

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR PUBLIKASI.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xix
INTISARI.....	xx
ABSTRACT.....	xxi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang dan Permasalahan.....	1
1.1.1. Latar Belakang	1
1.1.2. Rumusan Permasalahan	6
1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	7
1.2.1. Tujuan Penelitian	7
1.2.2. Manfaat Penelitian	8
1.3. Kebaruan Penelitian	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Palm Stearin dan Palm Olein.....	10
2.2. Lipase	14
2.2.1. Jenis dan spesifisitas lipase	14
2.2.2. <i>Candida antarctica</i> Lipase B	16
2.2.3. Amobilisasi Lipase.....	17
2.3. <i>Cocoa Butter</i> , <i>Cocoa Butter Alternative</i> , dan <i>Cocoa Butter Replacers</i> .	22
2.4. Lipida Terstruktur, Monoasilgliserol dan Diasilgliaserol	28
2.4.1. Lipida Terstruktur	28
2.4.2. Sifat, Pemanfaatan Monoasilgliserol dan Diasilgliaserol	30
2.4.3. Metode untuk Produksi MAG dan DAG	34

2.5.	Gliserolisis Enzimatis.....	39
2.6.	Interesterifikasi Enzimatis	43
2.7.	Gliserolisis-Interesterifikasi	45
2.7.1.	Gliserolisis-interesterifikasi untuk sintesis lipida terstruktur.....	45
2.7.2.	<i>Batch stirred tank reaktor</i> dan pengaduk untuk proses gliserolisis- interesterifikasi enzimatis.....	49
2.8.	Landasan Teori	53
2.9.	Hipotesis	57
2.10.	Matriks hubungan antara rumusan masalah, tujuan, hipotesis, dan pendekatan metode.....	58
BAB III METODE PENELITIAN.....		60
3.1.	Bahan dan Alat Penelitian	60
3.2.	Pelaksanaan Penelitian	61
3.2.1.	Penelitian Tahap I. Amobilisasi Lipase <i>C. antarctica</i> B (CAL-B) pada matriks Amberlite IRA-96 free base termodifikasi hidrofobik	63
3.2.2.	Penelitian Tahap II. Gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein untuk sintesis lipida terstruktur (SLs) kaya MAG dan DAG	66
3.2.3.	Penelitian Tahap III. Sintesis lipida terstruktur kaya MAG dan DAG melalui gliserolisis-interesterifikasi enzimatis pada berbagai rasio palm stearin : palm olein dan evaluasi kompatibilitasnya dengan <i>cocoa butter</i>	75
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		82
4.1.	Tahap I. Amobilisasi <i>C. antarctica</i> Lipase pada Matriks Amberlite Termodifikasi Hidrofobik	82
4.1.1.	Pengaruh waktu modifikasi matriks secara hidrofobik terhadap protein teradsorpsi, aktivitas hidrolitik, dan aktivitas esterifikasi <i>C. antarctica</i> lipase teramobil	82
4.1.2.	Pengaruh konsentrasi lipase terhadap protein teradsorpsi, aktivitas hidrolitik, dan aktivitas esterifikasi <i>C. antarctica</i> lipase teramobil	85
4.1.3.	Pengaruh waktu adsorpsi terhadap protein teradsorpsi, aktivitas hidrolitik, dan aktivitas esterifikasi <i>C. antarctica</i> lipase teramobil	87
4.1.4.	Kesimpulan	89
4.2.	Tahap II. Gliserolisis-interesterifikasi Enzimatis Campuran Palm Stearin dan Palm Olein.....	90
4.2.1.	Pengaruh jenis pengaduk terhadap konsentrasi MAG, DAG, dan TAG pada gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein.....	90

4.2.2.	Pengaruh rasio pelarut : substrat terhadap konsentrasi MAG, DAG, dan TAG pada gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein	94
4.2.3.	Pengaruh rasio molar gliserol : lemak terhadap konsentrasi MAG, DAG, dan TAG pada gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein	96
4.2.4.	Pengaruh konsentrasi lipase teramobil terhadap konsentrasi MAG, DAG, dan TAG pada gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein	99
4.2.5.	Kesimpulan	102
4.3.	Tahap III. Sintesis Lipida Terstruktur Kaya MAG dan DAG Melalui Gliserolisis-Interesterifikasi Enzimatis pada Berbagai Rasio Palm Stearin dan Palm Olein.....	103
4.3.1.	Komposisi MAG, DAG, dan TAG hasil gliserolisis-interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO	103
4.3.2.	Komposisi asam lemak hasil gliserolisis-interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO	104
4.3.3.	Slip melting point dan Melting Point	106
4.3.4.	Profil pelelehan dan kristalisasi	107
4.3.5.	Solid fat content	112
4.3.6.	Hardness	115
4.3.7.	Polimorfisme	116
4.3.8.	Microstructure dan morfologi kristal	119
4.3.9.	Profil asam lemak asilgliserol (MAG, DAG, TAG) dan regiospesifitas posisi asam lemak pada PS-PO blend dan SLs	121
4.3.10.	Kesimpulan.....	124
4.4.	Kompatibilitas SLs dengan <i>cocoa butter</i>	125
4.4.1.	Komposisi asam lemak pada CB, SLs, dan campurannya	125
4.4.2.	Profil pelelehan dan kristalisasi	127
4.4.3.	Solid fat content	129
4.4.4.	Isothermal solid diagram.....	131
4.4.5.	Hardness	132
4.4.6.	Polimorfisme	134
4.4.7.	<i>Microstructure</i>	136
4.4.8.	Kesimpulan	140
4.5.	Pembahasan Umum	140
BAB V.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	148

5.1. Kesimpulan.....	148
5.2. Saran	149
RINGKASAN	151
SUMMARY	166
DAFTAR PUSTAKA	180
LAMPIRAN.....	195

DAFTAR TABEL

No	Judul Tabel	Halaman
Tabel 1.1.	Kebaruan penelitian dibandingkan penelitian sebelumnya.....	9
Tabel 2.1.	Komposisi asam lemak dan profil TAG palm stearin dan palm olein	11
Tabel 2.2.	Metode preparasi dan karakteristik enzim amobil	20
Tabel 2.3.	<i>Cocoa butter alternatives</i> : contoh, komposisi, dan sifat-sifatnya ..	26
Tabel 2.4.	Matriks hubungan antara rumusan masalah, tujuan, hipotesis, dan pendekatan metode	58
Tabel 3.1.	Parameter analisis penelitian Tahap I	66
Tabel 3.2.	Parameter analisis penelitian Tahap II	73
Tabel 3.3.	Parameter analisis penelitian Tahap III	78
Tabel 3.4.	Parameter analisis kompatibilitas lemak kaya MAG dan DAG dengan <i>cocoa butter</i>	81
Tabel 4.1.	Kecepatan konversi TAG pada berbagai jenis pengaduk	91
Tabel 4.2.	Kecepatan konversi TAG pada berbagai rasio pelarut terhadap substrat	95
Tabel 4.3.	Kecepatan konversi TAG pada berbagai rasio molar gliserol terhadap lemak	97
Tabel 4.4.	Kecepatan konversi TAG pada berbagai konsentrasi lipase.....	100
Tabel 4.5.	Komposisi MAG, DAG, dan TAG dalam PS-PO blends dan lipida terstruktur (SLs) pada berbagai rasio PS:PO. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam	103
Tabel 4.6.	Komposisi asam lemak <i>cocoa butter</i> (CB) dan SLs pada berbagai rasio PS-PO. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam	105

Tabel 4.7. <i>Slip melting point</i> (SMP) dan <i>melting point</i> (MP) pada PS-PO blends, SLs pada berbagai rasio PS:PO, dan CB. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam	106
Tabel 4.8. Komposisi asam lemak asilgliserol (MAG, DAG, TAG) dan regiospesifisitas posisi asam lemak pada PS-PO blend dan SLs rasio PS:PO (40:60 b/b). Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam	122
Tabel 4.9. Komposisi asam lemak pada CB, SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan campuran SLs-CB	126

DAFTAR GAMBAR

No	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1.	Reaksi antara matriks <i>macroporous</i> dengan 2-fenilpropionaldehid.....	21
Gambar 2.2.	Skema reaksi gliserolisis untuk produksi	37
Gambar 2.3.	Representasi skematik dari mekanisme sekuensial Bi-Bi yang berurutan untuk reaksi gliserolisis enzimatis. E enzim, G gliserol, TAG triasilgliserol, DAG diasilgliserol, MAG monoasilgliserol, enzim $A \times B \times C$ -substrat kompleks	37
Gambar 2.4.	Mekanisme katalitik lipase untuk interesterifikasi pada sisi aktif yang mengandung residu asp/glu, his, dan ser.....	44
Gambar 3.1.	Skema penelitian secara keseluruhan	64
Gambar 3.2.	Diagram alir tahap amobilisasi lipase <i>C. antarctica</i> pada matriks amberlite termodifikasi hidrofobik	64
Gambar 3.3.	Jenis pengaduk pada proses gliserolisis menggunakan <i>Batch Stirred Tank Reactor</i> (BSTR)	68
Gambar 3.4.	Diagram alir gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein pada berbagai jenis pengaduk	68
Gambar 3.5.	Diagram alir gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein pada berbagai rasio pelarut : substrat	70
Gambar 3.6.	Diagram alir gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein pada berbagai rasio molar gliserol : lemak	71
Gambar 3.7.	Diagram alir gliserolisis-interesterifikasi enzimatis campuran palm stearin dan palm olein pada berbagai konsentrasi lipase	73
Gambar 3.8.	Diagram alir sintesis SLs kaya MAG dan DAG melalui gliserolisis-interesterifikasi enzimatis pada berbagai rasio palm stearin : palm olein	77
Gambar 4.1.	Pengaruh waktu reaksi modifikasi permukaan matriks terhadap protein teradsorpsi, aktivitas hidrolitik dan aktivitas	

esterifikasi dari <i>C. antarctica</i> lipase teramobil. Adsorpsi dilakukan pada konsentrasi enzim 60 Unit/mL, 30°C selama 1 jam	83
Gambar 4.2. Pengaruh konsentrasi enzim pada protein yang teradsorpsi, aktivitas hidrolitik dan aktivitas esterifikasi dari <i>C. antarctica</i> lipase teramobil. Matriks telah dimodifikasi secara hidrofobik selama 6 jam, adsorpsi dilakukan pada suhu 30°C selama 1 jam...	86
Gambar 4.3. Pengaruh waktu adsorpsi pada protein yang teradsorpsi, aktivitas hidrolitik dan aktivitas esterifikasi dari <i>C. antarctica</i> lipase teramobil. Matriks telah dimodifikasi secara hidrofobik selama 6 jam, adsorpsi dilakukan pada suhu 30°C, konsentrasi enzim 60 Unit/mL	88
Gambar 4.4. Pengaruh jenis pengaduk (persegi; bersirip; bentuk V) terhadap konsentrasi TAG; konsentrasi MAG; konsentrasi DAG. Gliserolisis-interesterifikasi dilakukan pada rasio PS:PO 60:40 b/b, rasio pelarut terhadap substrat 2:1 (v/b), rasio molar lemak terhadap gliserol 1:1,5, dan konsentrasi lipase teramobil 10% b/b (57,35 Unit/g lipase teramobil), suhu 50°C selama 24 jam	91
Gambar 4.5. Pengaruh rasio pelarut terhadap substrat (1,5:1; 2:1; 3:1) terhadap konsentrasi TAG; konsentrasi MAG; konsentrasi DAG. Gliserolisis-interesterifikasi dilakukan dengan pengaduk bersirip, rasio PS:PO 60:40 b/b, rasio molar lemak terhadap gliserol 1:1,5, dan konsentrasi lipase teramobil 10% b/b (57,35 Unit/g lipase teramobil), suhu 50°C selama 24 jam	95
Gambar 4.6. Pengaruh rasio molar gliserol:lemak (1:1; 1,5:1; 2:1; 2,5:1) terhadap konversi TAG; konsentrasi MAG; konsentrasi DAG. Gliserolisis-interesterifikasi dilakukan dengan pengaduk bersirip, rasio PS:PO 60:40 b/b, rasio pelarut terhadap substrat 2:1 v/b, dan konsentrasi lipase teramobil 10% b/b (57,35 Unit/g lipase teramobil), suhu 50°C selama 24 jam	97

- Gambar 4.7. Pengaruh konsentrasi lipase (10%; 15%; 15%) terhadap konversi TAG; konsentrasi MAG; konsentrasi DAG. Gliserolisis-interesterifikasi dilakukan dengan pengaduk bersirip, rasio PS:PO 60:40 b/b, rasio pelarut terhadap substrat 2:1 v/b, dan rasio molar gliserol:lemak 2:1 pada suhu 50°C selama 24 jam 100
- Gambar 4.8. Termogram dinamika kristalisasi (a) dan *melting* (b) pada CB, PS-PO blend, dan SLs berbagai rasio PS-PO. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam .. 108
- Gambar 4.9. *Solid fat content* pada PS-PO blend, SLs pada berbagai rasio PS-PO 30:70 (a), 40:60 (b), 50:50 (c), 60:40 (d), 70:30 (e), dan CB. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam 113
- Gambar 4.10. Nilai *hardness* pada CB, PS-PO blend, dan SLs pada berbagai rasio PS-PO pada suhu 25°C. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam .. 115
- Gambar 4.11. Diffractogram *cocoa butter* (CB), PS-PO blend, dan lipida terstruktur (SLs) dengan rasio PS-PO (40:60 b/b), pada suhu 25°C. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam 117
- Gambar 4.12. Gambar kristal hasil *Polarized Light Microscope* (A) dan morfologi permukaan kristal hasil *Scanning Electron Microscope* (B) pada PS-PO blend, SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan CB pada suhu 25°C. Gliserolisis-interesterifikasi menggunakan

pengaduk bersirip, rasio pelarut:substrat 2:1 v/b, rasio molar gliserol:lemak 2:1, konsentrasi lipase teramobil 15% b/b, suhu 50°C selama 24 jam	119
Gambar 4.13. Termogram dinamika kristalisasi (a) dan <i>melting</i> (b) pada <i>cocoa butter</i> (CB), SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan campuran SLs-CB	128
Gambar 4.14. <i>Solid fat content cocoa butter</i> (CB), SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan campuran SLs-CB sebagai fungsi suhu. CB (♦), SLs 10% (■), SLs 20% (▲), SLs 30% (x), SLs 40% (◇), SLs 50% (+), SLs 60% (□), dan SLs	130
Gambar 4.15. <i>Isothermal solid diagram SFC</i> pada <i>cocoa butter</i> (CB) dan campuran SLs-CB	131
Gambar 4.16. <i>Hardness</i> pada <i>cocoa butter</i> (CB), SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan campuran SLs-CB, pada suhu 25°C	133
Gambar 4.17. <i>Diffractogram cocoa butter</i> (CB), SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan campuran SLs-CB pada suhu 25°C	134
Gambar 4.18. Gambar kristal hasil <i>Polarized Light Microscope cocoa butter</i> (CB), SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan campuran SLs-CB pada suhu 25°C	137
Gambar 4.19. Morfologi permukaan kristal CB, SLs rasio PS:PO (40:60 b/b), dan campuran SLs-CB dengan SEM pada perbesaran 500x, pada suhu 25 °C	139
Gambar 4.20. Peta sintesis lipida terstruktur kaya MAG dan DAG sebagai <i>cocoa butter replacer</i>	147

DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Metode Analisis.....		195
Lampiran 1.1. Analisis protein terlarut.....		195
Lampiran 1.2. Analisis aktivitas hidrolisis lipase.....		195
Lampiran 1.3. Analisis aktivitas hidrolisis lipase.....		196
Lampiran 1.4. <i>Melting point</i> (AOCS method Cc 1-25).....		196
Lampiran 1.5. <i>Slip melting point</i> (AOCS method Cc. 3.25).....		197
Lampiran 1.6. Preparasi FAME dan analisis komposisi asam lemak.....		197
Lampiran 1.7. Analisis profil kristalisasi, profil pelelehan, dan <i>solid fat content</i>		197
Lampiran 1.8. Analisis polimorfisme dengan <i>X-Ray Diffraction</i>		198
Lampiran 1.9. Analisis <i>microstructure</i> dengan <i>polarised light microscope</i>		198
Lampiran 1.10. Analisis morfologi permukaan kristal dengan <i>scanning electron microscope</i>		198
Lampiran 1.11. Analisis <i>hardness</i>		199
Lampiran 1.12. Analisis regiospesifitas posisi asam lemak.....		199
Lampiran 2. Hasil dan Analisis Statistik.....		200
Lampiran 2.1. Kurva standar <i>bovine serum albumin</i> (BSA) dan asam oleat.....		200
Lampiran 2.2. Pengaruh waktu modifikasi matriks terhadap protein teradsorpsi, aktivitas hidrolisis, dan aktivitas esterifikasi lipase teramobil.....		201
Lampiran 2.3. Pengaruh konsentrasi lipase terhadap protein teradsorpsi, aktivitas hidrolisis, dan aktivitas esterifikasi lipase teramobil.....		202
Lampiran 2.4. Pengaruh waktu adsorpsi terhadap protein teradsorpsi, aktivitas hidrolisis, dan aktivitas esterifikasi lipase teramobil.....		204
Lampiran 2.5. Pengaruh jenis pengaduk terhadap konversi TAG menjadi MAG dan DAG.....		205

Lampiran 2.6. Pengaruh rasio pelarut : substrat terhadap konversi TAG menjadi MAG dan DAG.....	210
Lampiran 2.7. Pengaruh rasio molar gliserol : lemak terhadap konversi TAG menjadi MAG dan DAG.....	214
Lampiran 2.8. Pengaruh konsentrasi lipase terhadap konversi TAG menjadi MAG dan DAG.....	219
Lampiran 2.9. Profil gliserida (MAG, DAG, TAG) hasil gliserolisis- interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO.....	222
Lampiran 2.10. Komposisi asam lemak hasil gliserolisis interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO.....	225
Lampiran 2.11. <i>Slip melting point</i> dan <i>melting point</i> hasil gliserolisis- interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO.....	230
Lampiran 2.12. Termogram hasil gliserolisis interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO.....	234
Lampiran 2.13. <i>Solid fat content</i> hasil gliserolisis interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO.....	235
Lampiran 2.14. <i>Hardness</i> hasil gliserolisis interesterifikasi pada berbagai rasio PS:PO.....	236
Lampiran 2.15. Komposisi asam lemak CB, SLs, dan campuran CB-SLs....	238
Lampiran 2.16. Profil pelelehan dan kristalisasi CB, SLs, dan campuran CB- SLs.....	242
Lampiran 2.17. <i>Solid Fat Content</i> CB, SLs, dan campuran CB-SLs.....	243
Lampiran 2.18. <i>Isothermal solid diagram</i> kompatibilitas SLs terhadap CB..	243
Lampiran 2.19. <i>Hardness</i> CB, SLs, dan campuran CB-SLs.....	244

DAFTAR SINGKATAN

SLs	: <i>structured lipids</i>
CB	: <i>cocoa butter</i>
CBA	: <i>cocoa butter alternative</i>
CBR	: <i>cocoa butter replacer</i>
CBS	: <i>cocoa butter substitute</i>
MAG	: <i>monoasilglicerol</i>
DAG	: <i>diasilgliserol</i>
TAG	: <i>triasilgliserol</i>
PS	: <i>palm stearin</i>
PO	: <i>palm olein</i>
BSTR	: <i>batch stirred tank reactor</i>
SMP	: <i>slip melting point</i>
MP	: <i>melting point</i>
CAL-B	: <i>Candida antarctica lipase B</i>
PPA	: <i>2-phenylpropionaldehyde</i>
SFC	: <i>solid fat content</i>
TLC	: <i>thin layer chromatography</i>
DSC	: <i>differential scanning calorimeter</i>
XRD	: <i>X-ray diffraction</i>
PLM	: <i>polarized light microscope</i>
SEM	: <i>scanning electron microscope</i>