

PENGARUH SUHU DAN WAKTU REAKSI TERHADAP DISTRIBUSI TRIASILGLISEROL PADA ENZYMATIC INTERESTERIFICATION MINYAK SAWIT

¹Yulia Rahmawati, ¹Tri Widjaja, ¹Siti Nurkhamidah*

¹Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri dan Rekayasa Sistem, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, Indonesia

*Penulis korespondensi: nurkhamidah@its.ac.id

Abstrak. *Enzymatic interesterification (EIE) merupakan metode modifikasi lipid yang dapat mengubah struktur dan distribusi triasilgliserol (TAG) serta karakteristik fisik minyak. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh suhu dan waktu reaksi terhadap redistribusi TAG serta perubahan karakteristik fisik dan stabilitas oksidatif minyak sawit hasil EIE. Interesterifikasi dilakukan menggunakan lipase spesifik sn-1,3 Lipozyme TL IM pada konsentrasi 4% (b/b terhadap minyak), dengan suhu reaksi 43, 60, dan 77°C serta waktu reaksi 2,5; 6; dan 9,5 jam. Distribusi fraksi TAG SSS, SUS, SUU, dan UUU dianalisis serta dikaitkan dengan nilai solid fat content (SFC) dan peroxide value (PV). Hasil menunjukkan bahwa fraksi SUS pada suhu 43, 60, dan 77°C selama 6 jam masing-masing sebesar 39,04%; 35,51%; dan 38,54%, sedangkan peningkatan waktu reaksi pada 60°C menyebabkan penurunan SUS dari 37,07% menjadi 34,54%. Rata-rata SFC40 menurun dari 3,93% pada 43°C menjadi 0,91% pada 77°C, sedangkan rata-rata PV meningkat dari 0,7634 menjadi 4,0052 meq O₂/kg. Hasil tersebut menunjukkan bahwa suhu dan waktu reaksi memengaruhi redistribusi TAG, karakteristik fisik, dan pembentukan produk oksidasi primer pada minyak sawit. Kondisi proses EIE perlu dikendalikan untuk memperoleh perubahan struktur TAG dan karakteristik fisik yang diinginkan dengan tetap membatasi pembentukan produk oksidasi.*

Kata kunci: *enzymatic interesterification, minyak sawit, triasilgliserol, solid fat content, lipid terstruktur*

Abstract. *Enzymatic interesterification (EIE) is a lipid modification method that can alter triacylglycerol (TAG) structure and distribution as well as the physical characteristics of oils. This study aimed to evaluate the effects of reaction temperature and time on TAG redistribution, physical properties, and oxidative stability of palm oil subjected to EIE. Interesterification was performed using an sn-1,3-specific lipase, Lipozyme TL IM, at a concentration of 4% (w/w based on oil), with reaction temperatures of 43, 60, and 77°C and reaction times of 2.5, 6, and 9.5 h. TAG fractions, including SSS, SUS, SUU, and UUU, were analyzed and related to solid fat content (SFC) and peroxide value (PV). The results showed that SUS fractions at 43, 60, and 77°C for 6 h were 39.04%, 35.51%, and 38.54%, respectively, while increasing the reaction time at 60°C decreased the SUS fraction from 37.07% to 34.54%. The average SFC40 decreased from 3.93% at 43°C to 0.91% at 77°C, whereas the average PV increased from 0.7634 to 4.0052 meq O₂/kg. These results indicate that reaction temperature and time influenced TAG redistribution, physical characteristics, and the formation of primary oxidation products in palm oil. Therefore, EIE process conditions should be carefully controlled to achieve the desired changes in TAG structure and physical properties while minimizing the formation of oxidation products.*

Keywords: *enzymatic interesterification, palm oil, triacylglycerol, solid fat content, structured lipids*

1. Pendahuluan

Minyak sawit merupakan salah satu minyak nabati yang banyak digunakan dalam industri pangan karena memiliki karakteristik fisik dan kimia yang mendukung berbagai aplikasi produk berbasis lemak. Sifat semi-solid dan karakteristik kristalisasinya menjadikan minyak sawit sesuai untuk aplikasi seperti margarin dan shortening, tetapi karakteristik tersebut sangat dipengaruhi oleh komposisi dan distribusi triacylglycerol (TAG) di dalam minyak. Pengembangan produk berbasis minyak sawit dengan karakteristik fisik yang lebih spesifik memerlukan pendekatan modifikasi lipid yang mampu mengatur struktur TAG sesuai kebutuhan aplikasi pangan (Sivakanthan and Madhujith, 2020; Zhang et al., 2021).

Salah satu metode modifikasi lipid yang dapat digunakan adalah *enzymatic interesterification* (EIE), yaitu proses redistribusi asam lemak pada molekul TAG dengan bantuan enzim lipase. Penggunaan lipase spesifik *sn*-1,3 memungkinkan pertukaran asam lemak terutama pada posisi *sn*-1 dan *sn*-3 sehingga struktur TAG dapat dimodifikasi secara lebih selektif dibandingkan proses interesterifikasi kimia. Perubahan struktur TAG tersebut dapat memengaruhi sifat fisik minyak, termasuk *solid fat content* (SFC), perilaku kristalisasi, titik leleh, dan plastisitas (Zhang et al., 2021; Hasibuan, 2022). Dengan demikian, EIE berpotensi digunakan untuk menghasilkan lipid terstruktur dengan karakteristik yang sesuai untuk aplikasi produk berbasis lemak plastis.

Efektivitas EIE sangat dipengaruhi oleh kondisi proses, terutama suhu dan waktu reaksi. Suhu menentukan aktivitas dan selektivitas enzim serta mobilitas molekul selama reaksi, sedangkan waktu reaksi menentukan tingkat redistribusi asam lemak dan pembentukan TAG baru. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa perubahan kondisi interesterifikasi dapat menghasilkan perubahan komposisi TAG, SFC, karakteristik kristalisasi, dan stabilitas oksidatif pada sistem berbasis minyak sawit (Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2021). Selain itu, penggunaan lipase spesifik *sn*-1,3 tidak selalu mempertahankan selektivitas posisi karena *acyl migration* dapat terjadi selama proses dan menyebabkan redistribusi TAG yang lebih kompleks (Zhang et al., 2021; Zhang et al., 2022).

Distribusi TAG merupakan parameter penting untuk menjelaskan perubahan karakteristik fisik minyak setelah EIE. Fraksi TAG seperti saturated-saturated-saturated (SSS), saturated-unsaturated-saturated (SUS), saturated-unsaturated-unsaturated (SUU), dan unsaturated-unsaturated-unsaturated (UUU) memiliki kontribusi berbeda terhadap pembentukan kristal, titik leleh, dan kandungan lemak padat. Oleh karena itu, perubahan distribusi TAG perlu dikaji bersama dengan SFC untuk memahami hubungan antara redistribusi asam lemak dan perubahan sifat fisik minyak. Evaluasi *peroxide value* (PV) juga diperlukan untuk mengetahui apakah kondisi proses, khususnya peningkatan suhu dan waktu reaksi, memengaruhi stabilitas oksidatif minyak selama modifikasi.

Meskipun penelitian mengenai interesterifikasi minyak sawit telah banyak dilakukan, sebagian besar kajian berfokus pada sistem campuran minyak atau evaluasi sifat fisik dan kristalisasi setelah interesterifikasi, sedangkan kajian yang secara khusus menghubungkan pengaruh suhu dan waktu reaksi dengan perubahan fraksi TAG pada minyak sawit tunggal masih terbatas. Selain itu, hubungan antara perubahan fraksi TAG, khususnya SUS, dengan perubahan SFC pada berbagai kondisi suhu dan waktu reaksi belum dijelaskan secara komprehensif. *Research gap* tersebut menunjukkan perlunya kajian yang tidak hanya mengevaluasi keberhasilan EIE berdasarkan perubahan TAG, tetapi juga mengaitkannya dengan perubahan

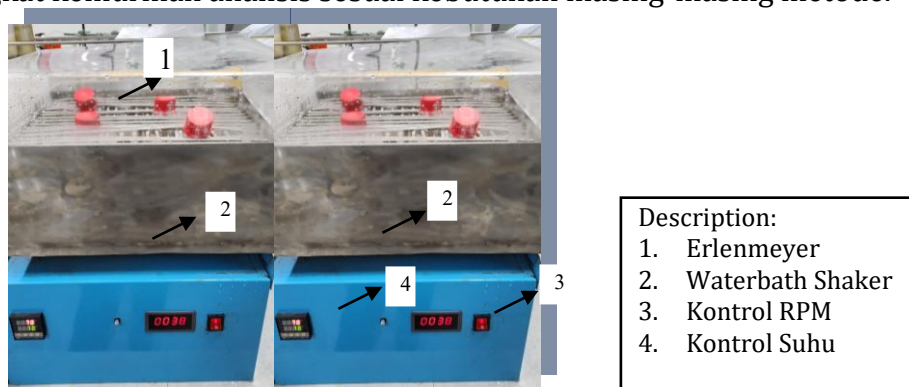
karakteristik fisik dan stabilitas oksidatif minyak. Pendekatan tersebut penting untuk memahami kondisi proses yang menghasilkan redistribusi TAG sekaligus perubahan karakteristik fisik minyak.

Berdasarkan *research gap* tersebut, penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh suhu dan waktu reaksi terhadap redistribusi TAG pada minyak sawit melalui proses EIE menggunakan lipase spesifik *sn*-1,3. Penelitian dilakukan menggunakan sistem *batch reactor* dengan variasi suhu 43, 60, dan 77°C serta waktu reaksi 2,5; 6; dan 9,5 jam, dengan konsentrasi enzim ditetapkan sebesar 4% (b/b terhadap minyak). Perubahan distribusi fraksi SSS, SUS, SUU, dan UUU dianalisis serta dikaitkan dengan nilai SFC dan PV. Penelitian ini diharapkan dapat menjelaskan hubungan antara kondisi proses, redistribusi TAG, karakteristik fisik, dan stabilitas oksidatif minyak sawit setelah EIE.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *refined bleached deodorized palm oil* (RBDPO) yang diperoleh dari kawasan industri Rungkut, Surabaya, dan enzim lipase spesifik *sn*-1,3 Lipozyme TL IM (Novonesis). Lipozyme TL IM digunakan sebagai biokatalis dengan konsentrasi 4% (b/b terhadap minyak). Bahan kimia dan pelarut yang digunakan untuk analisis *fatty acid methyl ester* (FAME), *triacylglycerol* (TAG), dan *peroxide value* (PV) merupakan bahan dengan tingkat kemurnian analisis sesuai kebutuhan masing-masing metode.



Gambar 1. Rangkaian Interifikasi Enzim

Peralatan utama yang digunakan untuk proses *enzymatic interesterification* (EIE) adalah *water bath with magnetic stirrer* yang digunakan sebagai reaktor dan sistem pengendali suhu sekaligus pengadukan. Pengadukan dilakukan secara konstan pada kecepatan 250 rpm. *Water bath* yang digunakan berasal dari Huber, sedangkan oven yang digunakan adalah Memmert. Pemisahan enzim dari minyak setelah proses EIE dilakukan menggunakan kertas saring.

Karakterisasi minyak dilakukan menggunakan *gas chromatography-flame ionization detector* (GC-FID; Young In, Chrozen GC) untuk analisis FAME dan TAG. Analisis *solid fat content* (SFC) dilakukan menggunakan *nuclear magnetic resonance* (NMR) SFC Analyzer (Bruker, mq one SFC Analyzer). Analisis FAME dan TAG menggunakan kondisi kromatografi yang berbeda sesuai dengan karakteristik analit dan kolom yang digunakan.

2.2 Proses Enzymatic Interesterification

Proses *enzymatic interesterification* (EIE) dilakukan menggunakan sistem *batch* dengan *water bath with magnetic stirrer* sebagai media pemanasan dan pengadukan. RBDPO dimasukkan ke dalam reaktor dan dipanaskan hingga mencapai suhu reaksi yang ditentukan. Setelah suhu tercapai, Lipozyme TL IM ditambahkan sebanyak 4% (b/b terhadap minyak), kemudian campuran diaduk secara konstan pada kecepatan 250 rpm.

Variasi suhu reaksi yang digunakan adalah 43, 60, dan 77°C, sedangkan waktu reaksi yang digunakan adalah 2,5; 6; dan 9,5 jam. Selama proses berlangsung, suhu dijaga tetap sesuai dengan kondisi perlakuan dan pengadukan dilakukan pada 250 rpm. Setelah waktu reaksi tercapai, campuran segera dipisahkan dari enzim menggunakan kertas saring. Minyak hasil EIE kemudian disimpan pada suhu $\leq 23^{\circ}\text{C}$ hingga dilakukan analisis lebih lanjut.

2.3 Analisis Karakteristik Lipid

2.3.1 Analisis Komposisi Asam Lemak

Komposisi asam lemak dianalisis dalam bentuk *fatty acid methyl ester* (FAME) menggunakan GC-FID (Young In, Chrozen GC). Preparasi FAME dilakukan melalui proses metilasi sampel minyak sebelum dianalisis menggunakan kromatografi gas.

Analisis FAME dilakukan menggunakan kolom kapiler Rt-2560 (Restek) dengan panjang kolom 100 m, diameter dalam 0,25 mm, dan ketebalan film 0,20 μm . Suhu injektor ditetapkan pada 250°C dan suhu detektor pada 280°C. Sistem injeksi menggunakan mode *split* 1:10 dengan volume injeksi 1 μL .

Program suhu oven dimulai pada 60°C dan dipertahankan selama 1 menit, kemudian dinaikkan dengan laju 10°C/menit hingga mencapai 180°C. Suhu selanjutnya dinaikkan dengan laju 2°C/menit hingga mencapai 230°C dan dipertahankan selama 6 menit. Hasil analisis digunakan untuk menentukan komposisi asam lemak pada RBDPO sebelum dan setelah proses EIE.

2.3.2 Analisis Distribusi Triacylglycerol (TAG)

Distribusi TAG dianalisis menggunakan GC-FID (Young In, Chrozen GC) dengan kolom Rxi-65TG (Restek). Kolom yang digunakan memiliki panjang 30 m, diameter dalam 0,25 mm, dan ketebalan film 0,10 μm . Suhu injektor ditetapkan pada 350°C dan suhu detektor pada 365°C. Sistem injeksi menggunakan mode *split* 1:20 dengan volume injeksi 0,5 μL .

Program suhu oven dimulai pada 200°C dan dipertahankan selama 1 menit, kemudian dinaikkan dengan laju 20°C/menit hingga mencapai 350°C. Suhu selanjutnya dinaikkan dengan laju 1°C/menit hingga mencapai 365°C dan dipertahankan selama 6 menit.

Distribusi TAG dievaluasi berdasarkan kelompok tingkat kejenuhan, yaitu *saturated-saturated-saturated* (SSS), *saturated-unsaturated-saturated* (SUS), *saturated-unsaturated-unsaturated* (SUU), dan *unsaturated-unsaturated-unsaturated* (UUU). Perubahan proporsi masing-masing fraksi digunakan untuk mengevaluasi redistribusi TAG selama proses EIE.

2.3.3 Analisis Solid Fat Content (SFC)

Karakteristik fisik minyak sebelum dan setelah proses EIE dianalisis berdasarkan nilai *solid fat content* (SFC) menggunakan *nuclear magnetic resonance*

(NMR) SFC Analyzer (Bruker, mq one SFC Analyzer). Pengukuran SFC dilakukan pada suhu 30, 35, dan 40°C. Nilai SFC digunakan untuk mengevaluasi perubahan proporsi fase padat minyak sebagai akibat dari redistribusi TAG selama proses EIE.

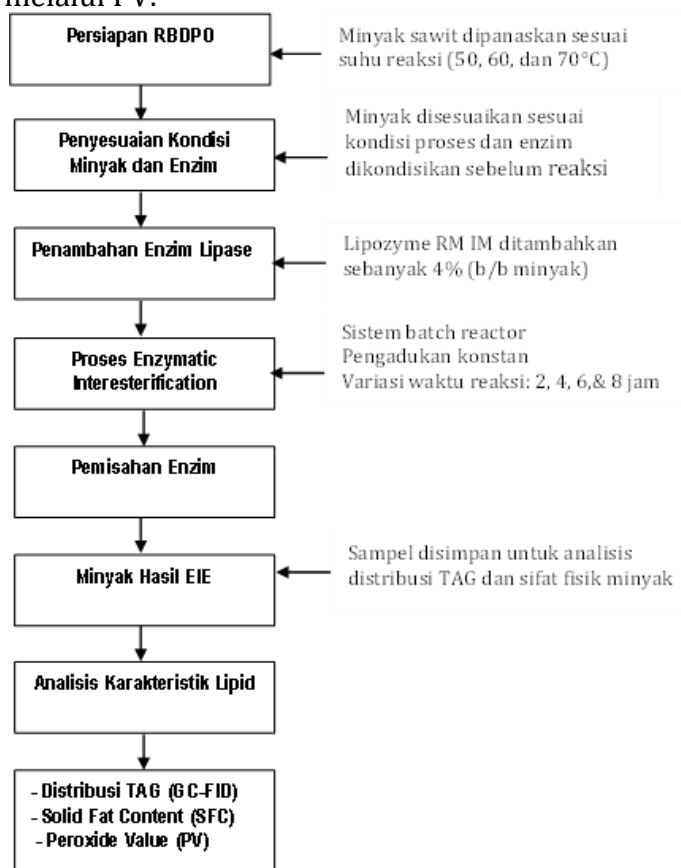
2.3.4 Analisis Peroxide Value (PV)

Stabilitas oksidatif minyak sebelum dan setelah proses EIE dievaluasi berdasarkan *peroxide value* (PV). Analisis PV dilakukan menggunakan metode titrasi sesuai AOCS Cd 8-53. Nilai PV dinyatakan sebagai meq O₂/kg minyak dan digunakan sebagai indikator pembentukan produk oksidasi primer selama proses EIE.

2.4 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif untuk mengevaluasi pengaruh suhu dan waktu reaksi terhadap perubahan distribusi TAG, khususnya fraksi SUS, serta perubahan SFC dan PV. Untuk evaluasi pengaruh suhu, digunakan data pada waktu reaksi 6 jam dengan konsentrasi enzim tetap 4%, sedangkan pengaruh waktu dievaluasi pada suhu 60°C dengan konsentrasi enzim tetap 4%. Data pada kondisi waktu 6 jam yang memiliki replikasi digunakan untuk memperoleh nilai rata-rata sebagai representasi kondisi center point.

Data yang dianalisis dalam artikel ini merupakan subset dari rancangan percobaan CCD yang terdiri atas 20 run, dengan pemilihan data dibatasi pada perlakuan dengan konsentrasi enzim 4% (b/b terhadap minyak). Pembatasan ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh suhu dan waktu reaksi secara lebih spesifik pada konsentrasi enzim yang sama. Analisis difokuskan pada perubahan distribusi TAG, khususnya fraksi SUS, serta karakteristik fisik melalui SFC dan stabilitas oksidatif melalui PV.



Gambar 2. Diagram Alir Proses EIE

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Redistribusi Triasilgliserol Setelah Enzymatic Interesterification

Proses *enzymatic interesterification* (EIE) menyebabkan perubahan distribusi triasilgliserol (TAG) pada minyak sawit, yang ditunjukkan oleh perubahan proporsi fraksi *saturated-saturated-saturated* (SSS), *saturated-unsaturated-saturated* (SUS), *saturated-unsaturated-unsaturated* (SUU), dan *unsaturated-unsaturated-unsaturated* (UUU). RBDPO sebelum perlakuan didominasi oleh fraksi SUU sebesar 40,31%, diikuti fraksi SUS sebesar 38,80%, sedangkan fraksi SSS dan UUU masing-masing sebesar 5,70% dan 7,57%. Setelah proses EIE, fraksi SSS berada pada rentang 5,76–8,02%, SUS sebesar 34,54–41,12%, SUU sebesar 34,99–39,94%, dan UUU sebesar 5,29–6,99%. Perubahan proporsi tersebut menunjukkan bahwa proses EIE menyebabkan redistribusi gugus asil pada molekul TAG sehingga menghasilkan profil TAG yang berbeda dibandingkan RBDPO awal. Penggunaan lipase spesifik *sn*-1,3 memungkinkan pertukaran gugus asil terutama pada posisi *sn*-1 dan *sn*-3, meskipun migrasi asil (*acyl migration*) dapat terjadi selama proses dan memengaruhi distribusi TAG yang dihasilkan (Zhang et al., 2021a; Zhou et al., 2021)

Tabel 1. Profil fraksi TAG RBDPO sebelum dan setelah proses EIE

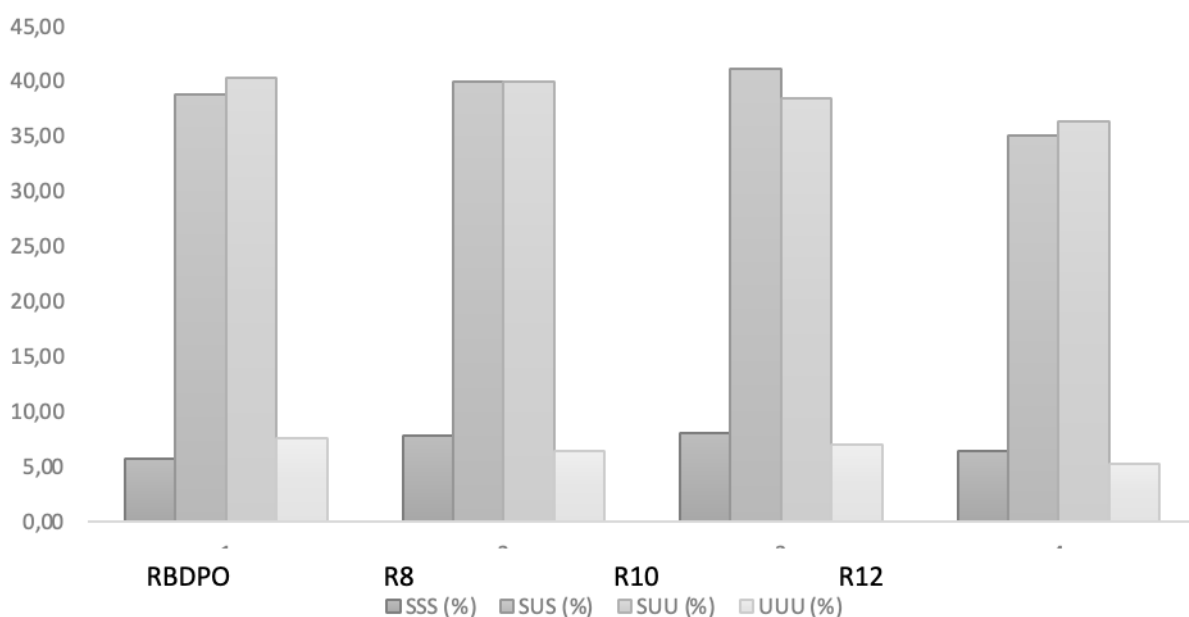
Sampel	Suhu (°C)	Enzim (%)	Waktu (jam)	SSS (%)	SUS (%)	SUU (%)	UUU (%)
RBDPO Non-EIE	–	–	–	5,70	38,80	40,31	7,57
R1	60	4	2,5	6,33	37,07	36,40	6,39
R2	60	4	9,5	6,00	34,54	34,99	6,03
R3	60	4	6	6,32	36,38	36,23	5,29
R4	60	4	6	6,19	35,56	35,86	6,13
R5	60	4	6	6,28	35,48	35,78	6,14
R6	60	4	6	5,76	34,62	35,20	6,05
R7	43	4	6	7,71	38,77	39,26	6,78
R8	43	4	6	7,86	40,02	39,94	6,48
R9	43	4	6	7,78	38,32	38,88	6,95
R10	77	4	6	8,02	41,12	38,50	6,99
R11	77	4	6	7,00	39,39	38,55	6,01
R12	77	4	6	6,42	35,12	36,36	5,29

RBDPO sebelum EIE memiliki fraksi SUU sebesar 40,31% dan SUS sebesar 38,80%, sedangkan fraksi SSS dan UUU masing-masing sebesar 5,70% dan 7,57%. Setelah EIE, fraksi SSS berada pada rentang 5,76–8,02%, SUS sebesar 34,54–41,12%, SUU sebesar 34,99–39,94%, dan UUU sebesar 5,29–6,99%. Rentang tersebut menunjukkan bahwa proses EIE menghasilkan perubahan distribusi TAG pada seluruh perlakuan, meskipun besarnya perubahan berbeda sesuai kondisi suhu dan waktu reaksi. Perubahan komposisi TAG setelah EIE merupakan indikasi terjadinya redistribusi asam lemak pada molekul TAG selama proses interesterifikasi (Zhang et al., 2021; Zhou et al., 2021).

Fraksi SUS mengalami perubahan yang cukup nyata setelah EIE, dengan nilai tertinggi sebesar 41,12% pada R10 dan terendah sebesar 34,54% pada R2.

Dibandingkan RBDPO awal sebesar 38,80%, peningkatan SUS terlihat pada R7, R8, R9, R10, dan R11, sedangkan beberapa perlakuan lainnya menunjukkan penurunan. Fraksi SSS juga meningkat hingga 8,02% pada R10, menunjukkan bahwa redistribusi TAG tidak hanya menghasilkan TAG dengan kombinasi asam lemak jenuh dan tidak jenuh, tetapi juga dapat meningkatkan proporsi TAG jenuh. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa perubahan TAG selama EIE bersifat bergantung pada kondisi reaksi dan tidak selalu menghasilkan pola perubahan yang sama pada setiap fraksi.

Perubahan distribusi TAG selanjutnya dapat memengaruhi sifat fisik minyak, karena struktur TAG berhubungan dengan perilaku kristalisasi dan pelelehan lipid. Perubahan proporsi TAG dengan tingkat kejenuhan yang berbeda dapat menyebabkan perubahan kandungan lemak padat pada suhu tertentu. Dengan demikian, redistribusi TAG merupakan salah satu parameter penting untuk mengevaluasi keberhasilan modifikasi lipid melalui EIE, terutama ketika minyak hasil modifikasi diarahkan untuk aplikasi pada produk berbasis lemak plastis seperti margarin dan shortening (Singh et al., 2022; Zhang et al., 2021).



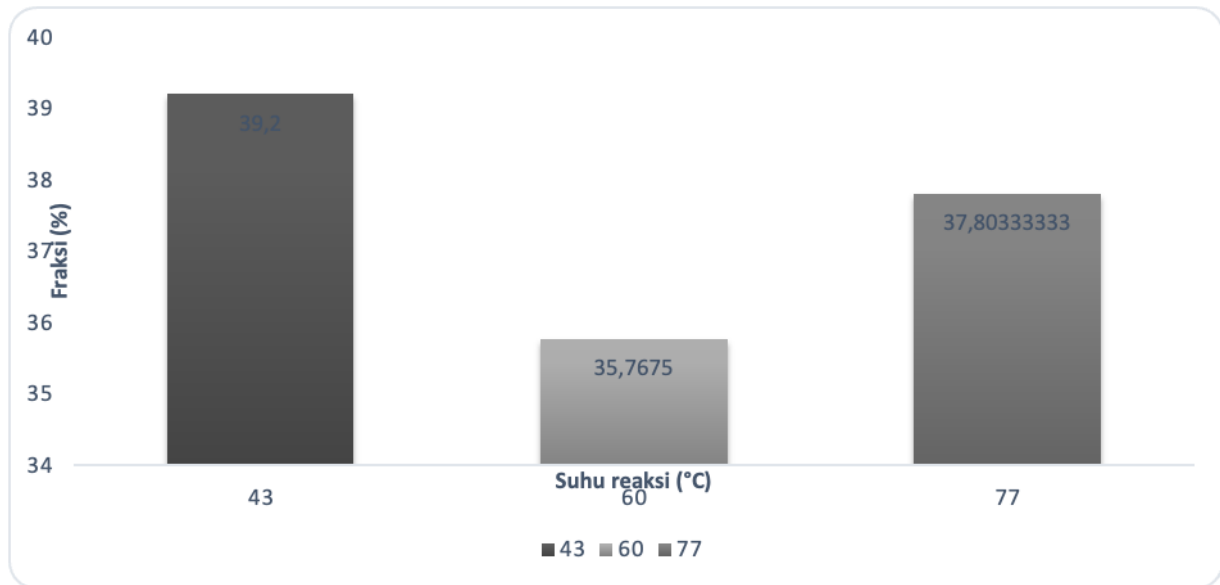
Gambar 3. Distribusi TAG RBDPO sebelum dan setelah proses EIE

Sampel R8, R10, dan R12 dipilih untuk mewakili perubahan distribusi TAG pada beberapa kondisi reaksi yang berbeda sehingga tren redistribusi trigliserida setelah proses EIE dapat diamati secara lebih jelas

3.2 Pengaruh Suhu Reaksi terhadap Distribusi TAG

Suhu reaksi merupakan salah satu faktor yang memengaruhi aktivitas lipase dan proses redistribusi asam lemak selama *enzymatic interesterification* (EIE). Pada penelitian ini, pengaruh suhu dievaluasi pada waktu reaksi tetap selama 6 jam dan konsentrasi Lipozyme TL IM sebesar 4% (b/b terhadap minyak), dengan suhu reaksi 43, 60, dan 77°C. Evaluasi difokuskan pada perubahan distribusi TAG, terutama fraksi saturated-unsaturated-saturated (SUS), karena fraksi ini menggambarkan pembentukan TAG yang mengandung kombinasi asam lemak

jenuh dan tidak jenuh. Pengaruh suhu terhadap distribusi TAG ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 4. Pengaruh suhu reaksi terhadap fraksi SUS setelah EIE

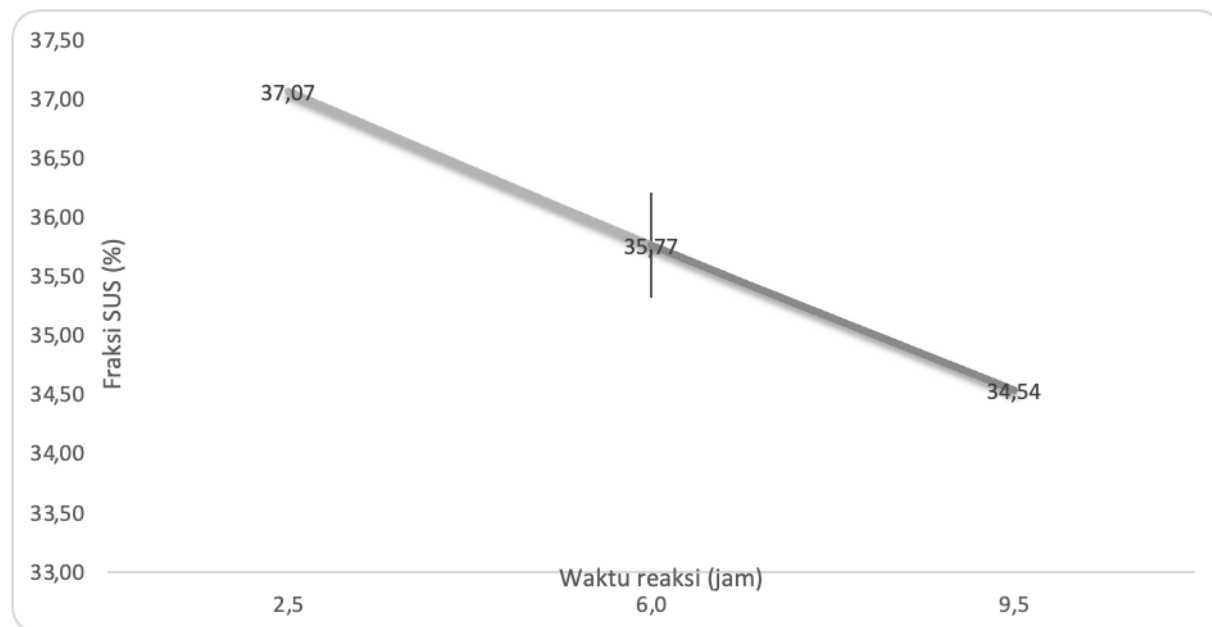
Berdasarkan hasil penelitian, rata-rata fraksi SUS pada suhu 43, 60, dan 77°C masing-masing sebesar 39,04%; 35,51%; dan 38,54%. Pada suhu 43°C, fraksi SUS relatif tinggi, sedangkan pada suhu 60°C terjadi penurunan menjadi 35,51%. Ketika suhu dinaikkan menjadi 77°C, fraksi SUS kembali meningkat hingga 38,54%. Pola tersebut menunjukkan bahwa perubahan fraksi SUS tidak meningkat atau menurun secara linear terhadap kenaikan suhu, tetapi menunjukkan respons yang berbeda pada setiap kondisi reaksi.

Pada suhu 43°C, nilai SUS yang relatif tinggi menunjukkan bahwa redistribusi TAG telah berlangsung pada kondisi suhu tersebut. Penurunan fraksi SUS pada 60°C menunjukkan bahwa perubahan TAG tidak hanya ditentukan oleh peningkatan suhu, tetapi juga oleh keseimbangan antara aktivitas enzim, selektivitas lipase, dan kemungkinan terjadinya redistribusi lanjutan selama reaksi. Pada suhu 77°C, peningkatan kembali fraksi SUS dapat menunjukkan terjadinya redistribusi asam lemak yang lebih intensif, tetapi kondisi suhu yang lebih tinggi juga dapat meningkatkan kemungkinan *acyl migration* dan mengurangi spesifisitas posisi lipase (Zhang et al., 2021; Zhou et al., 2021). Dengan demikian, suhu reaksi memberikan pengaruh terhadap distribusi TAG, tetapi pengaruh tersebut tidak menunjukkan hubungan linear sederhana.

Selain fraksi SUS, perubahan suhu juga memengaruhi fraksi SSS dan SUU. Rata-rata fraksi SSS pada suhu 43, 60, dan 77°C masing-masing sebesar 7,78%; 6,15%; dan 7,15%, sedangkan fraksi SUU masing-masing sebesar 39,36%; 35,74%; dan 37,80%. Pola perubahan tersebut menunjukkan bahwa redistribusi TAG berlangsung pada berbagai tingkat kejenuhan dan tidak terbatas pada pembentukan fraksi SUS. Perubahan komposisi TAG akibat EIE selanjutnya dapat memengaruhi sifat fisik minyak, termasuk kandungan lemak padat dan karakteristik pelelehannya.

3.3 Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Distribusi TAG

Waktu reaksi merupakan faktor penting yang menentukan tingkat redistribusi asam lemak pada molekul triasilgliserol (TAG) selama *enzymatic interesterification* (EIE). Pada penelitian ini, pengaruh waktu reaksi dievaluasi pada suhu tetap 60°C dengan konsentrasi Lipozyme TL IM sebesar 4% (b/b terhadap minyak). Waktu reaksi yang digunakan adalah 2,5; 6; dan 9,5 jam, dengan kondisi 6 jam direplikasi pada empat percobaan (*center point*). Evaluasi perubahan waktu reaksi difokuskan pada fraksi saturated-unsaturated-saturated (SUS) sebagai salah satu indikator perubahan distribusi TAG.



Gambar 5. Pengaruh waktu reaksi terhadap fraksi SUS

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan waktu reaksi cenderung menurunkan fraksi SUS. Nilai SUS pada waktu reaksi 2,5 jam sebesar 37,07%, sedangkan rata-rata pada waktu 6 jam sebesar 35,51% dan pada 9,5 jam sebesar 34,54%. Dengan demikian, terjadi penurunan fraksi SUS sebesar 2,53 poin persentase dari 2,5 menjadi 6 jam dan sebesar 0,97 poin persentase dari 6 menjadi 9,5 jam. Penurunan tersebut menunjukkan bahwa perpanjangan waktu reaksi menyebabkan perubahan lebih lanjut pada distribusi TAG selama EIE.

Pada tahap awal reaksi, pertukaran asam lemak berlangsung melalui aktivitas katalitik lipase sehingga susunan TAG mengalami perubahan. Seiring bertambahnya waktu reaksi, redistribusi dapat berlangsung lebih lanjut dan menyebabkan perubahan pada TAG yang telah terbentuk sebelumnya. Pada penggunaan lipase spesifik *sn*-1,3, reaksi yang berlangsung lebih lama juga dapat meningkatkan peluang terjadinya *acyl migration*, sehingga perubahan TAG tidak sepenuhnya terbatas pada posisi *sn*-1 dan *sn*-3 (Zhang et al., 2021; Zhou et al., 2021). Hal tersebut dapat menjelaskan kecenderungan penurunan fraksi SUS yang diamati pada penelitian ini.

Namun, perubahan fraksi SUS tidak dapat digunakan sebagai satu-satunya indikator untuk menentukan tingkat keberhasilan EIE. Redistribusi TAG juga ditunjukkan oleh perubahan fraksi SSS, SUU, dan UUU serta perubahan karakteristik fisik minyak yang selanjutnya dievaluasi melalui nilai *solid fat content* (SFC). Oleh karena itu,

pengaruh waktu reaksi terhadap hasil EIE perlu dipertimbangkan bersama perubahan distribusi TAG secara keseluruhan dan karakteristik fisik minyak.

3.4 Perubahan *Solid Fat Content* (SFC)

Perubahan distribusi TAG selama proses *enzymatic interesterification* (EIE) dapat memengaruhi karakteristik fisik minyak, salah satunya ditunjukkan melalui nilai *solid fat content* (SFC). SFC menggambarkan proporsi lemak yang berada dalam fase padat pada suhu tertentu sehingga dapat digunakan untuk mengevaluasi perubahan karakteristik pelelehan minyak setelah modifikasi lipid. Pada penelitian ini, SFC diukur pada suhu 30, 35, dan 40°C untuk membandingkan karakteristik fisik RBDPO sebelum dan setelah EIE. Nilai SFC RBDPO awal masing-masing sebesar 8,80%; 5,83%; dan 3,44% pada suhu 30, 35, dan 40°C.

Tabel 2. Nilai SFC dan *Peroxide Value* (PV) RBDPO sebelum dan setelah proses EIE

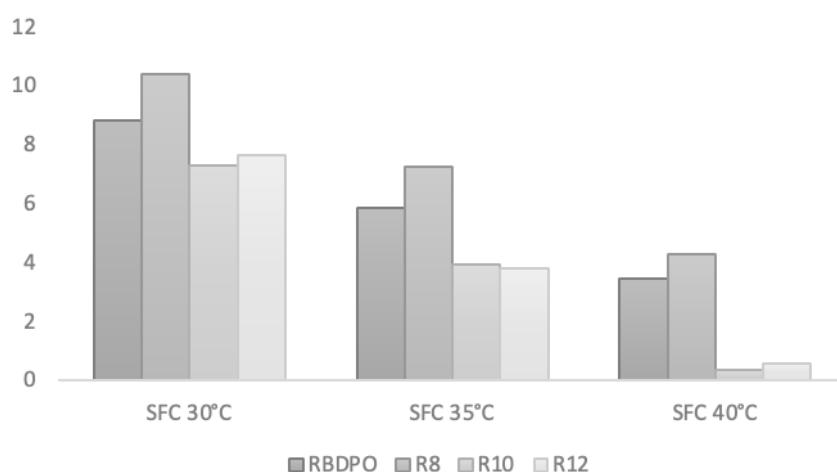
Kode	Suhu (°C)	Konsentrasi (%)	Waktu (jam)	SFC30 (%)	SFC35 (%)	SFC40 (%)	PV (meq O ₂ /kg)
RBDPO Non-EIE	–	–	–	8,80	5,83	3,44	0,6910
R1	60	4	2,5	7,87	4,99	2,86	1,7589
R2	60	4	9,5	7,07	4,26	1,60	2,4733
R3	60	4	6	7,43	4,71	2,32	1,9874
R4	60	4	6	7,74	4,95	2,14	2,1324
R5	60	4	6	7,67	4,56	2,26	1,8269
R6	60	4	6	7,23	4,42	1,96	2,1582
R7	43	4	6	9,88	6,96	3,44	0,2690
R8	43	4	6	10,38	7,23	4,28	1,0630
R9	43	4	6	10,40	6,88	4,06	0,9582
R10	77	4	6	7,30	3,94	0,33	3,9736
R11	77	4	6	7,73	4,81	1,83	4,0142
R12	77	4	6	7,62	3,79	0,58	4,0278

Setelah EIE, perubahan SFC menunjukkan pola yang bergantung pada kondisi suhu dan waktu reaksi. Pada suhu 60°C selama 6 jam, rata-rata SFC30, SFC35, dan SFC40 masing-masing sebesar 7,52%; 4,66%; dan 2,17%, lebih rendah dibandingkan RBDPO awal. Pada suhu 43°C selama 6 jam, nilai rata-rata SFC meningkat menjadi 10,22%; 7,02%; dan 3,93%, sedangkan pada suhu 77°C selama 6 jam masing-masing sebesar 7,55%; 4,18%; dan 0,91%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perubahan SFC tidak hanya ditentukan oleh terjadinya EIE, tetapi juga dipengaruhi oleh kondisi suhu reaksi.

Perubahan paling nyata terlihat pada SFC40. Pada suhu reaksi 43°C, SFC40 rata-rata sebesar 3,93%, sedangkan pada 60°C menurun menjadi 2,17% dan pada 77°C turun lebih lanjut menjadi 0,91%. Nilai terendah diperoleh pada R10 sebesar 0,33%, sedangkan nilai tertinggi setelah EIE diperoleh pada R8 sebesar 4,28%. Penurunan SFC pada suhu pengukuran yang lebih tinggi menunjukkan berkurangnya proporsi lemak padat yang bertahan pada suhu tersebut, yang berkaitan dengan perubahan distribusi TAG selama EIE.

Pada kondisi suhu 60°C, peningkatan waktu reaksi juga menunjukkan perubahan SFC yang sejalan dengan perubahan distribusi TAG. SFC40 menurun dari 2,86% pada waktu 2,5 jam menjadi rata-rata 2,17% pada 6 jam dan 1,60% pada 9,5 jam. Sementara itu, SFC35 menurun dari 4,99% menjadi 4,66% dan 4,26% pada waktu reaksi yang sama. Kecenderungan tersebut menunjukkan bahwa perpanjangan waktu reaksi pada 60°C dapat menghasilkan perubahan TAG yang menyebabkan semakin rendahnya fraksi lemak padat pada suhu pengukuran 35 dan 40°C.

Secara keseluruhan, hasil SFC menunjukkan bahwa EIE menghasilkan perubahan karakteristik fisik RBDPO yang bergantung pada kondisi proses. Perubahan distribusi TAG selama interesterifikasi dapat memengaruhi perilaku kristalisasi dan karakteristik pelelehan lipid karena TAG dengan komposisi dan susunan asam lemak yang berbeda memiliki sifat termal yang berbeda pula (Biswas et al., 2018; Ebrahimi, Farmani and Bahmaei, 2017; Gong et al., 2024). Namun, berdasarkan data SFC saja, perubahan tersebut lebih tepat dinyatakan sebagai perubahan karakteristik pelelehan dan kandungan lemak padat, bukan langsung sebagai peningkatan atau penurunan plastisitas. Evaluasi plastisitas secara langsung memerlukan parameter tambahan seperti kekerasan, konsistensi, atau sifat reologi.



Gambar 6. Perubahan SFC setelah perlakuan EIE

Penurunan SFC pada suhu pengukuran 35 dan 40°C menunjukkan perubahan karakteristik pelelehan dan kandungan lemak padat minyak setelah EIE. Perubahan tersebut berkaitan dengan redistribusi TAG selama proses interesterifikasi.

3.5 Stabilitas Oksidatif (*Peroxide Value*)

Nilai *peroxide value* (PV) digunakan untuk mengevaluasi pembentukan produk oksidasi primer pada minyak sebelum dan setelah proses EIE. RBDPO awal memiliki nilai PV sebesar 0,691 meq O₂/kg, sedangkan minyak hasil EIE menunjukkan nilai PV sebesar 0,269–4,0278 meq O₂/kg. Nilai PV terendah diperoleh pada R7 sebesar 0,269 meq O₂/kg, sedangkan nilai tertinggi diperoleh pada R12 sebesar 4,0278 meq O₂/kg. Perbedaan nilai tersebut menunjukkan bahwa kondisi proses EIE dapat memengaruhi pembentukan produk oksidasi primer pada minyak.

Pengaruh suhu terhadap PV terlihat lebih jelas ketika data dikelompokkan berdasarkan kondisi reaksi selama 6 jam. Rata-rata PV pada suhu 43, 60, dan 77°C masing-masing sebesar 0,7634; 2,0262; dan 4,0052 meq O₂/kg, sedangkan PV

RBDPO awal sebesar 0,691 meq O_2 /kg. Dengan demikian, peningkatan suhu reaksi diikuti oleh peningkatan nilai PV, terutama pada suhu 77°C. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa paparan suhu yang lebih tinggi selama proses EIE dapat meningkatkan pembentukan hidroperoksida sebagai produk oksidasi primer lipid (Pang et al., 2019; Zhang et al., 2021).

Selain suhu, waktu reaksi juga menunjukkan kecenderungan memengaruhi nilai PV pada suhu 60°C. Nilai PV meningkat dari 1,7589 meq O_2 /kg pada 2,5 jam menjadi rata-rata 2,0262 meq O_2 /kg pada 6 jam dan 2,4733 meq O_2 /kg pada 9,5 jam. Kecenderungan peningkatan PV dengan bertambahnya waktu menunjukkan bahwa durasi pemanasan dan pengadukan selama EIE dapat berkontribusi terhadap pembentukan produk oksidasi primer. Oleh karena itu, pengendalian suhu dan waktu reaksi penting dalam EIE untuk memperoleh perubahan struktur TAG yang diinginkan dengan tetap membatasi pembentukan produk oksidasi.

Hasil PV juga menunjukkan bahwa perubahan sifat fisik setelah EIE perlu dipertimbangkan bersama aspek kestabilan oksidatif. Kondisi 77°C menghasilkan perubahan SFC40 yang paling rendah, tetapi pada saat yang sama menghasilkan nilai PV rata-rata paling tinggi. Hal tersebut menunjukkan adanya trade-off antara perubahan karakteristik fisik dan pembentukan produk oksidasi primer pada kondisi suhu tinggi. Dengan demikian, kondisi suhu yang lebih tinggi tidak dapat langsung dianggap sebagai kondisi terbaik hanya berdasarkan perubahan distribusi TAG atau SFC, tetapi perlu dipertimbangkan bersama perubahan PV.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, enzymatic interesterification (EIE) menggunakan Lipozyme TL IM pada konsentrasi 4% (b/b terhadap minyak) memengaruhi profil fraksi triasilgliserol (TAG) RBDPO, yang ditunjukkan oleh perubahan fraksi SSS, SUS, SUU, dan UUU. Pengaruh suhu reaksi pada waktu 6 jam menunjukkan bahwa fraksi SUS pada suhu 43, 60, dan 77°C masing-masing sebesar 39,04%; 35,51%; dan 38,54%. Pola tersebut menunjukkan bahwa peningkatan suhu tidak menghasilkan perubahan fraksi SUS secara linear, sehingga redistribusi TAG dipengaruhi oleh kondisi suhu reaksi dan karakteristik reaksi enzimatik.

Peningkatan waktu reaksi pada suhu 60°C menyebabkan penurunan fraksi SUS dari 37,07% pada 2,5 jam menjadi 35,51% pada 6 jam dan 34,54% pada 9,5 jam. Hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu reaksi memengaruhi redistribusi TAG dan bahwa perpanjangan waktu reaksi menghasilkan perubahan lebih lanjut pada profil TAG.

Perubahan distribusi TAG juga diikuti oleh perubahan karakteristik fisik dan stabilitas oksidatif minyak. Pada waktu reaksi 6 jam, peningkatan suhu reaksi dari 43 menjadi 77°C menyebabkan rata-rata SFC40 menurun dari 3,93% menjadi 0,91%, sedangkan rata-rata PV meningkat dari 0,7634 menjadi 4,0052 meq O_2 /kg. Hasil tersebut menunjukkan adanya hubungan antara kondisi EIE, perubahan karakteristik pelelehan minyak, dan pembentukan produk oksidasi primer. Dengan demikian, suhu dan waktu reaksi merupakan parameter penting dalam mengendalikan redistribusi TAG dan karakteristik minyak hasil EIE, tetapi peningkatan suhu perlu dipertimbangkan terhadap peningkatan pembentukan produk oksidasi.

4. Ucapan Terima Kasih

Para penulis menyampaikan terima kasih atas dukungan finansial yang diberikan oleh Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) atas nama Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Indonesia, yang dikelola melalui Program EQUITY (Kontrak No. 4299/B3/DT.03.08/2025 & No. 3029/PKS/ITS/2025).

References

- Bandara, R.R., Louis-Gavet, C., Bryś, J., Mańko-Jurkowska, D., Górska, A., Brzezińska, R., Siol, M., Makouei, S., Palani, B.K., Obranović, M. and Koczoń, P. (2024) 'Enzymatic interesterification of coconut and hemp oil mixtures to obtain modified structured lipids', *Foods*, 13(17), p. 2722. doi: 10.3390/foods13172722.
- Biswas, N., Cheow, Y.L., Tan, C.P. and Siow, L.F. (2018) 'Physicochemical properties of enzymatically produced palm-oil-based cocoa butter substitute (CBS) with cocoa butter mixture', *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120, p. 1700205. doi: 10.1002/ejlt.201700205.
- Dian, N.L.H.M., Sahri, M.M., Tan, C.P., Lee, Y.Y. and Lai, O.M. (2018) 'Optimisation of enzymatic directed interesterification of palm oil for high yield of triunsaturated triacylglycerol using response surface methodology', *Journal of Oil Palm Research*, 30(4), pp. 602–616. doi: 10.21894/jopr.2018.0050.
- Ebrahimi, L., Farmani, J. and Bahmaei, M. (2017) 'Description of melting curves of enzymatically interesterified blends of fully hydrogenated palm olein and soybean oil by sigmoidal functions', *Food Bioscience*, 17, pp. 29–34. doi: 10.1016/j.fbio.2016.12.003.
- Gong, J., Shu, N., Sun, X., Cao, X., Liu, Y. and Xu, Y.-J. (2024) 'Development of solid fat content-based predictive model for margarine formula design', *Journal of Oil Palm Research*, 36(4), pp. 728–738. doi: 10.21894/jopr.2023.0057.
- Hasibuan, H.A. (2022) 'The synthesis of sn-2 palmitate as human milk fat substitute from palm oil fractions by enzymatic interesterification – a review', *Journal of Oil Palm Research*, 34(4), pp. 608–621. doi: 10.21894/jopr.2022.0045.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C. and Anderson-Cook, C.M. (2016) *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. 4th edn. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
- Norizzah, A.R., Kamarulzaman, N.A. and Omar, Z. (2018) 'Influence of enzymatic and chemical interesterification on crystallisation properties of refined, bleached and deodourised (RBD) palm oil and RBD palm kernel oil blends', *Food Research International*, 106, pp. 982–991. doi: 10.1016/j.foodres.2018.02.001.
- Pang, M., Ge, Y., Cao, L., Cheng, J., Wang, X. and others (2019) 'Physicochemical properties, crystallization behavior and oxidative stabilities of enzymatic interesterified fats of beef tallow, palm stearin and camellia oil blends', *Journal of Oleo Science*, 68(2), pp. 131–139. doi: 10.5650/jos.ess18201.
- Sivakanthan, S. and Madhujith, T. (2020) 'Current trends in applications of enzymatic interesterification of fats and oils: a review', *LWT*, 132, p. 109880. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109880.
- Zhang, Z., Lee, W.J., Xie, X., Ye, J., Tan, C.P., Lai, O.M., Li, A. and Wang, Y. (2021) 'Enzymatic interesterification of palm stearin and palm olein blend catalyzed by sn-1,3-specific lipase: interesterification degree, acyl migration, and physical properties', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(32), pp. 9056–9066. doi: 10.1021/acs.jafc.0c06297.
- Zhang, Z., Ye, J., Lee, W.J., Akoh, C.C., Li, A. and Wang, Y. (2021) 'Modification of palm-based oil blend via interesterification: physicochemical properties, crystallization

Yulia Rahmawati, Tri Widjaja, Siti Nurkhamidah
nurkhamidah@its.ac.id: Evaluasi Kinerja Absorber Formaldehyde Plant

behaviors and oxidative stabilities', *Food Chemistry*, 347, p. 129070. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129070.

Zhang, Z., Lee, W.J., Sun, X. and Wang, Y. (2022) 'Enzymatic interesterification of palm olein in a continuous packed bed reactor: effect of process parameters on the properties of fats and immobilized *Thermomyces lanuginosus* lipase', *LWT*, 162, p. 113459. doi: 10.1016/j.lwt.2022.113459