

Stabilitas Oksidasi Lipida Terstruktur Berbasis Minyak Kelapa dan Minyak Kelapa Sawit

Oxidative Stability of Structured Lipid Based on Coconut Oil and Palm Oil

SITI NURHASANAH¹, NUR WULANDARI^{2,3}, S. JONI MUNARSO⁴, PURWIYATNO HARIYADI^{2,3}

¹Mahasiswa Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFST) Center, LPPM-IPB

⁴Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Kementerian Pertanian

E-mail : phariyadi@ipb.ac.id

Diterima 1 Nopember 2017 / Direvisi 13 Nopember 2017 / Disetujui 4 Desember 2017

ABSTRAK

Interesterifikasi enzimatis dengan lipase digunakan untuk mensintesis lipida terstruktur dari bahan baku minyak kelapa dan minyak kelapa sawit. Lipida terstruktur adalah lipida termodifikasi melalui penggantian dan/atau pengaturan posisi asam-asam lemak pada kerangka gliserolnya. Pada penelitian ini modifikasi secara enzimatis dilakukan untuk menghasilkan produk lipida terstruktur (lipida terstruktur dengan beberapa perubahan sifat kimia dan fisik). Penelitian bertujuan untuk mempelajari stabilitas oksidasi lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit. Stabilitas oksidasi diukur menggunakan metode uji *oven schaal* pada suhu 50°C selama 4 minggu. Parameter yang diuji adalah asam lemak bebas (ALB), bilangan peroksida, bilangan p-anisidin, bilangan total oksidasi, dan bilangan asam tio barbiturat (TBA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis lipase yang digunakan dan lama interesterifikasi menghasilkan lipida terstruktur dengan stabilitas oksidasi yang berbeda. Lipida terstruktur yang diperoleh dari proses interesterifikasi menggunakan lipase Novozyme 435 selama 5 jam mempunyai stabilitas oksidasi tinggi. Produk yang disimpan selama 4 minggu pada suhu 50°C memiliki nilai ALB 4,21%, bilangan peroksida 2,88 meq O₂/kg, bilangan p-anisidin 5,16, bilangan TBA 2,01 mg malonaldehid/kg sampel, dan bilangan total oksidasi 10,92. Hasil tersebut menunjukkan bahwa stabilitas oksidasi lipida terstruktur yang dihasilkan memenuhi standar sebagai produk minyak kelapa dan minyak kelapa sawit dengan turunannya.

Kata kunci: minyak kelapa, minyak kelapa sawit, interesterifikasi enzimatis, lipida terstruktur, stabilitas oksidasi.

ABSTRACT

Lipase-catalyzed interesterification is used to synthesize a value added structured lipid from coconut oil and palm oil. Structured lipid is a modified lipid with replacement and/or arrangement of fatty acid positions to change the fatty acid composition and/or their positional distribution in glycerol backbone. In this research, modification was conducted by enzymatic process, to produced structured lipid (structured lipid with some beneficial changes in chemical and physical properties). The objective of this research was to study the oxidative stability of structured lipid obtained from enzymatic interesterification of coconut oil and palm oil. Stability was studied using schaal oven test method at 50°C for 4 weeks. Parameters tested were free fatty acid (FFA), peroxide value, p-anisidine value, total oxydation value, and thio barbituric acid (TBA) value. Results showed that the type of lipase used and length of interesterification resulted in structured lipid with different oxidative stability. Structured lipid produced with esterification process by using lipase of Novozyme 435 for 5 hours has high oxidative stability. Product that was stored for 4 weeks at 50°C, contained FFA value of 4.21%, peroxide value of 2.88 meq O₂/kg, p-anisidine value of 5.16, TBA value of 2.01 mg malonaldehyde/kg sample, and total oxidation value of 10.92. Those results show that oxidation stability parameter of structured lipid still meet the standard of coconut oil and palm oil products, and their derivatives.

Keywords: coconut oil, palm oil, enzymatic interesterification, structured lipids, oxidation stability.

PENDAHULUAN

Lipida terstruktur merupakan lipida (triasilgliserol) termodifikasi melalui penggantian dan/atau pengaturan posisi asam-asam lemak pada kerangka gliserolnya. Sifat fisik dan kimia triasilgliserol dipengaruhi oleh panjang rantai,

tingkat kejenuhan asam lemak, dan posisi asam lemak dalam rantai gliserol. Interesterifikasi merupakan reaksi kimia yang menyebabkan terjadinya penataan ulang dua asam lemak spesifik dalam triasilgliserol, atau pertukaran asam lemak antara triasilgliserol. Proses interesterifikasi diawali dengan hidrolisis, esterifikasi lebih lanjut

pada gliserol. Selain triasilgliserol, donor asil dapat juga berasal dari asam lemak, seperti asam lemak palmitat atau stearat, esterifikasi asam lemak, atau alkohol (Kim *et al.*, 2014; Verstringe *et al.*, 2013).

Interesterifikasi enzimatis dapat digunakan untuk mensintesis lipida terstruktur dari minyak kelapa dan minyak kelapa sawit sehingga terjadi perubahan sifat kimia dan fisika. Sintesis lipida terstruktur menyebabkan perubahan posisi asam lemak pada molekul triasilgliserol, yang dapat didesain untuk menghasilkan minyak yang memiliki fungsionalitas kesehatan dan dapat diaplikasikan secara luas, khususnya untuk industri pangan fungsional. Interesterifikasi enzimatis menggunakan lipase memungkinkan terjadinya penggantian ikatan ester pada posisi 1 dan 3 bagian gliserol, sedangkan asam lemak pada posisi 2 tidak terpengaruh (Adlercreutz, 2013; O'Keefe dan Sarnoski, 2017). Lipase yang digunakan pada proses interesterifikasi dapat memiliki spesifitas yang berbeda. Lipase *Thermomyces lanuginosa imobil* (TL IM) merupakan salah satu jenis enzim lipase komersial terimobilisasi yang mempunyai spesifitas posisional terhadap molekul triasilgliserol pada posisi primer (*structure number/sn-1,3*), sedangkan lipase Novozyme 435 merupakan enzim lipase komersial terimobilisasi non-spesifik dari *Candida antarctica*. Pada tahap penelitian sebelumnya, telah diperoleh produk lipida terstruktur hasil modifikasi minyak kelapa dan minyak kelapa sawit secara enzimatis dengan kandungan asam lemak penyusun triasilgliserol pada posisi *sn-2* yang kaya asam lemak kaprilat, kaprat dan laurat, sedangkan pada posisi *sn-1,3* kaya linoleat dan oleat. Perubahan komposisi asam lemak dalam triasilgliserol mengubah sifat kimianya termasuk stabilitas oksidasinya.

Oksidasi lipida merupakan kriteria kualitas penting untuk industri makanan. Oksidasi merupakan reaksi antara lemak tidak jenuh dengan oksigen yang dipercepat oleh panas, cahaya, dan logam. Oksidasi lipida menghasilkan produk oksidasi primer, seperti hidroperoksida yang dapat terdekomposisi menjadi aldehid dan keton. Oksidasi lipida tidak hanya menghasilkan flavor tengik tetapi juga dapat menurunkan kualitas dan keamanan gizi, yaitu pembentukan produk oksidasi yang menyebabkan produk beracun dengan adanya dekomposisi peroksida menghasilkan produk reaksi sekunder, dan memberikan efek fisiologis serta patologis lainnya (Spickett dan Forman, 2015). Pengukuran stabilitas oksidasi bahan mengandung lemak atau minyak yang paling mendekati kondisi sebenarnya adalah dengan *Schaal oven test*. Metode ini dipilih karena tingkat kemudahan dalam aplikasinya. Parameter

yang dianalisis untuk mengetahui stabilitas oksidasi produk adalah ALB, bilangan peroksida, bilangan p-anisidin, dan bilangan total oksidasi (Przybylski *et al.*, 2013; Eastman, 2010; Shahidi, 2015). Pada penelitian ini dilakukan uji stabilitas oksidasi produk lipida terstruktur yang dihasilkan dari modifikasi minyak kelapa dan minyak kelapa sawit selama penyimpanan. Pengetahuan tentang oksidasi dapat dijadikan salah satu acuan untuk formulasi suatu produk pangan agar kualitasnya dapat dipertahankan dan waktu penyimpanan yang tepat dapat diketahui.

Penelitian bertujuan untuk mempelajari stabilitas oksidasi produk lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFST) Center, Institut Pertanian Bogor pada bulan Mei 2017 sampai Oktober 2017. Bahan yang digunakan adalah minyak kelapa merk Barco, minyak kelapa sawit fraksi olein dengan bilangan iod 60 dari PT. Salim Invomas Pratama Tbk, lipase spesifik-1,3 amobil (lipase *Thermomyces lanuginosa imobil*/TL IM) dan lipase Novozyme 435 (Novozyme A/S, Bagsvaerd, Denmark), standar triasilgliserol dari Sigma (St. Louis, MO USA), *molecular sieves* 4A, serta bahan-bahan kimia untuk analisis. Alat-alat yang digunakan antara lain *orbital shaker*, spektrofotometer UV-Vis, *oven*, *thermostated bath*, alat gelas dan peralatan pendukung lainnya.

Metode

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap yang terdiri atas jenis enzim dengan proses interesterifikasi yang berbeda dan lama penyimpanan. Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk grafik menggunakan *software* microsoft excel dan tidak dilakukan uji statistik, hanya menampilkan data rerata dari masing-masing sampel.

Interesterifikasi enzimatis dilakukan mengacu pada metode Yang *et al.* (2014) dengan cara mencampurkan 10 g minyak kelapa dan 10 g minyak kelapa sawit pada erlenmeyer 50 ml tertutup dalam sistem bebas pelarut. Campuran ditambahkan 6% lipase (TL IM atau Novozyme 435). Campuran direaksikan pada *rotary shaker* dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 55°C pada waktu yang berbeda sehingga diperoleh 4 jenis perlakuan, yaitu a). campuran + lipase TL IM

direaksikan selama 3 jam (T3), b). campuran + lipase TL IM direaksikan selama 5 jam (T5), campuran + lipase Novozyme 435 direaksikan selama 5 jam (N5), dan c). campuran + lipase Novozyme 435 direaksikan selama 7 jam (N7). Proses pembentukan lipida terstruktur dari keempat jenis perlakuan tersebut merupakan kondisi yang terbaik untuk menghasilkan lipida terstruktur dari minyak kelapa dan minyak kelapa sawit yang menargetkan *sn-2* kaya asam lemak rantai medium, seperti laurat, kaprat dan kaprilat. Pada posisi *sn-1,3* kaya asam lemak tak jenuh seperti oleat dan linoleat. Produk lipida terstruktur yang dihasilkan disimpan pada suhu -20°C sebelum dianalisis. Untuk mengendalikan air, pada sistem reaksi ditambahkan *molecular sieves* 4A (Liu, 2011). Setiap perlakuan dilakukan dalam bentuk duplo.

Stabilitas oksidasi lipida terstruktur dianalisis dengan menggunakan metode *oven schaal*. Analisis yang dilakukan untuk menentukan stabilitas oksidasi terdiri atas ALB, bilangan peroksida, bilangan p-anisidin, bilangan TBA dan bilangan total oksidasi. Sampel dimasukkan dalam botol gelap, kemudian diletakkan dalam oven dengan suhu 50°C. Analisis dilakukan setiap minggu selama 4 minggu penyimpanan (Hernandez dan Kamal-Eldin, 2013).

1. Analisis Kadar ALB (AOCS Ca 5a-40, 2005)

Sebelum ditimbang, sampel harus dalam keadaan cair dan homogen serta tidak boleh dipanaskan lebih dari 10°C di atas titik lelehnya. Sampel ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan ditambahkan alkohol netral yang sudah dipanaskan pada suhu 60°C, dikocok sampai semua bahan larut dan homogen. Selanjutnya dititrasi dengan NaOH 0,1 N menggunakan indikator fenolftalein hingga terbentuk warna merah muda selama 30 detik. Kadar ALB sebagai laurat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar ALB sebagai laurat (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N} \times 20}{\text{Berat sampel}}$$

Keterangan: N = Normalitas NaOH

2. Analisis Bilangan Peroksida Metode Titrimetri Asam Asetat-Chloroform (AOCS Method Cd 8-53 2012)

Sampel ditimbang 5 g dalam erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan 30 ml asam asetat: kloroform (3:2) dikocok sampai larutannya homogen, ditambahkan 0,5 ml larutan KI jenuh, simpan di tempat gelap selama 2 menit, kemudian ditambahkan air destilasi sebanyak 30 ml dan 4 tetes larutan pati 1%. Larutan tersebut kemudian

dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0,05 N sampai jernih. Prosedur yang sama dilakukan terhadap blanko.

Penentuan bilangan peroksida dihitung menggunakan rumus :

$$PV \text{ (meq O}_2\text{/kg)} = \frac{(v \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 - v \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ blanko}) \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Keterangan: PV = Peroxide value (bilangan peroksida)

V Na₂S₂O = Volume Na₂S₂O

N Na₂S₂O = Normalitas Na₂S₂O

3. Analisis bilangan p-anisidin (IUPAC 1987, No. Metode 2.504)

Sebanyak 1 g sampel ditambah dengan 25 ml isooktan, diukur absorbansinya (Ab) pada panjang gelombang 350 nm dengan spektrofotometer UV-VIS. Sebanyak 5 ml larutan dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml p-anisidin 0,25% dalam asam asetat glasial. Tabung reaksi ditutup, dikocok, dan dibiarkan pada tempat gelap selama 10 menit dan diukur pada panjang gelombang 350 nm sebagai absorbansi larutan (As). Penentuan bilangan p-anisidin dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Bilangan p-anisidin} = \frac{25 \times (1,2 \text{ As} - \text{Ab})}{m}$$

Keterangan:

As = nilai absorbansi setelah reaksi

Ab = nilai absorbansi sebelum reaksi

m = berat sampel (g)

4. Bilangan Total oksidasi (Sun-Waterhouse et al. 2011)

Bilangan total oksidasi dihitung berdasarkan analisis bilangan peroksida dan bilangan p-anisidin yang dilakukan secara terpisah. Perhitungan bilangan total oksidasi = 2 bilangan peroksida + bilangan p-anisidin.

5. Analisis Bilangan TBA (AOCS Cd 19-90, 2003)

Sampel sebanyak 0,1 g ditempatkan dalam labu volumetrik 25 ml dan dilarutkan dengan 1-butanol. Larutan sampel sebanyak 5 ml dipindahkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml pereaksi TBA dan ditutup. Tabung reaksi digoyang dan ditempatkan dalam *thermostated bath* (suhu 95°C). Setelah 120 menit, tabung reaksi dipindahkan dan didinginkan di bawah air mengalir selama 10 menit sampai suhu kamar. Absorbansi larutan sampel diukur pada panjang gelombang 530 nm menggunakan air destilasi sebagai referensi. Prosedur yang sama dilakukan

terhadap blanko. Bilangan TBA dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\text{Bilangan TBA} = \frac{50 (A-B)}{W}$$

Keterangan:

A = absorbansi larutan sampel

B = absorbansi larutan blanko

W = berat sampel (g)

Uji stabilitas oksidasi lipida terstruktur menggunakan produk hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit dengan menggunakan 2 enzim yang spesifitasnya berbeda. Lipase Novozyme 435 menghasilkan produk yang kaya triasilgliserol dengan *sn-2* seperti kaprilat, kaprat atau laurat, sedangkan lipase TL IM menghasilkan produk yang kaya triasilgliserol dengan *sn-1,3* oleat atau linoleat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

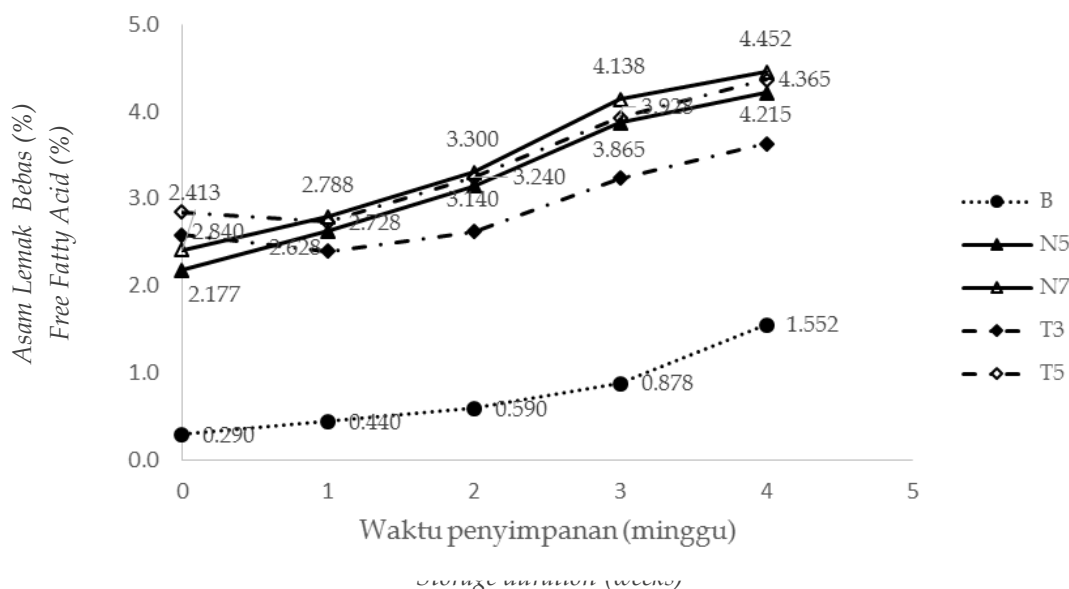
Kadar Asam Lemak Bebas (ALB)

Asam yang dibebaskan pada proses hidrolisis lemak dikenal dengan istilah ALB. Pada proses interesterifikasi asam-asam lemak ini

kemungkinan belum terikat dengan gliserol sehingga menyebabkan terbentuknya ALB (Willis dan Marangoni, 2002). Asam lemak bebas bersifat sangat mudah rusak terutama oleh oksidasi, sehingga menyebabkan bau tengik.

Kadar ALB produk hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit selama penyimpanan (dihitung sebagai laurat karena merupakan asam lemak dominan) tersaji pada Gambar 1.

Pada semua produk hasil interesterifikasi terjadi kenaikan ALB. Kadar ALB paling rendah diperoleh dari hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit menggunakan lipase Novozym 435 yang direaksikan selama 5 jam. Proses penyimpanan yang lama mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar ALB. Pada akhir penyimpanan selama 4 minggu, kadar ALB paling rendah diperoleh dari hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit menggunakan lipase TL IM yang direaksikan selama 3 jam. Waktu reaksi yang lebih lama menyebabkan redistribusi asam lemak berlangsung lebih banyak sampai pada batasan waktu tertentu. Menurut Reshma *et al.* (2008) kenaikan kadar ALB sangat tinggi pada jam pertama dan selanjutnya relatif stabil. Peningkatan



Keterangan : B = Minyak kelapa + minyak kelapa sawit tanpa interesterifikasi, N5 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 5 jam, N7 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 7 jam, T3 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 3 jam, T5 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 5 jam.

Note: B = Coconut oil and palm oil without interesterification, N5 = Interesterification result using Novozyme 435 for 5 hours, N7 = Interesterification result using Novozyme 435 for 7 hours, T3 = Interesterification result using TL IM for 3 hours, T5 = Interesterification result using TL IM for 5 hours.

Gambar 1. Perubahan kadar ALB selama penyimpanan lipid terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit.

Figure 1. Change of free fatty acid content during storage of structured lipid from enzymatic interesterification of coconut oil and palm oil.

suhu juga dapat menyebabkan peningkatan kadar ALB. Waktu reaksi dan penyimpanan yang lebih lama menyebabkan bahan terpapar panas lebih lama sehingga produk dengan waktu reaksi dan penyimpanan lebih lama menghasilkan produk dengan kadar ALB yang lebih tinggi. Penggunaan lipase TL IM yang spesifik pada *sn-1,3* menghasilkan produk dengan ALB lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan lipase Novozyme 435. Untuk produk hasil interesterifikasi, tingginya ALB mengindikasikan laju reaksi hidrolisis yang tinggi.

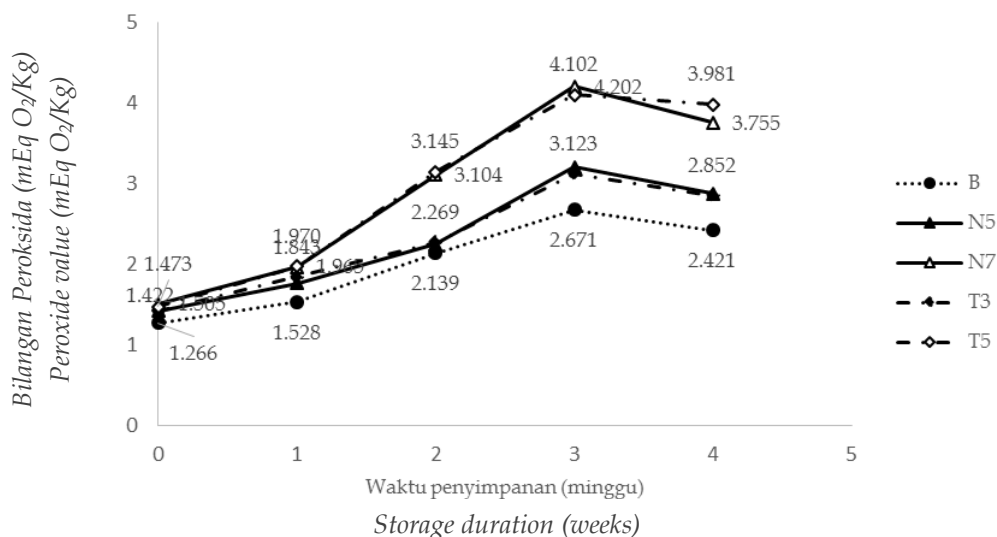
Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida menyatakan indeks jumlah lemak atau minyak yang telah mengalami oksidasi. Angka peroksida penting untuk identifikasi tingkat oksidasi minyak (Hernandez dan Kamal-Eldin, 2013). Bilangan peroksida hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 2.

Bilangan peroksida produk hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit pada waktu reaksi yang berbeda memiliki nilai yang tidak berbeda, yaitu berkisar dari 1,4-1,5 meq O₂/Kg. Proses interesterifikasi dan penyimpanan menyebabkan

terjadinya peningkatan bilangan peroksida lipida terstruktur, sampai pada waktu tertentu nilainya menjadi turun. Menurut Wijesundera *et al.* (2008) asam lemak tak jenuh pada posisi *sn-2* lebih stabil dibandingkan dengan pada posisi *sn-1,3*. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa interesterifikasi menghasilkan lipida terstruktur yang lebih kaya triasilgliserol dengan *sn-1,3* oleat atau linoleat dibandingkan minyak campuran asalnya. Reaksi oksidasi pada minyak pada awalnya membentuk peroksida dan hidroperoksida, yang teroksidasi lanjut menjadi aldehid, keton dan asam-asam lemak bebas (Spickett dan Forman, 2015).

Asam lemak tidak jenuh dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya, sehingga membentuk peroksida. Peroksida merupakan produk awal dari reaksi oksidasi yang bersifat labil, reaksi ini dapat berlangsung bila terjadi kontak antara oksigen dengan minyak. Jenis enzim tidak terlalu mempengaruhi pembentukan peroksida. Berdasarkan SNI No. 3741:2013 tentang Minyak Goreng (2013) bilangan peroksida maksimal untuk minyak goreng adalah 10 meq O₂/kg. Berdasarkan standar tersebut, produk lipida terstruktur yang dihasilkan masih memenuhi standar yang ditetapkan. Adanya air yang terbentuk selama proses interesterifikasi



Keterangan: B = Minyak kelapa + minyak kelapa sawit tanpa interesterifikasi, N5 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 5 jam, N7 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 7 jam, T3 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 3 jam, T5 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 5 jam.

Note: B = Coconut oil and palm oil without interesterification, N5 = Interesterification result using Novozyme 435 for 5 hours, N7 = Interesterification result using Novozyme 435 for 7 hours, T3 = Interesterification result using TL IM for 3 hours, T5 = Interesterification result using TL IM for 5 hours.

Gambar 2. Perubahan bilangan peroksida selama penyimpanan lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit.

Figure 2. Change of peroxide value during storage of structured lipid from enzymatic interesterification of coconut oil and palm oil.

akan mempercepat pembentukan peroksida dari persenyawaan asam lemak tidak jenuh.

Bilangan p-Anisidin

Bilangan p-anisidin merupakan salah satu parameter penentuan jumlah aldehid dalam bentuk enal dan dienal dalam minyak memberikan informasi jumlah produk oksidasi sekunder (Wqsowicz *et al.*, 2004). Senyawa aldehida yang terbentuk ini merupakan senyawa hasil proses oksidasi yang terjadi dalam minyak. Bilangan p-anisidin lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit selama penyimpanan disajikan pada Gambar 3.

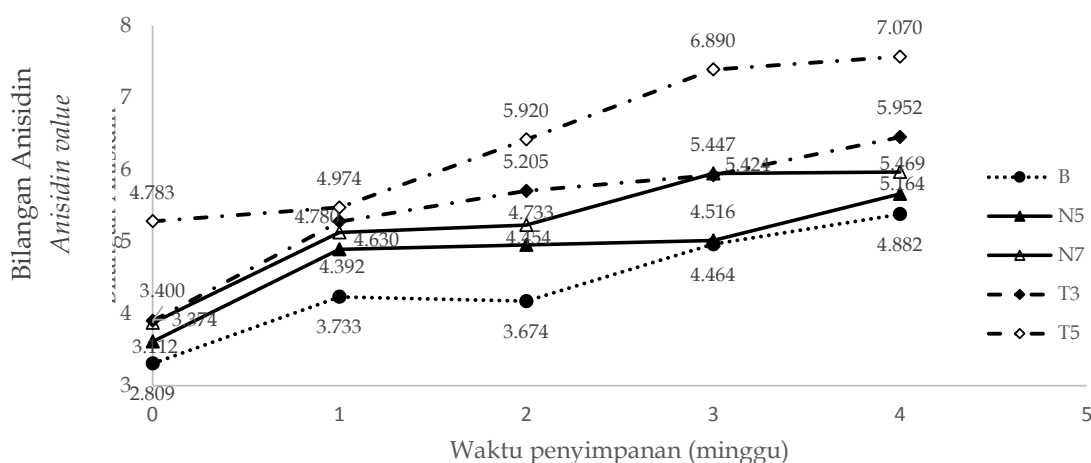
Bilangan p-anisidin tertinggi diperoleh pada produk hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit menggunakan lipase TL IM yang direaksikan selama 5 jam. Proses penyimpangan menyebabkan peningkatan bilangan p-anisidin produk hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit. Pembentukan produk oksidasi sekunder selama penyimpanan meningkat, hal ini sejalan dengan penelitian Taghvaei (2014), yang menyatakan bahwa nilai p-anisidin pada minyak kedelai terjadi peningkatan dari 6,4 menjadi 14,8 pada hari ke 20. Pada sintesis lipida terstruktur minyak ikan yang berasal dari limbah pengolahan ikan sarden terjadi peningkatan bilangan

peroksida dan bilangan p-anisidin dari 5 meq O₂/Kg minyak pada hari ke 20 menjadi 6,5 meq O₂/Kg minyak dan 38 (Morales-Medina *et al.*, 2017).

Bilangan Thio Barbiturat Acid (TBA)

Kerusakan minyak ditandai dengan adanya bau tengik. Ketengikan terbentuk oleh adanya aldehid dan keton (Spickett dan Forman, 2015). Tingkat ketengikan minyak dapat diukur dengan bilangan TBA. Bilangan TBA lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit selama penyimpanan tersaji pada Gambar 4.

Bilangan TBA lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit paling rendah menggunakan lipase Novozyme 435 yang direaksikan selama 5 jam. Pada akhir penyimpanan, yaitu penyimpanan selama 4 minggu, bilangan TBA paling rendah diperoleh dari hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit menggunakan lipase Novozyme 435 yang direaksikan selama 5 jam yaitu 2,012 MDA/kg. Proses penyimpanan yang lama mengakibatkan terjadinya peningkatan bilangan TBA. Bilangan TBA menunjukkan oksidasi sekunder dan pembentukan asam karboksilat (Akoh dan Min, 2008). SNI no 2352-1991 tentang Penentuan TBA

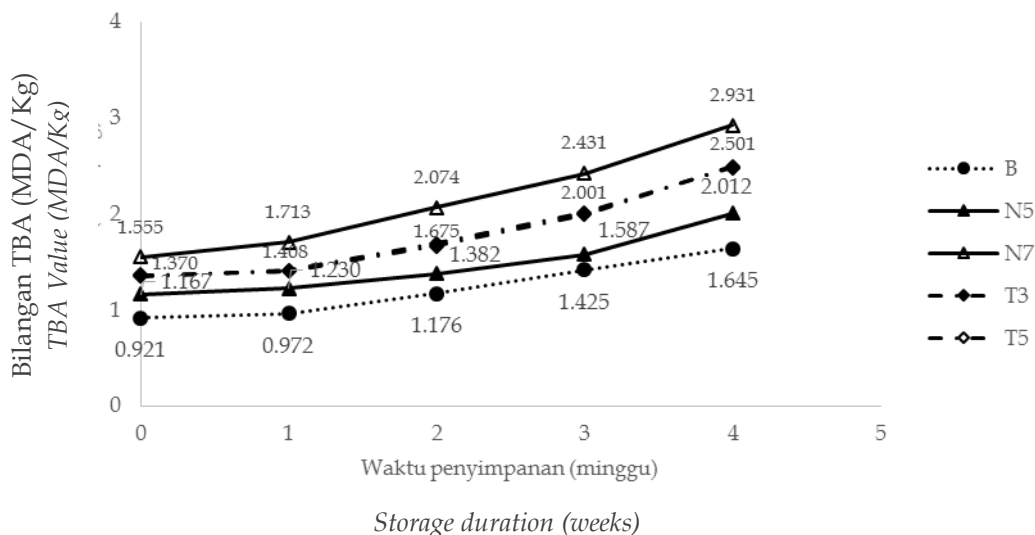


Keterangan: B = Minyak kelapa + minyak kelapa sawit tanpa interesterifikasi, N5 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 5 jam, N7 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 7 jam, T3 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 3 jam, T5 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 5 jam.

Note: B = Coconut oil and palm oil without interesterification, N5 = Interesterification result using Novozyme 435 for 5 hours, N7 = Interesterification result using Novozyme 435 for 7 hours, T3 = Interesterification result using TL IM for 3 hours, T5 = Interesterification result using TL IM for 5 hours.

Gambar 3. Perubahan bilangan p-anisidin selama penyimpanan lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak dan minyak kelapa sawit.

Figure 3. Change of p-anisidine value during storage of structured lipid from enzymatic interesterification of coconut oil and palm oil.



Keterangan: B = Minyak kelapa + minyak kelapa sawit tanpa interesterifikasi, N5 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 5 jam, N7 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 7 jam, T3 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 3 jam, T5 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 5 jam

Note: B = Coconut oil and palm oil without interesterification, N5 = Interesterification result using Novozyme 435 for 5 hours, N7 = Interesterification result using Novozyme 435 for 7 hours, T3 = Interesterification result using TL IM for 3 hours, T5 = Interesterification result using TL IM for 5 hours.

Gambar 4. Perubahan bilangan TBA selama penyimpanan lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatik minyak kelapa dan minyak kelapa sawit.

Figure 4. Change of TBA value during storage of structured lipid from enzymatic interesterification of coconut oil and palm oil.

menyatakan bahwa batas maksimal ketengikan produk 3 mg malonaldehid/kg sampel. Malonaldehid terbentuk pada akhir oksidasi sehingga pada awal penyimpanan bilangan TBA masih relatif kecil dan mengalami peningkatan sejalan dengan bertambahnya waktu penyimpanan (Shahidi dan Zhong, 2005).

Bilangan Total oksidasi

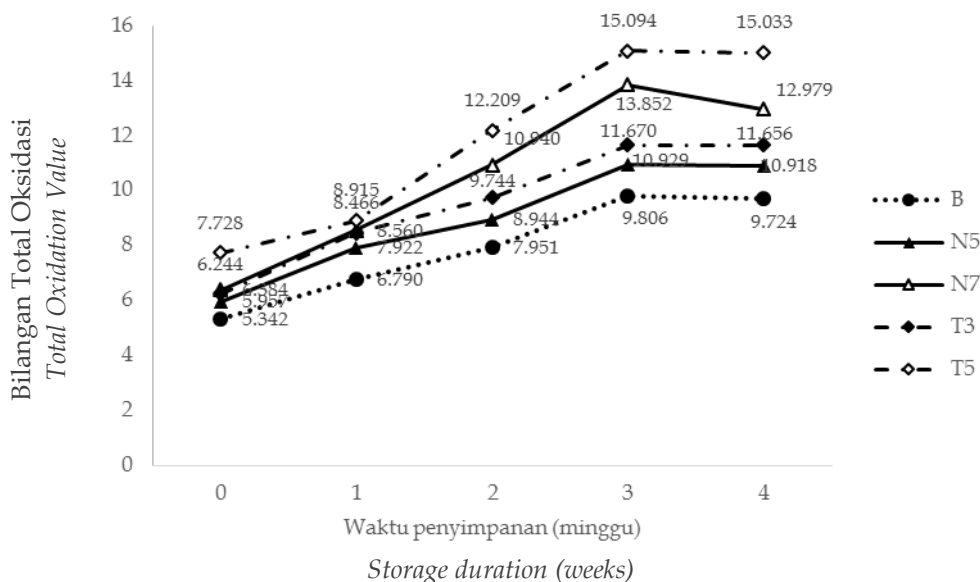
Bilangan peroksida dan bilangan p-anisidin yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan bilangan total oksidasi yang ekuivalen dengan dua kali bilangan peroksida ditambah dengan bilangan p-anisidin (Vacklavic dan Christian, 2008). Bilangan total oksidasi mengukur hidroperoksida dan produk turunannya, sehingga memberikan estimasi terbaik dari proses oksidasi yang terjadi pada minyak atau lemak, sering dijadikan parameter tingkat kerusakan oksidasi (O'Brian, 2009; Andina, 2014).

Berdasarkan bilangan total oksidasi, stabilitas oksidatif lipida terstruktur lebih tinggi dibanding yang tidak diinteresterifikasi, dilihat dari bilangan peroksida dan bilangan p-anisidannya (Basturk et al., 2007; Amir et al., 2012). Produk hasil interesterifikasi enzimatik

minyak kelapa dan minyak kelapa sawit mengalami peningkatan setelah proses penyimpanan sampai batas waktu tertentu sejalan dengan bilangan peroksida dan bilangan p-anisidin. Bilangan total oksidasi terendah diperoleh dari hasil interesterifikasi enzimatik minyak kelapa dan minyak kelapa sawit menggunakan lipase Novozyme 435 yang direaksikan selama 5 jam, sedangkan yang tertinggi diperoleh dari hasil interesterifikasi enzimatik minyak kelapa dan minyak kelapa sawit menggunakan lipase TL IM yang direaksikan selama 5 jam.

Stabilitas Oksidasi Produk Lipida Terstruktur

Oksidasi merupakan reaksi kimia kompleks yang berpengaruh terhadap stabilitas produk. Laju oksidasi pada minyak nabati umumnya berlangsung lambat pada tahap awal dan meningkat cepat pada tahap selanjutnya. Prinsip dasarnya merupakan reaksi antara lemak tak jenuh yang terlepas ikatannya dengan oksigen. Secara umum, nilai oksidasi lipida terstruktur lebih tinggi dibandingkan dengan campuran minyak yang tidak diinteresterifikasi. Waktu penyimpanan yang makin lama stabilitas oksidasi makin menurun terlihat dari nilai p-anisidin dan TBA parameter oksidasi yang meningkat, kecuali



Keterangan: B = Minyak kelapa + minyak kelapa sawit tanpa interesterifikasi, N5 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 5 jam, N7 = Hasil interesterifikasi Novozyme 435 selama 7 jam, T3 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 3 jam, T5 = Hasil interesterifikasi TL IM selama 5 jam
 Note: B = Coconut oil and palm oil without interesterification, N5 = Interesterification result using Novozyme 435 for 5 hours, N7 = Interesterification result using Novozyme 435 for 7 hours, T3 = Interesterification result using TL IM for 3 hours, T5 = Interesterification result using TL IM for 5 hours.

Gambar 5. Perubahan bilangan total oksidasi selama penyimpanan lipida terstruktur hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit.

Figure 5. Change of total oxidation value during storage of Structured Lipid from enzymatic interesterification of coconut oil and palm oil.

bilangan peroksida karena terjadi dekomposisi lebih lanjut menjadi komponen-komponen volatil yang menyebabkan bau tengik pada minyak. Berdasarkan nilai rerata dari keempat produk lipida terstruktur, stabilitas oksidasi tinggi diperoleh dari proses interesterifikasi menggunakan lipase Novozyme 435 yang direaksikan selama 5 jam, yang ditunjukkan oleh laju kerusakan produk lebih lambat. Upaya untuk memperpanjang stabilitas oksidasi dapat dilakukan dengan mengatur suhu penyimpanan yang sesuai, pengemasan produk yang baik, serta penambahan antioksidan pada produk.

KESIMPULAN

Jenis lipase yang digunakan dan lamareaksi pada proses interesterifikasi menghasilkan lipida terstruktur dengan stabilitas yang berbeda. Kadar ALB, bilangan peroksida, bilangan p-anisidin, bilangan TBA yang paling rendah diperoleh pada produk hasil interesterifikasi enzimatis pada minyak kelapa dan minyak kelapa sawit menggunakan lipase Novozyme 435 yang direaksikan selama 5 jam.

Proses penyimpanan menyebabkan meningkatnya rata-rata kadar ALB, bilangan peroksida, bilangan p-anisidin, bilangan TBA, dan bilangan total oksidasipada produk hasil interesterifikasi enzimatis minyak kelapa dan minyak kelapa sawit.

Produk lipida terstruktur dengan stabilitas oksidasi tinggi diperoleh dari proses interesterifikasi menggunakan lipase Novozyme 435 yang direaksikan selama 5 jam, dimana pada akhir pengamatan (setelah disimpan selama 4 minggu pada suhu 50°C) memenuhi standar produk minyak kelapa, minyak kelapa sawit dan turunannya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian melalui program KP4S atas dana penelitian yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOCS] American Oil Chemists Society. 2003. American Oil Chemistry Society. Determination of peroxide value. Cd 19- 90 AOCS.
- [AOCS] American Oil Chemists Society. 2005. "Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society". Illinois: Am Oil Chem Soc Press, Champaign.
- [AOCS] American Oil Chemists Society. 2012. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Illinois: Am Oil Chem Soc Press, Champaign.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1991. Penentuan Angka Asam Tiobarbiturat. SNI 01-2352-1991. Jakarta.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2013. Minyak Goreng. SNI 3741:2013. Jakarta
- [IUPAC] International Union on Pure and Applied Chemistry. 1987. Standard Methods For The Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 7th edition. Paquot and A. Hautfenne, editor. Oxford (UK): Blackwell Scientific Publishing.
- Adlercreutz, P. 2013. Immobilization and Application of Lipases in Organic Media. *Chemical Society Reviews*. 42 :6406-6436.
- Akoh, C.C. and D.B. Min. 2008. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Boca Raton: CRC press.
- Amir, R. A., M.A. Shabbir, M.R. Khan and S. Hussain. 2012. Interesterification of Fats and Oils-A Review. *Pakistan J Food Sci*, 22, 143-153.
- Andina, L., R. Riyanto, and A. Rohman. 2014. Determination of anisidine value of red fruit oil under elevated temperature using FTIR spectroscopy and multivariate calibration. *International Food Research Journal*, 21(6).
- Basturk, A., I. Javidipour and I.H. Boyaci. 2007. Oxidative Stability of Natural and Chemically Interesterified Cottonseed, Palm and Soybean Oils. *J. Food Lipids*. (14) :170-188.
- Eastman. 2010. *Schaal Oven Storage Stability Test*. Kingsport (US): Eastman Chemical Company.
- Hernandez, E.M. and A. Kamal-Eldi. 2013. *Processing and Nutrition of Fats and Oils*. John Wiley and Sons.
- Kim, S., I.H. Kim, C.C. Akoh, and B.H. Kim. 2014. Enzymatic Production of Cocoa Butter Equivalents High In 1-Palmitoyl-2-Oleoyl-3-Stearin In Continuous Packed Bed Reactors. *J. of the American Oil Chemists' Soc*. 91(5) :747-757.
- Liu, N., Y. Wang, Q. Zhao, Q. Zhang, and M. Zhao. 2011. Fast Synthesis of 1, 3-DAG By Lecitase® Ultra-Catalyzed Esterification In Solvent-Free System. *European journal of lipid science and technology*. 113(8) : 973-979.
- Morales-Medina, R., M. Munio, A. Guadix, and E.M. Guadix. 2017. Development of an upgrading process to produce MLM structured lipids from sardine discards. *Food Chemistry*. 228 : 634-642.
- O'Brian, R.D. 2009. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications Third Edition*. USA: Taylor and Francis Group LLC.
- O'Keefe, S.F. and P.J. Sarnoski. 2017. *Nomenclature and Classification of Lipids*. In C. C. Akoh (Ed.), *Food lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (pp. 1-17). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Przybylski, R., J. Wu, and N.A.M. Eskin. 2013. A Rapid Method for Determining The Oxidative Stability of Oils Suitable for Breeder Size Samples. *J. of the American Oil Chemists' Soc*. 90(7), 933-939.
- Reshma, M.V, S.S. Saritha, C. Balachandran, C. Arumughan. 2008. Lipase Catalyzed Interesterification of Palm Stearin and Rice Bran Oil Blends for Preparation of Zero Trans Shortening With Bioactive Phytochemicals. *Bioresour Technol*. 99 : 5011-5019. doi:10.1016/j.biortech.2007.09.009.
- Shahidi, F., and Y. Zhong. 2005. Lipid oxidation: measurement methods. *Bailey's industrial oil and fat products*.
- Shahidi, F. 2015. *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. <https://books.google.co.id/books?isbn=1782420975>
- Spickett, C.M., and H.J. Forman (Eds.). 2015. *Lipid Oxidation in Health and Disease*. CRC Press.
- Sun-Waterhouse, D., J. Thakorlal, J. Zhou. 2011. Effects of added phenolics on the storage stability of avocado and coconut oil. *IJFST*. 46:1575-1585.
- Taghvaei, M., S.M. Jafari, A.S. Mahoonak, A.M. Nikoo, N. Rahmadian, J. Hajitabar, and N. Meshginfar. 2014. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of

- soybean oil. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1), 124-130.
- Vacklavic, V.A., and E.W. Christian. 2008. *Essential of Food Science*. Texas: Springer Science+Business Media, LLC.
- Verstringe, S., N. De Clerq, T.M. Nguyen, S. Kadivar, and K. Dewittinck. 2013. In Garti N., and Widlak N. R. (Eds.), *Cocoa butter and related compounds* (pp. 443-474). Urbana, IL: AOCS Press.
- Wijesundera, C., C. Ceccato, P. Fagan, dan Z. Shen. 2008. Seed roasting improves the oxidative stability of canola (*B. napus*) and mustard (*B. juncea*) seed oils. *European journal of lipid science and technology*, 110(4) : 360-367.
- Willis, W.M. and A.G. Marangoni. 2002. *Enzymatic Interesterification*. Dalam Akoh C. C. dan Min D.B. (ed.). *Food Lipid: Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Marcell Dekker. New York.
- Węsowicz, E., A. Gramza, M. Hêoe, H.H. Jeleń, J. Korczak, M. Maecka, S. Mildner-Szkudlarz, M. Rudzińska, U. Samotyja, R. Zawirska-Wojtasiak. 2004. Oxidation of lipids in food. *Pol. Journal Food Nutrition Science*. 13(54):87-100.
- Yang, H., Y. Mu, H. Chen, C. Su, T. Yang, Z. Xiu. 2014. *Sn-1,3-specific Interesterification of Soybean Oil with Medium-chain Triacylglycerol Catalyzed by Lipozyme TL IM*. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 1016-1020. doi: 10.1016/j.cjche.2014.06.027