

## **Pola Sebaran dan Rendemen Hasil Gliserolisis Enzimatis Campuran CPO (*Crude Palm Oil*) dan PKO (*Palm Kernel Oil*)**

### ***Distribution Patterns and Rendemen of Enzymatic Glycerolysis Results Mixed CPO (*Crude Palm Oil*) and PKO (*Palm Kernel Oil*)***

**Fizzaria Khasbullah<sup>1\*</sup>, Murhadi<sup>2</sup>, Nurleni Kurniawati<sup>3</sup>, Bigi Undadraja<sup>4</sup>, dan Widia Rini Hartari<sup>5</sup>**

<sup>1,3,4</sup> Agroteknologi, Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Dharma Wacana Metro

<sup>2</sup> Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

<sup>5</sup> Perkebunan, Politeknik Negeri Lampung

\*Email : [fizzaria22@gmail.com](mailto:fizzaria22@gmail.com)

#### **ABSTRACT**

*Utilization of oil in the form of Monoacylglycerol (MAG) and Diacylglycerol (DAG) and their mixture, namely Mono-Diacylglycerol (M-DAG ) are used as raw materials for emulsifiers in the food industry. MAG synthesis can be carried out chemically and enzymatically. The glycerolysis process using lipase enzymes as biocatalysts requires relatively low energy and produces products with better quality. In this study, CPO and PKO were mixed in several ratios to produce a product with a regular distribution pattern (qualitative) and a high yield of glyceride fraction (quantitative). The enzymatic glycerolysis reaction will be perfect if most of the products are MAG and the distribution pattern has spots that spread regularly (not random/straight). The experiment was carried out with a single factor and two replications. The data are presented in the form of tables and histograms, then the results are discussed descriptively with two observations. The treatment factor, namely the ratio of mixed CPO and PKO consisting of 11 ratios of CPO and PKO. A mixture of CPO and PKO as much as 4 g was rotated at a speed of 300 rpm at a temperature of 40-45oC, When the temperature reaches 40-45oC, 0,190 g of powdered lipase from *Rhizopus arrhizus* is added. Glycerol (98%) was added 30 minutes after the addition of the enzyme as much as 0.88 g, then incubated for 24 hours. Analysis of the distribution pattern of the mass fraction of glycerol products (Rf), by spotting all products (11 ratios of mixture of CPO and PKO) on one Thin Layer Chromatography (TLC) plate parallel, eluted with a mixture of hexane/diethyl ether/formic acid, 80:20:0.5 (v/v/v) then evaporated with iodine, resulting in the distribution pattern of MAG, DAG, Free Fatty Acid (ALB), and Triacylglycerol (TAG). Analysis of the mass yield of glycerolysis products, by spotting each product resulting from glycerolysis on the TLC plate after the distribution pattern appears, each pattern is scraped and measured quantitatively. Based on the observations made, the distribution pattern on the TLC plate has spots that spread regularly (not random/straight). The Rf (Retardaction factor) value shows that from the closest to the product to the farthest is MAG, DAG, ALB, and TAG with Rf 0.01 respectively; 0,12; 0,31 and 0,57. The highest MAG yield was produced by CPO control (83,90%) followed by PKO control (74,90%) and a mixture of CPO-PKO with a ratio of 0,8 (73,71%). The highest yield of M-DAG was produced by a mixture of CPO-PKO with a ratio of 1,6 (93,21%) followed by CPO control (91,88%) and a ratio of 0,8 (73,71%).*

*Keywords: CPO, enzymatic glycerolysis, MAG, PKO, TLC.*



#### **Lisensi**

Ciptaan disebarluaskan di bawah Lisensi Creative Commons Atribusi-BerbagiSerupa 4.0 Internasional.

## PENDAHULUAN

Pemanfaatan minyak dalam industri pangan dan non-pangan semakin meningkat dengan semakin banyaknya temuan tentang proses sintesis oleokimia yang dapat diterapkan dalam skala industri. Trigliserida merupakan komponen terbesar pada minyak sawit (95%) yang terdiri dari tiga molekul asam lemak, masing-masing terhubung melalui ikatan ester ke salah satu dari tiga gugus OH dari molekul gliserol (Mamuaja, 2017). Mostafa *et al.*, 2013; Rane *et al.*, (2016) menambahkan bahwa dalam esterifikasi gliserol akan menghasilkan produk meliputi Monoasilgliserol (MAG), Diasilgliserol (DAG) dan Triasilgliserol (TAG). MAG dan DAG dibutuhkan hampir semua jenis produk makanan. Penggunaan utamanya meliputi produk roti, margarin, makanan ringan, dan makanan penutup beku. Monoasilgliserol dan DAG digunakan sebagai bagian dari produk lemak dan sering dikaitkan dengan pengemulsi lainnya. Sifat lipofilik menyebabkan MAG dan DAG memiliki sifat yang sangat baik sebagai emulsifier dalam sistem water in oil (w/o), seperti yang dipersyaratkan dalam pembuatan margarin dan *shortening* (Latip *et al.*, 2013; Saberi *et al.*, 2012; Subroto *et al.*, 2021).

Sintesis MAG dapat dilakukan secara kimia dan enzimatis. Selama beberapa tahun terakhir, banyak cara telah dilakukan untuk menghasilkan MAG yang tinggi dengan menggunakan bahan kimia dan enzim sebagai katalis. Gliserolisis kimia pada suhu tinggi memiliki beberapa kelemahan, seperti produk berwarna gelap dan konsumsi energi yang tinggi. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa gliserolisis kimia minyak dan lemak dapat menghasilkan MAG dan DAG masing-masing sekitar 45-55% dan 38-45% (Damstrup *et al.*, 2005). Kisaran konsentrasi MAG yang didapatkan pada reaksi gliserolisis kimiawi minyak sawit dengan katalis NaOH 0,3%, rasio molar minyak:gliserol (1: 2), suhu 240°C, 60 menit sebesar 58%. Pada katalis CuO-nano+NaOH 0,3%, rasio molar minyak:gliserol (1: 2), suhu 240°C, 40 menit sebesar 71% (Ong *et al.*, 2016). Proses gliserolisis menggunakan enzim lipase sebagai biokatalis memerlukan energi yang relatif rendah serta menghasilkan produk dengan kualitas yang lebih baik. Proses tersebut juga aman karena bekerja pada suhu kamar dan tekanan 1 atm (Zhong *et al.*, 2013). Keunggulan lain penggunaan lipase dalam industri makanan adalah reaksi hidrolisis yang dikatalisis bersifat spesifik. Menurut Luna dkk., (2011) rendemen produk MAG hasil esterifikasi enzimatis sebesar 81,09±2,99% dengan komposisi MAG 83,15±3,51%. Secara umum kelemahan gliserolisis enzimatis adalah rendahnya konsentrasi keseimbangan gliserolisis TAG, sehingga perlu dicari kondisi reaksi terbaik yang menghasilkan produk optimal.

Untuk memperoleh emulsifier yang memiliki sifat pengemulsi yang baik diperlukan HLB (*Hidrofilik Lipofilik Balance*) <9 yang berarti kelarutannya dalam fase minyak lebih tinggi dari pada kelarutannya dalam fase air. Dalam hal ini MAG, dengan rantai asil yang bersifat lebih hidrofob (non-polar) atau lebih panjang dari 12, misalnya palmitat (C 16) dan oleat (C 18), yang dominan dalam CPO, diperkirakan memenuhi HLB tersebut. Untuk memperoleh sifat antibakteri yang baik diperlukan rantai asil dari gliserida yang sama dengan atau kurang dari 12 (laurat) yang terdapat dalam PKO (Akpomie *et al.*, 2020; Harahap dkk., 2015; Khasbullah dkk., 2013; Silalahi dan Suryanto, 2014). Untuk itu, gliserolisis campuran CPO dan PKO diduga akan menghasilkan produk dengan porsi MAG dan DAG yang bersifat sebagai pengemulsi yang baik dan juga disertai oleh sifat antibakteri.

Reaksi gliserolisis enzimatis akan sempurna apabila sebagian besar produk adalah MAG, namun hal ini memerlukan kondisi reaksi yang sangat tepat, yaitu perbandingan TAG dan gliserol (Singh and Mukhopadhyay, 2012; Subroto dkk., 2021), jenis enzim dan lama gliserolisis (Affandi dkk., 2017; Jamlus *et al.*, 2016; Naik *et al.*, 2014), jenis pelarut (Majid dan Cheirsilp, 2012), serta suhu (Jamlus *et al.*, 2016; Zakwan dkk., 2021). Untuk mengetahui apakah reaksi gliserolisis dengan kondisi reaksi enzimatis yang digunakan menghasilkan produk dengan pola sebaran teratur dan rendemen fraksi gliserida yang tinggi, maka dilakukan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) secara kualitatif dan kuantitatif.

## METODE PENELITIAN

**Bahan dan Alat.** Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah CPO dan PKO segar. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis antara lain enzim lipase (EC 3.1.1.3) komersial dari *Rhizopus arrhizus* diperoleh dari Sigma Chemical Co., gliserol murni (98%), lempeng KLT silika gel 60 F<sub>254</sub>, dietil eter, heksan, asam formiat, iodium, dan aluminium foil.

Alat-alat yang digunakan antara lain termometer, oven analitik, timbangan analitik, sentrifius, cawan porselen, magnetik stirrer, eppendorf, botol gelap, refrigerator, kain saring, chamber glass, dan alat-alat gelas penunjang lainnya.

**Metode Penelitian.** Metode penelitian adalah eksperimen. Analisis data yang digunakan adalah analisis deskriptif (faktor tunggal; dua ulangan) yang disajikan dalam bentuk tabel dan atau histogram, kemudian dibahas secara deskriptif. Faktor perlakuannya adalah nisbah campuran antara CPO dengan PKO, yang terdiri dari 11 taraf (Tabel 1).

Nisbah yang digunakan dalam proses gliserolisis enzimatis campuran CPO dan PKO adalah 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8 dan dua kontrol (nisbah 0). Nisbah 0,2 hingga 0,8 merupakan campuran CPO dan PKO, dimana fraksi CPO yang lebih kecil dari pada fraksi PKO. Nisbah 1,0 fraksi CPO sama dengan fraksi CPO. Nisbah 1,2 hingga 1,8 fraksi CPO lebih besar dari pada fraksi PKO. Nisbah dalam selang yang sempit bertujuan agar perbedaan dari setiap sampel dapat mudah dilihat dan disimpulkan dengan tepat.

Tabel 1. Nisbah campuran CPO dan PKO

Nisbah	CPO (g)	PKO (g)	Keterangan
Kontrol	0.00	4.00	PKO>CPO
0,2	0.67	3.33	PKO>CPO
0,4	1.14	2.76	PKO>CPO
0,6	1.50	2.50	PKO>CPO
0,8	1.77	2.23	PKO>CPO
1,0	2.00	2.00	PKO=CPO
1,2	2.18	1.82	PKO<CPO
1,4	2.33	1.67	PKO<CPO
1,6	2.46	1.54	PKO<CPO
1,8	2.57	1.43	PKO<CPO
Kontrol	4.00	0.00	PKO<CPO

**Gliserolisis enzimatis.** Substrat (bahan baku) gliserolisis enzimatis dibuat dengan 11 nisbah campuran CPO dan PKO yang telah disaring. Pada proses gliserolisis sejumlah 4 g minyak (CPO+PKO) dimasukkan ke dalam botol bertutup berwarna coklat. Sampel diletakkan di atas magnetik stirrer dengan kecepatan putar 300 rpm yang berada di dalam kotak kardus yang telah dikondisikan sedemikian rupa dengan 4 lampu 5 Watt dan blower, hingga suhu dapat mencapai 40-45°C.

Penambahan lipase bubuk sebanyak 0,190 g dengan ketentuan 500 Unit/g minyak, dilakukan ketika suhu telah mencapai 40-45°C. Gliserol (98%) sebanyak 0,88 g ditambahkan 30 menit setelah penambahan lipase bubuk. Produk hasil gliserolisis diambil setelah masa inkubasi selama 24 jam. Produk tersebut disimpan pada suhu kamar untuk kemudian dianalisis sebaran fraksi massa produk hasil gliserolisis.

**Analisis pola sebaran fraksi massa produk gliserolisis.** Identifikasi pola sebaran produk gliserolisis dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Seluruh produk hasil gliserolisis enzimatis ditotolkan pada lempeng KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> (20x20 cm) menggunakan "spotting capiler". Jarak garis batas atas dan bawah dari tepi lempeng KLT adalah 1 cm dan 2 cm. Lempeng KLT kemudian dielusi dalam chamber yang berisi eluen berupa campuran heksana/dietil eter/asam formiat, 80:20:0,5 (v/v/v)

hingga sampai ke garis batas atas KLT. Spot yang terpisah pada KLT ditampakkan dengan penampak uap iodium.

Masing-masing spot diidentifikasi dengan membandingkan pada standar yang telah diketahui dan ditentukan secara kualitatif dengan mengukur Rf masing-masing spot. Spot pada KLT diukur dari batas garis bawah. Nilai Rf dapat dicari dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak X}}{\text{Jarak total}}$$

Keterangan:

Jarak X : Jarak antara garis batas bawah KLT dengan titik tengah spot.

Jarak total : Jarak antara garis batas bawah KLT dengan garis batas atas KLT.

**Analisis rendemen massa produk gliserolisis.** Identifikasi produk gliserolisis dilanjutkan dengan analisis kuantitatif. Produk gliserolisis enzimatis ditotolkan pada lempeng KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> (20x20 cm) menggunakan "spotting capiler" dengan penotolan melebar (2,5 cm) dan memanjang (18 cm) dengan jarak antar sampel sejauh 2 cm. Jarak garis batas atas dan bawah dari tepi lempeng KLT adalah 1 cm dan 2 cm. Lempeng KLT dielusi dalam chamber yang berisi eluen berupa campuran heksana/dietil eter/asam formiat, 80:20:0,5 (v/v/v) hingga sampai ke garis batas atas KLT. Spot yang terpisah pada KLT ditampakkan dengan penampak spot uap iodium.

Spot-spot yang terbentuk diberi tanda dengan pensil untuk memperjelas area fraksi-fraksi yang telah terpisah. Spot diukur secara kuantitatif dengan cara mengerik spot yang telah terbentuk. Spot MAG dikerik dan diekstrak dengan dietil eter, spot DAG dikerik dan diekstrak dengan pelarut heksana/dietil eter dengan perbandingan 3: 2 (v/v), spot TAG sisa dan ALB diekstrak dengan pelarut heksan. Perbandingan antara hasil kerikan dengan pelarut adalah sebesar 1: 1 (v/v). Ekstrak yang diperoleh dibebaskan dari pelarut dengan pemisahan menggunakan sentrifius dan kemudian dipanaskan dalam oven analitik 100°C hingga berat konstan. Fraksi massa setiap spot dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Fraksi massa (\%)} \text{ komponen} = \frac{\text{Berat X}}{\text{Berat total}} \times 100\%$$

Keterangan:

Berat : Berat masing-masing spot produk gliserolisis.

Berat total : Berat keseluruhan spot produk gliserolisis.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Produk Gliserolisis.** Produk gliserolisis yang dihasilkan terdiri dari dua bentuk, yaitu padat dan cair. Bentuk padat adalah bentuk dari pembekuan dari minyak (CPO/PKO) akibat penyimpanan. Sebelum digunakan untuk analisis KLT, hasil gliserolisis yang berbentuk padat harus dicairkan/dipanaskan pada suhu di atas suhu kamar, sehingga produk gliserolisis dapat tercampur sempurna untuk dianalisis.

**Pola Sebaran Produk Gliserolisis.** Produk gliserolisis menunjukkan spot-spot pada lempeng KLT yang memiliki nilai Rf (*Retardation factor*) tertinggi hingga terendah, yang setelah dibandingkan dengan spot standar berturut-turut adalah TAG, ALB, DAG, dan MAG dan memiliki rata-rata Rf berturut-turut 0,57; 0,31; 0,12; 0,01. Perbedaan Rf dari keempat jenis hasil gliserolisis dari 11 nisbah CPO dan PKO tidak begitu jauh, ditunjukkan oleh rata-rata Rf dan standar deviasi masing-masing. Rf hasil gliserolisis dapat dilihat pada Tabel 2.

Terdapat 2 spot yang menempel pada DAG. Hal tersebut berkemungkinan disebabkan oleh kandungan asam lemak yang berbeda pada CPO dan PKO, seperti palmitat, oleat, laurat, miristat, dan lain-lain yang tergabung pada molekul DAG.

Tabel 2. Rf rata-rata hasil gliserolisis dari seluruh nisbah CPO/PKO

Nisbah	MAG (cm)	DAG (cm)	ALB (cm)	TAG (cm)
K. PKO	0,01	0,11	0,35	0,56
0,2	0,02	0,12	0,32	0,55
0,4	0,01	0,01	0,30	0,56
0,6	0,01	0,11	0,31	0,57
0,8	0,02	0,11	0,30	0,56
1,0	0,02	0,12	0,32	0,57
1,2	0,02	0,12	0,29	0,56
1,4	0,01	0,11	0,30	0,57
1,6	0,01	0,12	0,31	0,57
1,8	0,02	0,13	0,35	0,6
K. CPO	0,01	0,13	0,31	0,57
Rata-rata	0,01	0,12	0,31	0,57

Keterangan:

- MAG : Monoasilgliserol
- DAG : Diasilgliserol
- ALB : Asam Lemak Bebas
- TAG : Triasilgliserol

TAG adalah fraksi yang memiliki sifat non polar lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya (ALB, DAG, MAG), sehingga pada saat pengembangan, TAG akan terelusi lebih dulu pada bagian atas lempeng KLT dan disusul oleh ALB dan fraksi yang lebih polar, berturut-turut DAG, dan MAG. Sifat polar yang dimiliki KLT dapat menahan produk yang bersifat polar, sehingga produk yang non polar akan terelusi oleh pelarut. Pola sebaran yang beraturan menandakan bahwa polaritas dari produk gliserolisis berbagai nisbah CPO dan PKO tidak berbeda atau tangan gliserol diisi oleh asam lemak yang tidak berbeda polaritasnya. Spot TAG dan ALB yang masih ada (sisa) menunjukkan bahwa gliserolisis campuran CPO dan PKO berjalan parsial atau mungkin karena rendahnya selektivitas lipase dari *Rhizopus arrhizus* pada derajat esterifikasi tertentu, sehingga pada umumnya hasil gliserolisis terdiri dari campuran MAG, DAG dan TAG. Pola sebaran masing-masing nisbah CPO/PKO untuk analisis rendemen dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pola sebaran Kromatografi Lapis Tipis dari seluruh nisbah ulangan 1 (kiri) dan ulangan 2 (kanan)

**Rendemen Produk Gliserolisis.** Pada penelitian ini, gliserolisis berlangsung parsial yang ditunjukkan oleh TAG yang masih tersisa, sehingga produksi MAG dan DAG tidak maksimal. Untuk memaksimalkan rendemen diperlukan pengaturan kondisi reaksi yang menggeser keseimbangan reaksi kearah pembentukan MAG. Secara kuantitatif, rendemen suatu fraksi dilihat bukan hanya dari besarnya spot, tetapi bisa dari warna spot yang terdapat pada lempeng KLT,. Semakin kuning warna spot, maka rendemennya semakin tinggi dan juga sebaliknya semakin muda/pudar warna spot, menunjukkan rendemennya juga semakin rendah.

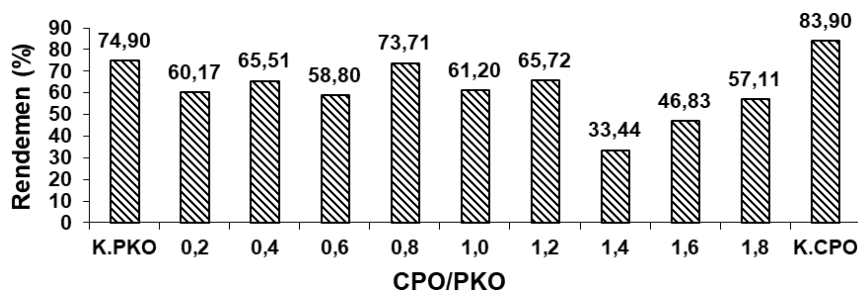
Produk gliserolisis yang dihasilkan cukup bervariasi antar nisbah, yaitu MAG antara 33-83 %, DAG 7-46%, ALB 2-14%, TAG sisa 1-38%, dan M-DAG 58-93%. Gliserolisis campuran CPO dan PKO menghasilkan MAG rata-rata sebesar 61,94%, DAG 22,98%, ALB 6,91%, TAG sisa 8,17% dan, M-DAG 84,91%. Menurut penelitian Majid dan Cheirsilp (2012), rendemen MAG 74,3%. Penelitian Panji dkk. (2019), menghasilkan rendemen MAG sebesar 29,22%, DAG 34,49%, dan TAG sisa 33,88%. Jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilaporkan, rendemen MAG yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi dari yang dilaporkan oleh Majid and Cheirsilp (2012) dan Panji dkk. (2019). Sedangkan untuk rendemen DAG yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen DAG Panji dkk. (2019). Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan ezim dan pelarut yang digunakan Majid and Cheirsilp (2012) dan Panji dkk. (2019) dalam mensintesis MAG dan DAG dengan cara gliserolisis enzimatis. Enzim yang digunakan secara berturut-turut yaitu Enzim lipase dari bakteri *Pseudomonas sp* dengan pelarut organik dan enzim lipase dari *Rhizopus Oryzae* (amobil) tanpa pelarut, sedangkan penelitian ini tanpa pelarut.

Produk gliserolisis dengan nisbah 0,8 merupakan nisbah campuran CPO/PKO yang terbaik. Hal tersebut disebabkan karena rendemen MAG adalah rendemen tertinggi, yang diikuti dengan rendemen DAG, ALB dan TAG sisa yang seimbang. Pada nisbah 0,8, rendemen yang dihasilkan pada ulangan 1 dan ulangan 2 memiliki perbedaan yang cukup tinggi.

Produktivitas proses gliserolisis produk MAG-DAG lebih besar dari ALB yang hanya berkisar antara 2-13% dan TAG sisa 1-38%, menunjukkan bahwa dengan kondisi reaksi yang diterapkan, gliserolisis parsial berjalan hampir sempurna.

**Rendemen MAG.** Komposisi MAG merupakan salah satu variabel yang dijadikan parameter penting dalam menentukan kualitas emulsifier yang umumnya berupa campuran MAG-DAG. Pada kondisi optimum diharapkan rendemen MAG yang dihasilkan sangat tinggi. Pada Gambar 2, rendemen MAG tertinggi terdapat pada kontrol CPO (83,90%). Lipase spesifik 1,3 menghidrolisis TAG pada asam lemak jenuh, terutama pada palmitat dan stearat dengan baik. Lipase spesifik akan menghidrolisis ikatan ester pada posisi 1,3 sehingga hasil yang terbentuk adalah asam lemak, monoasilgliserol (MAG) dan diasilgliserol (DAG). Secara teoretis jika nilai perbandingan DAG/TAG lebih besar dari ALB/TAG maka lipase tersebut spesifik 1,3-gliserida (Panji dkk., 2008). Rendemen terendah terdapat pada produk nisbah 1,4 (33,44%), hal tersebut mungkin dikarenakan rantai asam lemak tidak teresterifikasi sempurna oleh gliserol dan atau dipengaruhi oleh spesifisitas lipase pada derajat esterifikasi tertentu, sehingga produk yang dihasilkan tidak optimal. Rendemen rata-rata MAG dari seluruh nisbah sebesar 61,94%.

Pada produk yang memiliki nisbah CPO>PKO, yaitu nisbah 1,2 hingga 1,8 rendemen MAG mengalami penurunan pada nisbah 1,4 kemudian kembali naik pada nisbah 1,6. Secara umum, MAG yang dihasilkan oleh nisbah CPO>PKO lebih rendah dari pada nisbah CPO<PKO, yaitu nisbah 0,2 hingga 0,8. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh esterifikasi asam lemak CPO pada gliserol yang kurang baik, sehingga MAG yang dihasilkan dari beberapa nisbah tidak optimal.

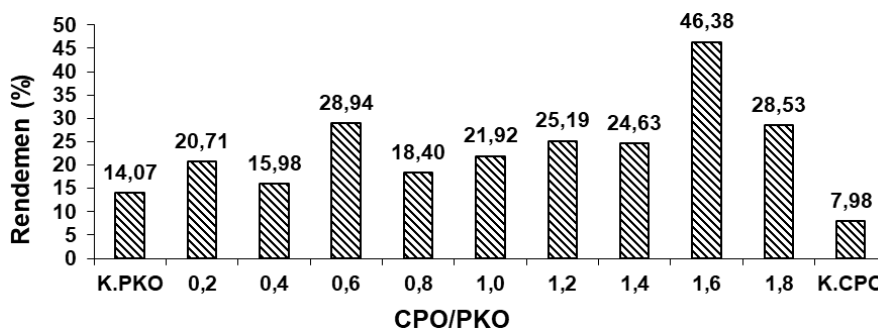


Gambar 2. Rendemen MAG dari seluruh nisbah CPO/PKO

Berdasarkan rendemen MAG yang dihasilkan dari penelitian-penelitian yang telah dilaporkan (Majid and Cheirsilp, 2012) dan (Panji dkk., 2019) dan penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa dalam mensintesis MAG tidak perlu adanya pencampuran CPO dan PKO, karena MAG yang dihasilkan pada setiap kontrol (kontrol CPO dan PKO) telah dapat menghasilkan fraksi MAG yang cukup besar, kecuali apabila sifat emulsifier MAG dari campuran CPO dan PKO lebih baik.

**Rendemen DAG.** MAG-DAG umumnya terdapat pada emulsifier komersial, keberadaan DAG juga penting untuk menunjang sifat emulsifier. Pada Gambar 3, dapat dilihat rendemen DAG tertinggi dihasilkan oleh nisbah 1,6 (46,38%) dan rendemen terendah dihasilkan oleh kontrol CPO (7,98%). Rendemen DAG rata-rata dari seluruh nisbah sebesar 22,98%.

Pada nisbah yang memiliki rasio CPO>PKO, yaitu nisbah 1,2 hingga 1,8 dapat diamati lonjakan pada nisbah 1,6 kemudian kembali turun pada nisbah 1,8. Pada rasio tersebut rata-rata DAG yang dihasilkan lebih baik dari pada DAG pada ratio CPO<PKO.

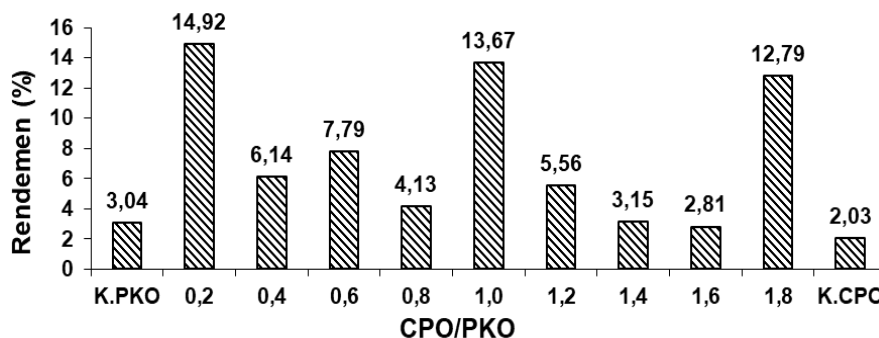


Gambar 3. Rendemen DAG dari seluruh nisbah CPO/PKO

Rata-rata DAG yang dihasilkan kontrol PKO lebih besar dari pada kontrol CPO. Penelitian yang telah dilakukan oleh Panji dkk. (2019), menghasilkan rendemen MAG dan DAG berturut-turut adalah 29,22% dan 34,49%. Dari penelitian tersebut, rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini berupa rendemen DAG tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian yang telah dilaporkan. Menurut Panji dkk. (2014) penentuan kinerja lipase menunjukkan bahwa lipase mampu mengkatalisis proses gliserolisis kontinu dengan baik ditandai dengan pembentukan fraksi massa produk DAG yang relatif stabil.

**Rendemen ALB.** Gambar 4 menunjukkan rendemen ALB berkisar antara 2,03%-14,92%. Keberadaan ALB dalam hasil gliserolisis sebenarnya tidak diinginkan, karena apabila gliserolisis berjalan sempurna, ALB akan teresterifikasi pada gliserol. Kemungkinan jumlah gliserol dalam rasio 2:1 tidak cukup menampung asil dari ALB dan rendahnya selektivitas lipase pada substrat antara dengan derajat esterifikasi tertentu.

Nisbah yang memiliki rasio CPO lebih besar dari PKO, seperti pada penjelasan sebelumnya rendemen fraksi ALB yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan nisbah yang memiliki rasio CPO lebih kecil dari PKO.

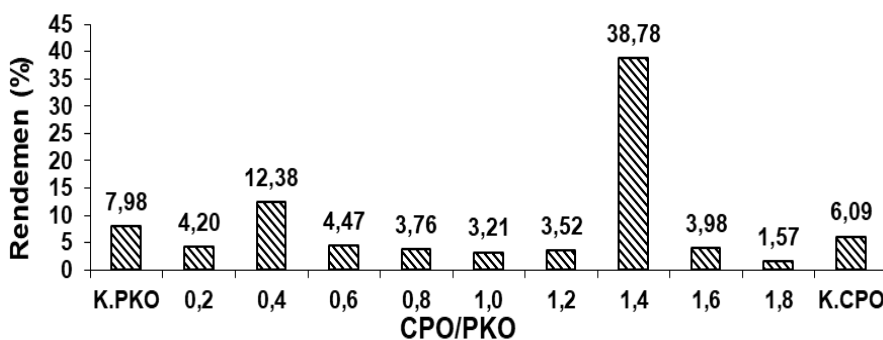


Gambar 4. Rendemen ALB dari seluruh nisbah CPO/PKO

**Rendemen TAG sisa.** Reaksi gliserolisis akan mengubah TAG dalam minyak menjadi MAG dan DAG. Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah, MAG dengan nilai rendemen tinggi dan TAG sisa dengan nilai rendemen yang sangat rendah. Tingginya jumlah MAG dan DAG yang terbentuk, maka nilai rendemen TAG sisa yang ada akan semakin berkurang. TAG sisa dihasilkan karena gliserolisis merupakan reaksi keseimbangan yang dibatasi oleh konsentrasi keseimbangan (optimal; Rendón *et al.*, 2001)

Gambar 5 menunjukkan rendemen TAG berkisar antara 1,57%-38,78%. Rendemen TAG tertinggi dihasilkan oleh nisbah 1,4 (38,77%) yang sejalan dengan rendemen MAG dan DAG yang rendah pada nisbah tersebut.

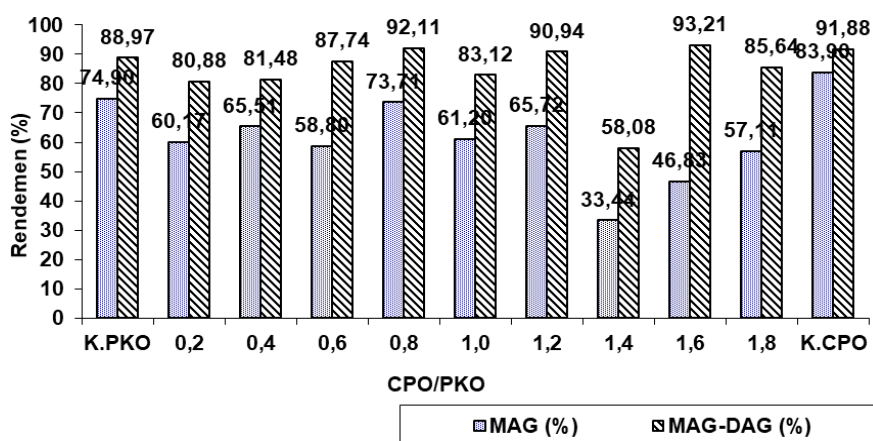
Hal tersebut diduga disebabkan karena kondisi yang kurang terkontrol (suhu dan lama gliserolisis), sehingga reaksi gliserolisis yang berlangsung kurang sempurna dan asam-asam lemak yang mengalami reaksi esterifikasi tidak terikat sempurna pada tangan gliserol. Rendemen terendah dihasilkan oleh nisbah 1,8 (1,57%) yang sejalan dengan rendemen MAG dan DAG yang tinggi, hal tersebut dapat dikatakan bahwa reaksi gliserolisis hampir berjalan sempurna, seperti yang diharapkan. Rendemen rata-rata TAG sisa dari seluruh nisbah sebesar 8,17%. Menurut hasil penelitian Panji dkk. (2019), rendemen TAG sisa yang dihasilkan sebesar 33,88%. Rendemen TAG sisa tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian yang dilaporkan.



Gambar 5. Rendemen TAG dari seluruh nisbah CPO/PKO

**Rendemen Campuran MAG dan DAG (M-DAG).** Rendemen MAG tertinggi dihasilkan oleh kontrol CPO (83,90%) dan rendemen DAG tertinggi dihasilkan oleh nisbah 1,6 (46,38%). Hasil M-DAG tertinggi terdapat pada nisbah 1,6 (93,21%). Kedua nisbah tersebut terdapat pada rasio CPO lebih besar dari PKO. Rendemen rata-rata M-DAG dari seluruh nisbah sebesar 84,91%.





Gambar 6. Rendemen MAG dan M-DAG dari seluruh nisbah CPO/PKO

Dari Gambar 6, dapat dilihat perbandingan MAG dan M-DAG terhadap seluruh nisbah CPO/PKO. Komponen penyusun campuran produk yang terdiri dari fraksi MAG, DAG, ALB, dan TAG sisa yang memiliki sifat sebagai emulsifier hanyalah MAG dan DAG (Setyaningsih dkk., 2018; Shimada and Ohashi, 2003). Produk M-DAG terbaik dicirikan salah satunya dengan tingginya MAG dan DAG dengan serendah mungkin adanya TAG dalam komposisi gliseridanya. Kualitas M-DAG akan semakin baik jika kadar MAG semakin tinggi.

Rendemen MAG terhadap M-DAG yang baik berturut-turut terdapat pada kontrol CPO, kontrol PKO dan nisbah 0,8. Jika dilihat dari Gambar 6 dapat disimpulkan bahwa untuk menghasilkan MAG dan DAG, serta M-DAG yang optimal tidak perlu adanya pencampuran antara CPO dan PKO, tetapi jika ingin mendapatkan emulsifier yang baik maka pencampuran itu sangat baik jika dilakukan

## KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, gliserolisis campuran CPO dan PKO dalam berbagai nisbah, menghasilkan pola sebaran pada lempeng KLT yang beraturan dan nilai Rf (*Retardation factor*) menunjukkan dari yang terdekat hingga terjauh adalah MAG, DAG, ALB, dan TAG dengan Rf berturut-turut 0,01; 0,12; 0,31; 0,57. Rendemen MAG tertinggi dihasilkan oleh hasil gliserolisis kontrol CPO (83,90%) diikuti oleh kontrol PKO (74,90%) dan campuran CPO-PKO nisbah 0,8 (73,71%). Rendemen MAG-DAG tertinggi dihasilkan oleh campuran CPO-PKO nisbah 1,6 (93,21%) diikuti oleh control CPO (91,88%) dan nisbah 0,8 (73,71%).

## DAFTAR PUSTAKA

- T.Panji, C. Palilingan, S., dan Artika, I. M. 2014. "Optimasi Produksi Enzimatis Diasilgliserol Melalui Gliserolisis Kontinu". *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 25(1), 16–22. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.1.16>
- Affandi, A. R., Andarwulan, N., dan Hariyadi, P. 2017. "Pengaruh Waktu dan Suhu Gliserolisis Terhadap Sifat Kimia Mono-Diasilgliserol Pada Skala Pilot Plant". *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 28(2), 159–168. <https://doi.org/10.6066/jtip.2017.28.2.159>
- Akpmie, O. O., Akponah, E., Ehwarieme, A. D., and Paul, R. E. (2020). "Antimicrobial Activity Of Coconut Water, Oil and Palm Kernel Oils Extracted From Coconut and Palm Kernel On Some Plasmid-Mediated Multi-Drug Resistant Organisms". *African Journal of Microbiology Research*, 14(7), 366–373. <https://doi.org/10.5897/AJMR2020.9363>

- Damstrup, M. L., Jensen, T., Sparsø, F. V., Kiil, S. Z., Jensen, A. D., and Xu, X. 2005. "Solvent Optimization For Efficient Enzymatic Monoacylglycerol Production Based on A Glycerolysis Reaction". *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(8), 559–564.
- Harahap, M. F. M., Murhadi, Subeki, dan Setyani, S. 2015. "Profil Kromatografi Lapis Tipis Produk Fraksinasi Dingin Campuran CPO (Crude Palm Oil) dan PKO (Palm Kernel Oil)". *Jurnal Kelitbangan*, 03, 1–15.
- Jamlus, N. N. A., Salimon, J., and Derawi, D. 2016. "Enzymatic Glycerolysis of Methyl Laurate Utilizing *Candida Antarctica* Lipase b". *Malaysian Journal of Analytical Science*, 20(6), 1365–1372. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2006-15>
- Khasbullah, F., Murhadi, dan Suharyono. 2013. "The Study of Functional Characteristics of Ethanolysis Product of CPO (Crude Palm Oil) and PKO (Palm Kernel Oil) Mixture At Level Two Ethanolysis Reaction". *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 18(1), 13–27.
- Latip, R. A., Lee, Y. Y., Tang, T. K., Phuah, E. T., Tan, C. P., and Lai, O. M. 2013. "Physicochemical Properties and Crystallisation Behaviour of Bakery Shortening Produced From Stearin Fraction of Palm-Based Diacylglycerol Blended With Various Vegetable Oils". *Food Chemistry*, 141(4), 3938–3946. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.114>
- Luna, P., Andarwulan, N., dan Haryati, T. 2011. "Optimasi Pembuatan Produk Turunan Minyak Nabati Monoasilgliserol Secara Esterifikasi Enzimatis". *Jurnal Pascapanen*. 8(1), 24–31.
- Majid, N., and Cheirsilp, B. 2012. "Optimal Conditions For The Production of Monoacylglycerol From Crude Palm Oil By An Enzymatic Glycerolysis Reaction and Recovery of Carotenoids From The Reaction Product". *International Journal of Food Science and Technology*, 47(4), 793–800. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02909.x>
- Mamuaja, C. F. 2017. *Lipida*. Unsrat Press.
- Mostafa, N. A., Maher, A., and Abdelmoez, W. 2013. "Production of Mono-, Di-, and Triglycerides From Waste Fatty Acids Through Esterification With Glycerol". *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4, 900–907. <https://doi.org/10.4236/abb.2013.49118>
- Naik, M. K., Naik, S. N., and Mohanty, S. 2014. "Enzymatic Glycerolysis For Conversion of Sunflower Oil To food Based Emulsifiers". *Catalysis Today*, 145–149. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2013.11.005>
- Ong, H. R., Khan, M. M. R., Ramli, R., Yunus, R. M., and Rahman, M. W. 2016. "Glycerolysis of Palm Oil Using Copper Oxide Nanoparticles Combined With Homogeneous Base Catalyst". *The Royal Society of Chemistry*, 1–7. <https://doi.org/10.1039/C6NJ01461E>
- Panji, T., Kresnawaty, I., Dimawarnita, F., Saadah, S., Aminingsih, T., dan Minarti, M. 2019. "Gliserolisis Enzimatis CPO Dengan Lipase Amobil Untuk Produksi Diasil dan Monoasil Gliserol". *Menara Perkebunan*, 87(1), 11–19. <https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v1i87.321>
- Panji, T., Suharyanto, dan Arini, N. 2008. "Lipase Spesifik 1, 3-Gliserida dari Fungi Lokal Untuk Biokonversi CPO Menjadi Diasilgliserol". *Menara Perkebunan*, 76(1), 11–22. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v76i1.90>
- Rane, S. A., Pudi, S. M., & Biswas, P. 2016. "Esterification of Glycerol With Acetic Acid Over Highly Active and Stable Alumina-Based Catalysts: A Reaction Kinetics Study". *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 30(1), 33–45. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2014.2093>

- Rendón, X., López-Munguía, A., and Castillo, E. 2001. "Solvent Engineering Applied To Lipase-Catalyzed Glycerolysis of Triolein". *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(10), 1061–1066. <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0389-6>
- Saberi, A. H., Lai, O. M., dan Miskandar, M. S. 2012. "Melting and Solidification Properties of Palm-Based Diacylglycerol, Palm Kernel Olein, and Sunflower Oil in the Preparation of Palm-Based Diacylglycerol-Enriched Soft Tub Margarine". *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1674–1685. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0475-5>
- Setyaningsih, D., Wijayanti, P. L., dan Muna, N. 2018. "Application Of Mono-Diacyl Glycerol From Palm Oil By Product As Emulsifier For Body Scrub". *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 209(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/209/1/012047>
- Shimada, A., and Ohashi, K. 2003. "Interfacial and Emulsifying Properties of Diacylglycerol". *Food Science and Technology Research*, 9(2), 142–147. <https://doi.org/10.3136/fstr.9.142>
- Silalahi, J., dan Suryanto, D. 2014. "Antibacterial Activity of Enzymatic Hydrolyzed of Virgin Coconut Oil and Palm Kernel Oil Against Staphylococcus Aureus, Salmonella Thypi and Escherichia Coli". *International Journal of PharmTech Research*, 6(2), 628–633. <https://www.researchgate.net/publication/266387943%0AAntibacterial>
- Singh, A. K., and Mukhopadhyay, M. 2012. "Overview of Fungal Lipase: A review". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 166(2), 486–520. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9444-3>
- Subroto, E., Indiarto, R., Pangawikan, A. D., Lembong, E., dan Hadiyanti, R. 2021. "Types and Concentrations of Catalysts in Chemical Glycerolysis For The Production of Monoacylglycerols and Diacylglycerols". *Advances in Science, Technology and Engineering Systems*, 6(1), 612–618. <https://doi.org/10.25046/aj060166>
- Zakwan, Z., Lubis, Z., and Julianti, E. 2021. "The Effect of Low Temperature in Enzymatic Glycerolysis on Monoglyceride Concentration Production Using Green Emulsifier Based Refined Bleached Deodorized Palm Oil". *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 782(3). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/782/3/032091>
- Zhong, N., Li, L., Xu, X., Cheong, L. Z., Xu, Z., and Li, B. 2013. "High Yield of Monoacylglycerols Production Through Low-Temperature Chemical and Enzymatic Glycerolysis". *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(6), 684–690. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201200377>