ikan Lemuru

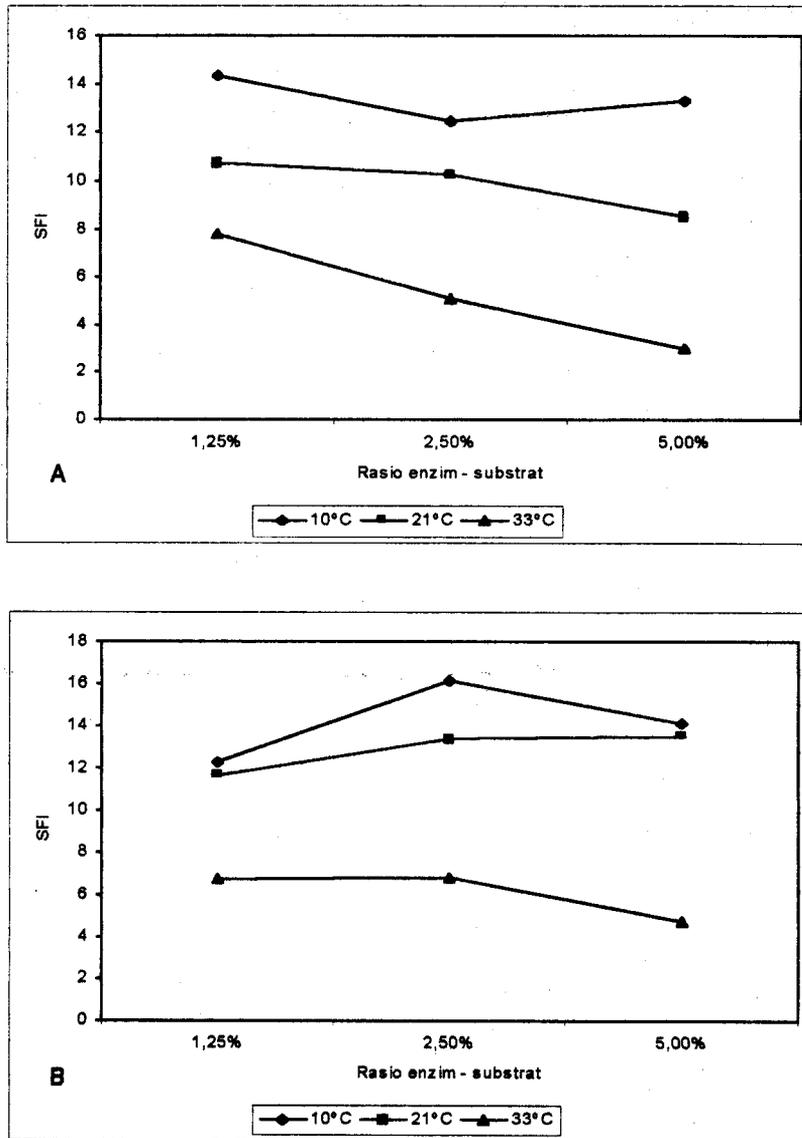
Rasio PS:MIL	Slip Melting Point			
	Lipase <i>Rhizomucor miehei</i>		Lipase <i>Candida antarctica</i>	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
60:40	47-49	39-41	47-49	43-46
50:50	48-50	37-39	48-50	41-44
40:60	47-50	36-38	47-50	37-39
30:70	39-42	28-30	39-42	29-32
20:80	36-39	22-24	36-39	26-29



Gambar 2. Solid Fat Indeks (SFI) pada suhu 10°C; 21,1°C dan 33,3°C hasil interesterifikasi Palm Stearin (PS) dengan Minyak Ikan Lemuru (MIL) pada berbagai rasio dan dengan menggunakan lipase dari *R. miehei* (A) dan lipase *C. antarctica* (B) pada suhu 60°C pada penangas air goyang 100 stroke/menit.

Tabel 4. Slip melting point (SMP) lemak/minyak setelah 8 jam interesterifikasi palm stearin dengan minyak ikan lemuru pada suhu 60°C pada penangas air goyang 100 stroke/menit, menggunakan enzim lipase dari *Rhizomucor miehei* dan *Candida antarctica* pada beberapa rasio enzim terhadap total substrat

Rasio Enzim:Substrat	SMP, °C	
	<i>Rhizomucor miehei</i>	<i>Candida antarctica</i>
1,25	38-40	39-42
2,50	36-38	37-39
5,00	25-27	33-35



Gambar 3. Solid Fat Indeks (SFI) pada suhu 10°C; 21,1°C dan 33,3°C hasil interesterifikasi Palm Stearin dengan Minyak Ikan Lemuru pada berbagai rasio enzim terhadap total substrat (palm stearin + minyak ikan lemuru) dengan menggunakan lipase dari *R.miehei* (A) dan lipase *C. antarctica* (B) pada suhu 60°C pada penangas air goyang 100 stroke/menit.

KESIMPULAN

Dalam interesterifikasi palm stearin dan minyak ikan lemuru secara enzimatik menggunakan lipase amobil *R. miehei* (spesifik sn 1,3) dan *C. antarctica* (non spesifik) rasio palm stearin dan minyak ikan lemuru yang digunakan sebagai substrat sangat berperan dalam menentukan titik leleh maupun solid fat indeks. Lama waktu reaksi interesterifikasi dan rasio enzim terhadap substrat merupakan factor lain yang harus dipertimbangkan dalam

dalam proses tersebut karena andil dalam perubahan titik leleh dan solid fat indeks hasilnya.

Dengan menggunakan rasio palm stearin: minyak ikan lemuru 6:4 menggunakan lipase 2,5% baik lipase *R. miehei* maupun lipase *C. antarctica*, setelah interesterifikasi berlangsung 8 jam pada suhu 60°C dalam penangas air goyang 100 stroke per menit dapat menghasilkan lemak baru yang sifat leleh serta solid fat indeksnya sesuai dengan margarin dan spread komersial.

DAFTAR PUSTAKA

- Basiron, Y. 1996.** Palm Oil. *Di dalam:* Hui, Y.H., Bailey's Industrial Oil Fat Products. John Wiley & Sons, Inc. p.278
- Gunstone, F.D., 1996.** Fatty Acid and Lipid Chemistry. Blacki Academic & Professional, London.
- Ghosh, S. dan Bhattacharyya, D.K., 1997.** Utilization of high melting palm stearin in lipase-catalyzed interesterification with liquid oil. JAOCS 74, 697-701.
- Hui, Y.H. 1991.** Encyclopedia of Food Science and Technology. Vol. 3, 1641-1645.
- Lai, O.M., H.M.Ghazali dan C.L.Chong, 1998.** Physical properties of *Pseudomonas* and *Rhizomucor michei* lipase-catalyzed transesterified blend of palm stearin: Palm kernel olein. JAOCS 75,953-959.
- List, G., K.R.Steidley dan W.E. Neff, 2000.** Commercial spreads formulation, structure and properties. Inform 11,980-986.
- Seriburi, V. dan C.C. Akoh, 1998a.** Enzymatic transesterification of triolein and stearic acid and solid fat content of their products. JAOCS 75,511-516.
- Seriburi, V. dan C.C. Akoh, 1998b.** Enzymatic interesterification of triolein and tristearin : chemical structure and differential scanning calorimetric analysis of products. JAOCS 75,711-716.
- Seriburi, V. dan C.C. Akoh, 1998c.** Enzymatic interesterification of lard and high oleic sunflower oil with *Candida antarctica* lipase to produce plastic fats.. JAOCS 75, 1339-1345