

**PERILAKU TERMAL DAN STABILITAS OKSIDATIF *BLACK SOLDIER*
FLY LARVAE OIL (BSFLO) HASIL INTERESTERIFIKASI DAN
PENAMBAHAN ASAM STEARAT**

SKRIPSI

Oleh

DIYANA SELVI MUSTIKARINI



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO**

SEMARANG

2026

PERILAKU TERMAL DAN STABILITAS OKSIDATIF *BLACK SOLDIER FLY*
LARVAE OIL (BSFLO) HASIL INTERESTERIFIKASI
DAN PENAMBAHAN ASAM STEARAT

Oleh

DIYANA SELVI MUSTIKARINI

NIM : 23020122140140

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG

2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diyana Selvi Mustikarini
NIM : 23020122140140
Program Studi : S1-Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **Perilaku Termal dan Stabilitas Oksidatif *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO) Hasil Interesterifikasi dan Penambahan Asam Stearat** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain merupakan publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Yoga Pratama, S.T.P., M.Sc., Ph.D.** dan **Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Mei 2026

Penulis



Diyana Selvi Mustikasini

Mengetahui:

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Yoga Pratama, S.T.P., M.Sc. Ph.D

Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PERILAKU TERMAL DAN STABILITAS
OKSIDATIF *BLACK SOLDIER FLY LARVAE*
OIL (BSFLO) HASIL INTERESTERIFIKASI
DAN PENAMBAHAN ASAM STEARAT

Nama Mahasiswa : DIYANA SELVI MUSTIKARINI

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122140140

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

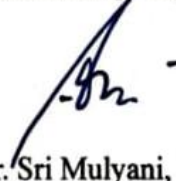
Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal ..0.9.JUN..2026

Pembimbing Utama



Yoga Pratama, S.TP., M.Sc. Ph.D.

Pembimbing Anggota



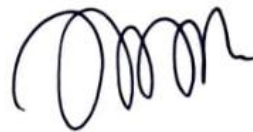
Dr. Sri Mulyani, S.Pt. M.P.

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Swastika Dewi S.T.P., M.Sc.



Prof. Sugiharto, S.Pt., M. Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

DIYANA SELVI MUSTIKARINI. 23020122140140. 2026. Perilaku Termal dan Stabilitas Oksidatif *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO) Hasil Interesterifikasi dan Penambahan Asam Stearat. (Pembimbing: **YOGA PRATAMA** dan **SRI MULYANI**).

Black Soldier Fly Larvae Oil (BSFLO) merupakan sumber lipid alternatif yang berpotensi dikembangkan sebagai lemak fungsional dalam industri pangan karena memiliki kandungan asam lemak jenuh yang relatif tinggi sehingga stabil secara oksidatif. Namun, pemanfaatannya masih terbatas akibat sifatnya yang dominan cair sehingga kurang sesuai untuk aplikasi produk semi padat atau padat. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh proses interesterifikasi enzimatis dan penambahan asam stearat terhadap karakteristik termal dan stabilitas oksidatif BSFLO.

Penelitian ini dilaksanakan selama periode Juni 2025 hingga Januari 2026 di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, dengan pengujian *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) dilakukan di University of Leeds, United Kingdom. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan pendekatan kuantitatif-deskriptif, dengan perlakuan berupa BSFLO tanpa perlakuan, BSFLO interesterifikasi selama 24 dan 48 jam, BSFLO dengan penambahan asam stearat, serta kombinasi interesterifikasi dan penambahan asam stearat dengan variasi waktu 24 dan 48 jam. Proses penelitian meliputi tahap *pre-treatment* BSFL, ekstraksi BSFLCO, *bleaching*, dan interesterifikasi enzimatis menggunakan Lipozyme TL-IM. Parameter yang dianalisis meliputi *Slip Melting Point* (SMP), profil termal menggunakan DSC, kadar *Free Fatty Acid* (FFA), dan bilangan peroksida.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses interesterifikasi dan penambahan asam stearat mampu meningkatkan nilai SMP dan suhu pelelehan (T_m), serta menggeser suhu kristalisasi (T_c) ke arah yang lebih tinggi yang menunjukkan peningkatan stabilitas termal. Namun demikian, perlakuan interesterifikasi juga menyebabkan peningkatan kadar FFA selama proses enzimatis, terutama pada sampel dengan penambahan asam stearat. Nilai bilangan peroksida menunjukkan tren penurunan pada sampel tanpa penambahan asam stearat, namun meningkat pada sistem dengan penambahan asam stearat yang mengindikasikan masih berlangsungnya pembentukan hidroperoksida. Secara keseluruhan, perlakuan interesterifikasi enzimatis dan penambahan asam stearat lebih efektif dalam memperbaiki karakteristik termal dibandingkan meningkatkan stabilitas oksidatif BSFLO, sehingga masih diperlukan optimasi kondisi proses untuk memperoleh keseimbangan sifat fungsional yang optimal.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Perilaku Termal dan Stabilitas Oksidatif *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO) Hasil Interesterifikasi dan Penambahan Asam Stearat” ini dengan baik. Penulis menyadari bahwa Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik berkat usaha, bimbingan, dan dukungan dari banyak pihak. Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Orang tua tercinta Bapak Kardi dan Ibu Musrini, serta kakak kandung Penulis yaitu Diyan Adi Permana, terima kasih atas cinta, doa, nasihat, serta dukungan yang tak pernah henti mengalir sejak penulis kecil sampai saat ini;
2. Bapak Yoga Pratama, S.TP., M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P. selaku dosen pembimbing anggota yang telah berkenan meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan, arahan, masukan, kesempatan, apresiasi yang besar selama melaksanakan proyek penelitian hingga sidang ujian akhir;
3. Prof. Sugiharto, S.Pt, M.Sc, Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh Pendidikan di Program Studi S-1 Teknologi Pangan;
4. Bapak Ahmad N. Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan, bantuan dan kerja sama dalam melakukan penelitian;
5. Bapak Ahmad N. Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan pengarahan dan motivasi selama menempuh Pendidikan hingga ujian akhir;

6. Naurah Syifa Syahputri, teman satu penelitian. Terima kasih sudah menjadi partner yang saling mendukung selama proses ini, dari suka dan duka, penelitian sampai larut malam, bimbingan bersama, hingga mengurus administrasi. Terima kasih juga untuk semua cerita dan diskusi tentang masa depan yang kita bagi di sela-sela proses ini;
7. Trimita, Hana, Amel, Naurah, Nishya selaku sahabat seperjuangan dalam suka dan duka yang tak hanya hadir sebagai teman, namun juga sebagai sandaran di saat lelah. Terima kasih telah berjalan bersama sejak langkah awal hingga sekarang;
8. Sharla, Jaya dan Arum teman dekat yang selalu memberi dukungan, semangat, dan kehadiran kalian yang tak pernah lelah memberikan motivasi;
9. Kepada seluruh rekan satu bimbingan yang tergabung dalam *Research Team 2025* atas kebersamaan, dukungan, bantuan, dan semangat yang diberikan selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini;
10. Seluruh anggota IAAS LC UNDIP 2023-2025. Terima kasih telah menjadi bagian dari cerita perkuliahan ini;
11. Teman-teman Teknologi Pangan 2022 yang memberikan dukungan selama perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih belum dikatakan sempurna, sehingga penulis berharap mendapat kritik dan saran yang dapat memperbaiki penulisan skripsi ini menjadi lebih baik dan bermanfaat bagi banyak pihak.

Semarang, Mei 2025

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR ILUSTRASI.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Black Soldier Fly Larvae Oil</i> (BSFLO) sebagai Sumber Lipid Pangan .	6
2.2 Komposisi Asam Lemak dan Karakteristik Umum BSFLO	7
2.3 Komposisi Asam Lemak Asam Stearat	8
2.4 Interesterifikasi Enzimatis.....	9
2.5 Parameter Pengujian.....	11
BAB III MATERI DAN METODE	18
3.1 Materi Penelitian	18
3.2 Metode Penelitian.....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Analisis Titik Leleh Metode <i>Slip Melting Point</i>	27

4.2	Analisis Termal Menggunakan <i>Differential Scanning Calorimetry</i>	30
4.3	Hasil Pengujian Kadar FFA BSFLO	35
4.4	Hasil Pengujian Bilangan Peroksida BSFLO.....	38
BAB V SIMPULAN DAN SARAN		41
5.1	Simpulan	41
5.2	Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN.....		49
RIWAYAT HIDUP		63

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Komposisi asam lemak BSFLO	7
2. Komposisi TAG BSFLO	30
3. Parameter transisi termal sampel BSFLO berdasarkan analisis <i>Differential Scanning Calorimetry</i> (DSC).	32

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Mekanisme interesterifikasi enzimatis.	10
2. <i>Thermogram Differential Scanning Calorimetry</i> (DSC)	13
3. Diagram Alir Prosedur Penelitian.....	20
4. <i>Bar chart</i> hasil pengujian <i>Slip Melting Point</i> (SMP)	27
5. <i>Thermogram</i> DSC selama proses <i>cooling</i> dan <i>heating</i>	31
6. <i>Bar chart</i> hasil pengujian <i>Free Fatty Acid</i> (FFA)	36
7. <i>Bar chart</i> hasil pengujian bilangan peroksida	38

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Tabel Hasil Pengujian Penelitian.....	49
2. Perhitungan Kadar <i>Free Fatty Acid</i> (FFA)	50
3. Perhitungan Bilangan Peroksida	52
4. Hasil Analisis DSC Menggunakan TA Universal Analysis	55
5. Dokumentasi Penelitian.....	60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Black Soldier Fly Larvae Oil (BSFLO) merupakan sumber lipid alternatif yang memiliki potensi untuk diaplikasikan sebagai lemak fungsional. BSFLO mengandung asam lemak jenuh dan tidak jenuh, dengan dominasi asam lemak jenuh. Hal ini sesuai dengan penelitian Haskaraca *et al.*, (2025) bahwa pada berbagai perlakuan pematian dan pengeringan, baik secara termal maupun nontermal, kandungan asam lemak jenuh pada BSFL berada pada kisaran 76,97% - 80,29%. Kandungan asam lemak jenuh relatif tinggi, yang secara umum berkontribusi terhadap stabilitas oksidatif minyak. Asam lemak BSFLO mengandung asam laurat (47,70%), asam miristat (11,50%), dan asam palmitat (15,60%) (Matthäus *et al.*, 2019). Dominasi asam lemak jenuh rantai sedang yaitu asam laurat menyebabkan BSFLO memiliki titik leleh yang relatif lebih rendah dibandingkan minyak yang kaya akan asam lemak jenuh rantai panjang. Namun, karena mengandung asam lemak jenuh, BSFLO lebih stabil secara oksidatif dibandingkan minyak dengan kandungan asam lemak tak jenuh ganda yang tinggi.

Pemanfaatan BSFLO dalam pangan masih sangat terbatas, salah satunya karena sifatnya yang masih berupa minyak cair sehingga kurang sesuai untuk aplikasi pada produk olahan semi padat atau padat. Oleh karena itu, diperlukan modifikasi untuk meningkatkan peluang aplikasinya, misalnya melalui

interesterifikasi yang dapat mengubah karakteristik termal BSFLO, terutama meningkatkan titik lelehnya. Metode interesterifikasi dapat menjadi solusi dengan memodifikasi karakteristik termal BSFLO terutama dalam peningkatan titik lelehnya. Penelitian yang dilakukan oleh (Singh *et al.*, 2022) menunjukkan bahwa interesterifikasi dapat diaplikasikan pada berbagai produk, seperti lemak plastis (margarin dan *shortening*), pengganti lemak susu manusia, lipid rendah kalori, produk makanan beku, lemak untuk produk konfeksioneri, serta lipid terstruktur yang diperkaya asam lemak.

Penelitian terdahulu oleh Zhang *et al.*, (2020) melaporkan bahwa pengganti *cocoa butter* berbasis lemak laurat dari minyak kelapa dan minyak inti sawit yang dimodifikasi melalui interesterifikasi enzimatis mampu membentuk kristal β' (beta-prime) secara alami akibat restrukturisasi triasilgliserol, sehingga tidak memerlukan proses tempering seperti *cocoa butter*. Meskipun industri secara umum lebih banyak menerapkan interesterifikasi kimia, penggunaan katalis enzim memiliki beberapa keunggulan, seperti bersifat biodegradable, membutuhkan energi yang lebih rendah, serta menghasilkan lebih sedikit produk samping sehingga lebih ramah lingkungan (Zhang *et al.*, 2021). Selain itu, interesterifikasi enzimatis memiliki spesifisitas katalitik sehingga memungkinkan pembentukan komposisi lipid yang lebih terarah.

Proses interesterifikasi yang dapat mengubah struktur TAG (triasilgliserol) diketahui dapat meningkatkan titik leleh dan kristalisasi lipid yang ditunjukkan melalui pergeseran kurva DSC (*Differential Scanning Calorimetry*). Penelitian dari (Pang *et al.*, 2019) berhasil memproduksi lemak plastis melalui interesterifikasi

enzimatis campuran lemak sapi, *palm stearin*, dan minyak camellia. Lemak plastis yang dihasilkan tersebut tidak mengandung lemak trans serta memiliki karakteristik fungsional yang diinginkan, *slip melting point* sebesar 36,8 °C, dengan kristal dominan β' (beta-prime) dan kurva *melting* dan *crystallization* DSC (*Differential Scanning Calorimetry*) yang berubah dibanding *blend* fisik.

Selain memengaruhi sifat termal, interesterifikasi juga berpengaruh terhadap stabilitas oksidatif lipid. Perubahan distribusi TAG akibat interesterifikasi dapat memengaruhi kerentanan minyak terhadap oksidasi. Penelitian dari Singh *et al.*, (2024) produk interesterifikasi memiliki nilai bilangan peroksida dan indikator oksidasi lainnya lebih rendah dibandingkan minyak awal karena komposisi asam lemak menjadi lebih seimbang. Namun, proses interesterifikasi juga berpotensi meningkatkan nilai *Free Fatty Acid* (FFA), terutama apabila terjadi hidrolisis parsial selama reaksi enzimatis. Hal ini disebabkan oleh aktivitas lipase yang tidak hanya mengkatalisis reaksi pertukaran gugus asil, tetapi juga dapat memicu reaksi hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas. Selain itu menurut Wirkowska-Wojdyla *et al.*, (2020) stabilitas oksidatif juga dapat menurun akibat hilangnya senyawa antioksidan alami atau meningkatnya asam lemak tak jenuh pada posisi yang lebih reaktif, sehingga efek interesterifikasi terhadap stabilitas oksidatif sangat bergantung pada komposisi awal minyak dan kondisi proses.

Selain melalui interesterifikasi, modifikasi karakteristik termal BSFLO juga dapat dilakukan melalui penambahan asam stearat sebagai asam lemak jenuh rantai panjang. Menurut (Shin dan Lee, 2022) lipid yang dominan asam stearat menunjukkan suhu leleh dan kristalisasi lebih tinggi dan struktur kristal yang lebih

rapat, sehingga penambahannya diharapkan mampu meningkatkan fraksi padat lipid serta menaikkan titik leleh BSFLO. Peningkatan fraksi asam lemak jenuh rantai panjang ini juga diharapkan dapat memperlambat kenaikan bilangan peroksida. Asam stearat yang merupakan asam lemak jenuh memiliki stabilitas oksidatif yang lebih tinggi dibandingkan asam lemak tak jenuh karena tidak memiliki ikatan rangkap yang rentan terhadap serangan radikal bebas.³

Meskipun interesterifikasi dan penambahan asam stearat telah banyak dilaporkan mampu memperbaiki karakteristik lipid pada minyak nabati konvensional, kajian mengenai pengaruh kombinasi kedua perlakuan tersebut terhadap perilaku termal dan stabilitas oksidatif BSFLO masih terbatas. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang mengkaji secara sistematis perubahan perilaku termal dan stabilitas oksidatif BSFLO hasil interesterifikasi dan penambahan asam stearat sebagai dasar pengembangan lemak fungsional berbasis serangga yang berpotensi diaplikasikan dalam industri pangan.

1.2 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh proses interesterifikasi dan penambahan asam stearat terhadap perilaku termal dan stabilitas oksidatif *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO). Kajian dilakukan melalui analisis karakteristik termal menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) dan *Slip Melting Point* (SMP), serta evaluasi stabilitas oksidatif melalui parameter bilangan peroksida dan *Free Fatty acid* (FFA). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pemanfaatan minyak berbasis serangga secara

lebih optimal, khususnya melalui perbaikan sifat termal dan kestabilan oksidatif BSFLO, sehingga dapat meningkatkan potensi aplikasinya sebagai lemak fungsional alternatif pada produk pangan yang memerlukan stabilitas lemak pada suhu ruang dan selama proses pemanasan, terutama di wilayah beriklim tropis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO) sebagai Sumber Lipid Pangan

Black Soldier Fly Larvae (BSFL) merupakan salah satu siklus hidup dari lalat sejati *Black Soldier Fly* (BSF) yang telah melewati fase telur. BSFL salah satu serangga yang banyak dikembangkan sebagai sumber biomassa alternatif karena memiliki efisiensi konversi pakan yang tinggi serta mampu memanfaatkan berbagai jenis limbah organik (Eide *et al.*, 2024). BSFL mengandung nutrisi berupa protein, lemak, asam amino yang tinggi, hingga berbagai mineral. Kandungan lemak yang terdapat di BSFL mencapai 18 – 33%, sementara itu kandungan protein mencapai 32 – 53% (Lu *et al.*, 2022).

BSFLO memiliki kemiripan karakteristik fungsionalnya dengan, menyerupai *palm kernel fat* dan *coconut fat* (Matthäus *et al.*, 2019), sehingga berpotensi menjadi *cocoa butter substitute* (Aondoakaa dan Akoh, 2025). Namun, hingga sekarang masih belum terdapat riset mengenai pembuatan *cocoa butter substitute* dari BSFLO. Menurut Caligiani *et al.*, (2018) BSFLO memiliki karakteristik lipid yang memungkinkan untuk dimodifikasi lebih lanjut guna menyesuaikan kebutuhan aplikasi pangan tertentu. Namun, pemanfaatan BSFLO sebagai lemak pangan masih memerlukan kajian lebih lanjut, khususnya terkait sifat fisik dan fungsionalnya, agar dapat memenuhi persyaratan mutu dan stabilitas yang dibutuhkan dalam proses pengolahan pangan.

2.2 Komposisi Asam Lemak dan Karakteristik Umum BSFLO

Minyak yang diekstraksi dari larva *Black Soldier Fly*, yang dikenal sebagai *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO), memiliki kandungan lipid yang relatif tinggi dan karakteristik yang menarik untuk aplikasi pangan. BSFLO memiliki profil asam lemak yang khas dengan dominasi asam lemak jenuh rantai sedang, khususnya asam laurat (C12:0), dibandingkan minyak nabati konvensional (Sprangers *et al.*, 2017). Asam laurat memiliki berbagai manfaat sebagai anti-bakteri, anti-karsinogen, kemampuannya sebagai suplemen, dan manfaat nutrasetikal lainnya. Asam lemak tak jenuh yang terkandung di BSFLO didominasi oleh asam oleat 9,70% dan asam linoleat 6,10% (Muangrat dan Pannasai, 2024). Asam lemak tak jenuh berperan penting dalam kesehatan, seperti anti-inflamasi, mengurangi resistensi insulin, meningkatkan kesehatan fungsi otak, pertumbuhan rambut, hingga kesehatan kulit.

Tabel 1. Komposisi asam lemak BSFLO

Asam Lemak	Kandungan (% dari total asam lemak)
Asam laurat (C12:0)	47,70
Asam mistirat (C14:0)	11,50
Asam palmitat (C16:0)	15,60
Asam stearat (C18:0)	2,20
Asam oleat (C18:1)	9,70
Asam linoleat (18:2)	6,10
Asam linolenat (18: 3)	0,80
Asam arakidat (C20:0)	0,10
Σ Asam lemak jenuh (SFA)	77,10
Σ Asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA)	13,60
Σ Asam lemak tak jenuh ganda (PUFA)	6,90

(Sumber: Matthäus *et al.*, 2019)

2.3 Asam Stearat

Asam stearat (C18:0) merupakan asam lemak jenuh rantai panjang yang secara alami ditemukan dalam berbagai lemak hewani dan nabati. Asam stearat berperan penting dalam menentukan sifat fisikokimia lemak, terutama kekerasan, titik leleh, dan *Solid Fat Content* (SFC), karena kemampuannya membentuk struktur triasilgliserol (TAG) yang lebih stabil dan padat. Peningkatan kandungan asam stearat dalam molekul TAG, khususnya pada posisi sn-1,3, diketahui dapat meningkatkan titik leleh dan SFC serta memengaruhi perilaku kristalisasi lemak, sehingga berkontribusi pada pembentukan lemak dengan karakteristik mirip *cocoa butter*, yaitu padat pada suhu ruang namun meleleh mendekati suhu tubuh (Shin dan Lee, 2022).

Penggunaan asam stearat dalam proses interesterifikasi dengan *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO) bertujuan untuk meningkatkan proporsi TAG jenuh berantai panjang. BSFLO secara alami didominasi oleh asam laurat (C12:0) yang memiliki titik leleh relatif rendah sehingga menghasilkan lemak yang kurang stabil pada suhu ruang. Melalui reaksi interesterifikasi yang dikatalisis oleh enzim lipase, asam stearat dapat bertindak sebagai donor asil dan terinkorporasi ke dalam struktur TAG BSFLO, menghasilkan lemak dengan sifat fisik yang lebih padat dan stabil. Pendekatan enzimatik ini telah banyak digunakan dalam pengembangan lemak fungsional dan *cocoa butter substitutes* karena mampu memodifikasi distribusi asam lemak tanpa menghasilkan asam lemak trans (Bogevik *et al.*, 2022).

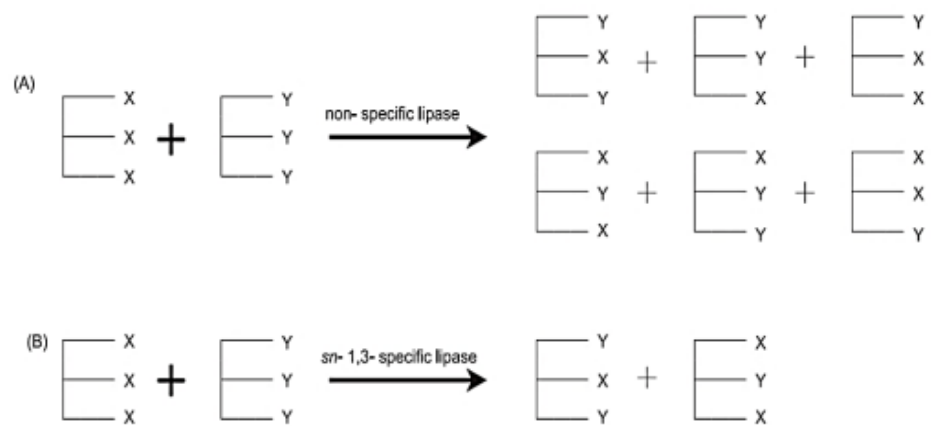
2.4 Interesterifikasi Enzimatis

Interesterifikasi merupakan metode modifikasi struktur triasilgliserol (TAG) yang bertujuan untuk mengubah distribusi asam lemak pada molekul gliserol sehingga dapat memengaruhi sifat fisik lemak, seperti titik leleh, profil pelelehan, dan perilaku kristalisasi (Hasibuan dan Ijah, 2018). Titik leleh identik dengan kejenuhan suatu lemak sehingga mempengaruhi pembentukan tekstur produk yang dihasilkan. Prinsip interesterifikasi adalah ikatan ester pada molekul triasilgliserol akan terpecah secara acak, kemudian asam lemak yang terlepas akan mengalami pengacakan dan diesterifikasi kembali pada posisi baru baik pada molekul gliserol yang sama maupun pada molekul gliserol lainnya (Sivakanthan dan Madhujith, 2020).

Penggunaan enzim memungkinkan reaksi berlangsung pada kondisi yang relatif ringan, sehingga dapat meminimalkan degradasi asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) dibandingkan metode kimia (Utama *et al.*, 2019). Profil triasilgliserol (TAG) yang diinginkan dapat dicapai melalui penggunaan enzim spesifik pada kondisi reaksi yang optimal, meliputi suhu, waktu reaksi, beban enzim, kadar air, dan rasio enzim terhadap substrat. Enzim lipase dapat digunakan karena memiliki kemampuan dalam memecah molekul trigliserida dan telah tersedia secara komersial. Menurut Yang *et al.*, (2025) enzim lipase digunakan untuk menghidrolisis dan mengesterifikasi asam lemak secara selektif sehingga mengubah profil lipid dan meningkatkan stabilitas oksidatif.

Berdasarkan spesifisitasnya, lipase diklasifikasikan menjadi lipase non-spesifik dan lipase spesifik posisi, seperti lipase sn-1,3 spesifik. Penggunaan lipase

non-spesifik menyebabkan pertukaran asam lemak terjadi secara acak pada seluruh posisi gliserol, sehingga menghasilkan distribusi TAG yang acak dan berpotensi mengubah sifat fisik lemak. Sebaliknya, lipase spesifik sn-1,3 secara teoritis hanya menghidrolisis posisi sn-1 dan sn-3, sementara posisi sn-2 tetap tidak berubah (Singh *et al.*, 2022).



(Sumber: Singh *et al.*, 2022)

Ilustrasi 1. Mekanisme interesterifikasi enzimatis.

Keterangan:

(a) merupakan interesterifikasi dengan katalis non spesifik sedangkan (b) merupakan interesterifikasi dengan katalis spesifik.

Beberapa jenis lipase yang umum digunakan dalam interesterifikasi enzimatis antara lain Novozym 435, Lipozyme TL-IM, dan Lipozyme RM-IM. Lipase Lipozyme TL-IM telah teruji memberikan hasil yang efektif pada sediaan yang lebih terjangkau. Lipozyme TL-IM merupakan lipase spesifik posisi sn-1,3 yang mengkatalisis reaksi hidrolisis dan esterifikasi terutama pada posisi sn-1 dan sn-3 molekul gliserol, sementara posisi sn-2 secara teoritis tetap tidak berubah (Makarevičienė *et al.*, 2024). Enzim lipase nantinya akan berperan dalam

mengkatalis reaksi interesterifikasi dengan memisahkan asam lemak dan gliserol pada posisi sn-1 dan sn-3 molekul gliserol (O'Keefe dan Sarnoski, 2017)

2.5 Parameter Pengujian

Parameter pengujian merupakan variabel atau metode-metode yang dilakukan untuk mengobservasi obyek penelitian dalam rangka mencapai tujuan penelitian yang diinginkan. Parameter pengujian merupakan instrumen utama dalam penelitian karena mampu memberikan gambaran spesifik mengenai sifat-sifat obyek yang diteliti serta mampu menguraikan kompleksitas obyek penelitian menjadi lebih mudah dipahami. Pemilihan parameter pengujian tentunya harus relevan dengan tujuan yang akan dicapai dalam judul penelitian, bidang kajian, serta jenis penelitian yang akan dilaksanakan.

2.5.1 Titik Leleh (*Slip Melting Point*)

Titik leleh merupakan kondisi suhu di mana suatu zat padat mulai mengalami perubahan fase menjadi cair pada tekanan atmosfer (Taufik *et al.*, 2018). Titik leleh menjadi parameter utama dalam penentuan karakteristik cokelat berbahan dasar *cocoa butter* untuk menghasilkan stabilitas yang baik pada suhu ruang tetapi memiliki sensasi lumer di mulut akibat titik leleh yang tepat berada pada suhu tubuh (Ramlah dan Sampe, 2018). Penggunaan titik leleh sebagai parameter dalam penelitian ini diranggap sangat tepat mengingat penelitian terdahulu menguraikan bahwa keistimewaan BSFLO terletak pada kemiripan karakternya dengan *cocoa butter* (Matthäus *et al.*, 2019).

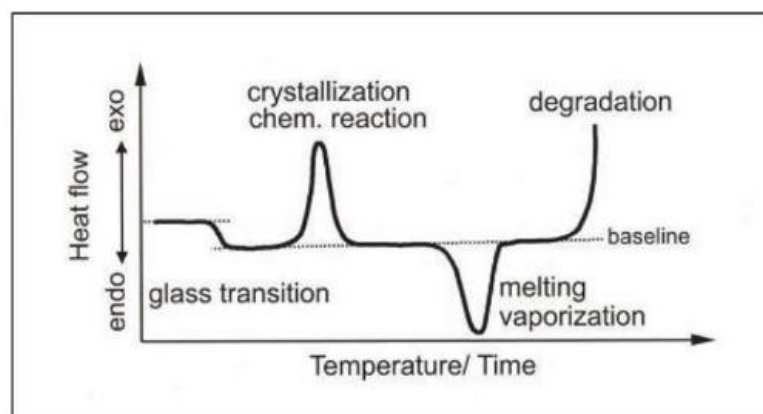
Titik leleh pada lipid umum dikelompokkan dalam golongan *high-melting point* yang baru kehilangan kestabilan pada suhu $\geq 38^{\circ}\text{C}$ serta *low-melting point* yang meleleh pada suhu $21\text{-}28^{\circ}\text{C}$ (Ali *et al.*, 2025). Lipid dengan kandungan asam lemak jenuh yang tinggi cenderung memiliki titik leleh lebih tinggi dan struktur kristal yang lebih stabil dibandingkan lipid yang kaya akan asam lemak tak jenuh (Yang *et al.*, 2024). Selain komposisi asam lemak, distribusi asam lemak pada posisi sn-1, sn-2, dan sn-3 dalam molekul gliserol juga berpengaruh terhadap sifat termal lipid (Zhang *et al.*, 2022). Pengelompokan tersebut berguna untuk penyesuaian aplikasi lemak dalam industri. Setiap komoditas penghasil lemak umumnya memiliki fraksi TAG dominan yang menentukan karakteristik lemak secara umum, misalnya pada *cocoa butter* yang memiliki fraksi POP, POS, dan SOS (P: Palmitat; O: Oleat; S: Stearat) sebagai TAG dominan, memiliki karakter berbeda dengan *palm oil* yang memiliki fraksi POP dan POO sebagai TAG dominan (Pratama *et al.*, 2023).

2.5.2 Differential scanning calorimetry (DSC)

Differential Scanning Calorimetry (DSC) merupakan metode analisis termal untuk mengetahui perubahan sifat fisik suatu sampel sebagai respons terhadap perubahan suhu. Prinsip kerja DSC adalah mengukur perbedaan aliran panas (*heat flow*) antara sampel dan bahan referensi ketika keduanya dipanaskan atau didinginkan pada laju suhu tertentu (Islam *et al.*, 2022). DSC digunakan untuk mengkarakterisasi sifat termal lemak dan minyak, terutama untuk menentukan suhu leleh (*melting temperature*), suhu kristalisasi (*crystallization temperature*), serta

nilai entalpi (ΔH) yang secara langsung dipengaruhi oleh komposisi asam lemak dan triasilgliserol (TAG) (Embaby *et al.*, 2022).

Hasil dari pengujian DSC disajikan dalam bentuk kurva yang disebut termogram. Termogram DSC tersebut dapat digunakan untuk menentukan sifat dan karakteristik sampel. Terdapat dua jenis aliran panas utama yang dapat diamati dalam termogram yaitu endotermik dan eksotermik. Proses peleburan dalam analisis DSC menghasilkan puncak endotermik pada termogram, sedangkan proses kristalisasi menghasilkan puncak eksotermik. Parameter yang umum dianalisis meliputi suhu awal (onset), suhu puncak, suhu akhir, serta luas puncak yang merepresentasikan nilai entalpi transisi fase (Ghanbari *et al.*, 2023). Nilai-nilai tersebut digunakan untuk membandingkan karakteristik termal antar sampel atau pengaruh perlakuan tertentu. Penjelasan skematik kurva termogram DSC dapat dilihat pada Ilustrasi 4.



(Sumber: Almoselhy, 2020)

Ilustrasi 2. *Thermogram Differential Scanning Calorimetry (DSC)*

2.5.3 *Free Fatty Acid* (FFA)

Free Fatty Acid (FFA) merupakan asam lemak berbentuk asam karboksilat yang terlepas dari molekul trigliserida melalui proses hidrolisis, baik secara enzimatis oleh lipase maupun melalui reaksi kimia yang terjadi selama pengolahan, penyimpanan, dan penggunaan ulang minyak. Peningkatan kadar FFA biasanya ditunjukkan oleh naiknya nilai asam (*acid value*) dan digunakan sebagai salah satu indikator penting dalam menilai mutu minyak. Kadar FFA yang tinggi menunjukkan terjadinya degradasi trigliserida, yang selanjutnya dapat mempercepat reaksi oksidasi dan menghasilkan senyawa oksidatif seperti peroksida, keton, dan aldehida. Senyawa-senyawa tersebut berkontribusi terhadap penurunan kualitas sensorik, seperti munculnya aroma tengik, serta menurunkan stabilitas simpan produk berlemak (Uçar *et al.*, 2024). Faktor yang dapat meningkatkan kadar FFA antara lain proses ekstraksi yang melibatkan penggunaan enzim dan suhu tinggi, serta adanya residu air dalam minyak selama penyimpanan. Kondisi tersebut mempercepat reaksi hidrolisis sehingga menghasilkan FFA dalam jumlah lebih tinggi (Mohammad *et al.*, 2021). Selain menurunkan mutu minyak, kandungan FFA berpotensi memberikan dampak negatif bagi kesehatan apabila dikonsumsi secara terus-menerus karena berkaitan dengan pembentukan senyawa hasil oksidasi yang bersifat reaktif.

Free Fatty Acid (FFA) merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi proses interesterifikasi karena terbentuk sebagai produk samping dari reaksi pertukaran gugus asil pada molekul triasilgliserol (TAG). Menurut penelitian

yang dilakukan oleh Najm dan Walsh (2023), *soybean oil* yang sebelum reaksi tidak mengandung FFA bebas, menunjukkan peningkatan signifikan kadar FFA setelah mengalami interesterifikasi enzimatis dengan penambahan asam palmitat. Selain itu penelitian oleh Brzezińska *et al.*, (2022) yang meneliti minyak mentah *tomato seed oil* dan *coconut oil* memiliki *acid value* sangat rendah ($<0,1$ mg KOH/g minyak). Namun setelah dilakukan interesterifikasi enzimatis menggunakan lipase *Rhizomucor miehei*, terjadi peningkatan signifikan *acid value* menjadi 9,8–13,3 mg KOH/g minyak. Peningkatan nilai asam tersebut menunjukkan terjadinya pembentukan FFA akibat hidrolisis parsial TAG selama reaksi berlangsung. Selain dipengaruhi oleh aktivitas hidrolitik enzim, peningkatan FFA juga dapat dipengaruhi oleh kondisi proses seperti suhu reaksi, waktu inkubasi, serta kadar air dalam sistem, yang berperan dalam mempercepat reaksi hidrolisis.

2.5.4 Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida merupakan parameter penting dalam menilai derajat oksidasi primer pada lemak dan minyak karena mencerminkan konsentrasi hidroperoksida sebagai produk awal reaksi autooksidasi lipid yang biasanya dinyatakan sebagai meq O_2 /kg minyak. Hidroperoksida terbentuk melalui mekanisme radikal bebas ketika asam lemak tak jenuh bereaksi dengan oksigen, dan keberadaannya merupakan indikator bahwa minyak telah mulai teroksidasi meskipun belum menghasilkan senyawa sekunder yang menyebabkan tengik (Zhang *et al.*, 2021).

Mekanisme pembentukan peroksida dalam oksidasi lipid berlangsung melalui tiga tahapan utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Gharby *et al.*, 2022). Proses tersebut menyebabkan terbentuknya peroksida, senyawa peroksida antara, serta produk oksidasi yang lebih stabil. Tahap inisiasi, terjadi pembentukan radikal alkil ($R\bullet$) akibat pelepasan atom hidrogen dari asam lemak tak jenuh yang dipicu oleh panas, cahaya, maupun keberadaan logam prooksidan seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} (Pateiro *et al.*, 2019). Tahap ini menjadi tahap awal yang menentukan kecepatan oksidasi karena menghasilkan senyawa radikal reaktif yang sangat tidak stabil.

Selanjutnya pada tahap propagasi, radikal alkil bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil ($ROO\bullet$), yang kemudian menyerang molekul lipid lain dan menghasilkan hidroperoksida ($ROOH$) serta radikal baru (Loganathan *et al.*, 2022). Menurut Jiang *et al.*, (2026) reaksi berantai ini berlangsung secara kontinu sehingga menyebabkan akumulasi hidroperoksida semakin meningkat, di mana hidroperoksida merupakan produk oksidasi primer yang biasanya diukur melalui bilangan peroksida. Tahap terakhir yaitu terminasi dimana radikal bebas saling bereaksi membentuk senyawa non-radikal yang lebih stabil sehingga menghentikan reaksi berantai. Namun, hidroperoksida yang telah terbentuk bersifat tidak stabil dan dapat terdekomposisi menjadi senyawa sekunder seperti aldehid, keton, dan alkohol yang berperan dalam pembentukan *off-flavor* dan ketengikan (Furlan dan Dias, 2026).

Proses pembentukan peroksida sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti paparan cahaya (*photo-oxidation*), suhu tinggi, serta keberadaan oksigen

terlarut yang mempercepat laju oksidasi lipid, sehingga nilai bilangan peroksida dapat meningkat secara signifikan bila minyak terkena kondisi tersebut (Loganathan *et al.*, 2022 ; Ghelichi *et al.*, 2023). Selain itu, komposisi asam lemak juga menentukan kerentanan minyak terhadap oksidasi, semakin tinggi derajat ketidakjenuhan, semakin mudah terbentuk radikal bebas dan hidroperoksida (Zhang *et al.*, 2021).

Minyak yang melalui interesterifikasi enzimatis, perubahan struktur triasilgliserol dapat memengaruhi stabilitas oksidatif produk akhir. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Brzezińska *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa nilai bilangan peroksida pada campuran minyak yang mengalami interesterifikasi enzimatis tidak mengalami peningkatan drastis dibandingkan minyak awal, dengan kisaran nilai sekitar 3–4 meq O₂/kg minyak. Hal ini menunjukkan bahwa proses interesterifikasi enzimatis tidak secara signifikan mempercepat oksidasi primer, sehingga stabilitas oksidatif produk masih tergolong dapat diterima.

BAB III

MATERI DAN METODE

Rangkaian penelitian dilaksanakan sejak bulan Juni 2025 – Januari 2026 yang berlokasi di Laboratorium Rekayasa Pangan Hasil Pertanian dan Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Pengujian DSC dilakukan di *University of Leeds, United Kingdom*.

3.1 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Black Soldier Fly Larvae* (BSFL) dari peternakan lokal di Semarang, *bleaching earth* Terram 1000 dari PT Dwi Karya Bentonit Indonesia (Banten, Indonesia), Lipozyme TL-IM dari Strem Chemicals, Inc. (Newburyport, Amerika Serikat), Asam stearat 38% Wilfarin SA-1838 dari PT Wilmar Nabati Indonesia (Jakarta, Indonesia), NaOH 0,05 N Merck Emsure ACS dari EMD Millipore Co. (Darmstadt, Jerman), akuades Le Mineral (Indonesia), etanol 95% OneMed (Jawa Timur, Indonesia), kloroform Merck Emsure ACS dari EMD Millipore Co. (Darmstadt, Jerman), asam asetat glasial Smart-Lab (Jakarta Selatan, Indonesia), kalium iodida Merck Emsure dari EMD Millipore Co. (Darmstadt, Jerman), larutan *starch* 1% Merck Emsure dari EMD Millipore Co. (Darmstadt, Jerman), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,001 N Smart-Lab (Jakarta Selatan, Indonesia), dan indikator fenoltalein Merck Emsure dari EMD Millipore Co. (Darmstadt, Jerman).

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang diterapkan dalam penelitian ini terdiri dari rancangan penelitian, prosedur penelitian, pengujian parameter, serta analisis data yang diperoleh dari pengujian yang dilakukan sebagai berikut:

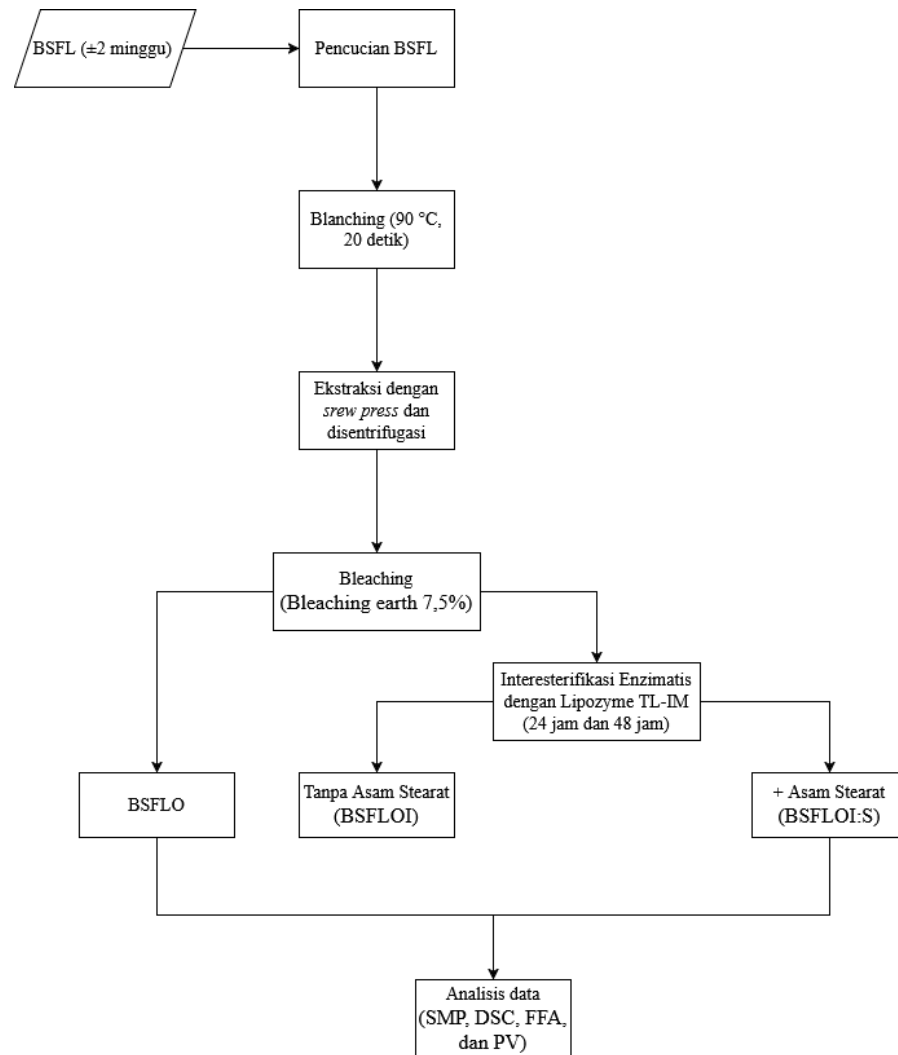
3.2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kuantitatif-deskriptif. Metode penelitian eksperimental adalah metode penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu faktor perlakuan terhadap variabel tertentu. Pendekatan kuantitatif digunakan untuk menganalisis data secara statistik sedangkan pendekatan deskriptif digunakan sebagai narasi pendukung. Rancangan penelitian yang digunakan adalah titik leleh, *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), *Free Fatty Acid* (FFA) dan bilangan peroksida yang diujikan terhadap sampel BSFLO, BSFLO interesterifikasi (BSFLOI), BSFLO campuran asam stearat (BSFLO:S) serta BSFLO interesterifikasi campuran asam stearat (BSFLOI:S) dengan masing-masing variasi waktu interesterifikasi 24 jam dan 48 jam.

3.2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilakukan dalam 5 tahapan, yaitu *pre-treatment Black Soldier Fly Larvae* (BSFL), ekstraksi *Black Soldier Fly Larvae Crude Oil* (BSFLCO), *bleaching Black Soldier Fly Larvae Crude Oil* (BSFLCO), interesterifikasi enzimatis dan pengujian parameter yang telah ditentukan untuk

menganalisis karakteristik termal dan stabilitas oksidatif dari *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO).



Ilustrasi 3. Diagram Alir Prosedur Penelitian

a. *Pre-treatment Black Soldier Fly Larvae* (BSFL)

Proses *pre-treatment* BSFL dilakukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hurtado-Ribeira *et al.*, (2023) dengan modifikasi. BSFL yang telah berusia kurang lebih 2 minggu dicuci sampai bersih agar kotoran serta debu hilang

lalu diterminasi melalui proses *blanching* pada suhu 90°C selama 20 detik. BSFL yang telah di-*blanching* dibilas dengan air dingin untuk menghilangkan sisa kotoran. BSFL yang telah dibersihkan dengan air dingin kemudian dikeringkan melalui proses pengeringan menggunakan *cabinet dryer*. Proses pengeringan berlangsung selama 24 jam pada suhu 60°C dengan menggunakan *tray* logam.

b. Ekstraksi *Black Soldier Fly Larvae Crude Oil* (BSFLCO)

Ekstraksi BSFLCO dilakukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Saviane *et al.*, 2021) dengan modifikasi. BSFL sebanyak 450 g diekstraksi secara mekanis dengan menggunakan *screw press oil extractor* yang berjalan pada suhu 50°C. Hasil ekstraksi atau FCO kemudian disaring dan ditampung pada wadah tertutup. Proses filtrasi awal pada FCO dilakukan melalui proses sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Minyak yang dihasilkan, yaitu *Black Soldier Fly Larvae Crude Oil* (BSFLCO).

c. *Bleaching Black Soldier Fly Larvae Crude Oil* (BSFLCO)

Bleaching dari BSFLCO dilakukan dengan tujuan untuk dapat menghilangkan komponen pengotor (*impurities*) seperti pigmen, logam pro-oksidan, serta sebagian produk oksidasi yang dapat memengaruhi mutu fisik dan kimia minyak. Proses ini bertujuan meningkatkan kejernihan serta stabilitas oksidatif minyak sehingga diperoleh *Black Soldier Fly Larvae Oil* (BSFLO) dengan kualitas yang lebih baik (Muangrat dan Pannasai, 2024).

Proses *bleaching* didasarkan pada metode yang dilakukan oleh Petrović *et al.*, (2023); Huda *et al.*, (2024) dengan modifikasi. Sampel BSFLCO yang telah

melalui proses sentrifugasi diambil sebanyak 50 mL. Sampel BSFLCO ditambahkan *bleaching earth* dengan konsentrasi sebesar 7,5% lalu dipanaskan hingga mencapai suhu 90°C, diikuti dengan proses pengadukan selama 40 menit pada kecepatan 750 rpm. Sampel yang telah tercampur dengan *bleaching earth* kemudian dipisahkan melalui proses sentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit.

d. Interesterifikasi Enzimatis

Interesterifikasi enzimatis dilakukan mengacu pada Witasari *et al.*, (2025), dengan modifikasi. Interesterifikasi diawali penimbangan BSFLO sebanyak 50 g, kemudian penimbangan *Lipozyme TL-IM* sebanyak 4% (b/b). Perlakuan penambahan asam stearat dilakukan dengan menambahkan asam stearat sebanyak 3% (b/b) ke dalam sampel sebelum proses pencampuran. Setelah penimbangan sampel dan enzim, dilakukan pencampuran agitasi keduanya menggunakan *rotary evaporator* BIOBASE (China), dengan kecepatan kurang lebih 50 rpm pada suhu 60° dengan variasi waktu 24 jam dan 48 jam. Tahap terakhir dilakukan penyaringan sampel dari enzim dengan penyaringan menggunakan kertas saring dalam corong buchner yang di *vacuum* hingga butiran enzim terpisah dari sampel. Minyak yang dihasilkan, yaitu *Black Soldier Fly Larvae Oil* Interesterifikasi (BSFLOI) kemudian disimpan di *amber bottle* pada suhu *freezer* untuk dianalisis lebih lanjut.

3.2.3 Pengujian Parameter Penelitian

Pengujian parameter dilakukan terhadap sampel BSFLO, BSFLO interesterifikasi (BSFLOI), BSFLO campuran asam stearat (BSFLO:S) serta

BSFLO interesterifikasi campuran asam stearat (BSFLOI:S) dengan masing-masing variasi waktu interesterifikasi 24 jam dan 48 jam untuk dianalisis hasil *Slip Melting Point* berupa titik leleh, *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), *Free Fatty Acid* (FFA) dan bilangan peroksida.

a. Titik Leleh Metode *Slip Melting Point* (SMP)

Pengujian titik leleh dilakukan terhadap sampel BSFLO, BSFLOI, BSFLO:S serta BSFLOI:S dengan metode *Slip Melting Point* (SMP) mengacu pada metode American Oil Chemists Society Official (AOCS) Cc 3-25 2009 dengan modifikasi. Sampel yang akan diuji harus dipastikan berada pada fase cair sempurna, kemudian pipa kapiler dicelupkan kedalam sampel pada kedalaman 1 cm. Pipa kapiler berisi sampel diletakkan pada gelas beker kemudian didinginkan di dalam lemari pendingin pada suhu 4-10 °C selama semalaman. Kemudian, dipersiapkan pula gliserin sebanyak 5 ml pada gelas beker sebagai media pemanas sampel dan didinginkan di dalam lemari es. Sampel yang akan diuji dikeluarkan dan diikatkan pada termometer dimana ujung pipa yang berisi sampel sejajar dengan ujung termometer menggunakan solatip (biarkan sampel yang belum akan diuji pada lemari pendingin). Gliserin yang telah didinginkan dikeluarkan dari lemari pendingin dan diletakkan diatas *hotplate*.

Pipa kapiler dan termometer yang telah terikat digantungkan hingga $\frac{3}{4}$ badan pipa kapiler tercelup dalam gliserin dingin pada gelas beker dengan posisi ujung pipa hampir menyentuh dasar gelas agar terpapar suhu secara optimal. Suhu *hotplate* diatur pada 50 °C dan diamati proses kenaikan yang terjadi pada sampel.

Pencatatan suhu dilakukan ketika sampel dalam pipa kapiler tepat bergerak naik. Seluruh proses diulang untuk tiap sampel sebanyak 3 kali ulangan.

b. Profil Termal Metode *Differential Scanning Calorimetry* (DSC)

Pengujian profil termal dilakukan dengan mengikuti metode Pratama *et al.*, (2023) dengan sedikit modifikasi yaitu menggunakan DSC Q-20 (TA Instruments, Elstree-UK) dengan suhu awal yaitu 70°C lalu diturunkan hingga -10°C dan dinaikkan kembali suhunya hingga 70°C. *Heat rate* yang digunakan yaitu sebesar 5°C/menit. Sampel yang diujikan menggunakan DSC meliputi BSFLO, BSFLO interesterifikasi (BSFLOI), BSFLO campuran asam stearat (BSFLO:S) serta BSFLO interesterifikasi campuran asam stearat (BSFLOI:S) dengan masing-masing variasi waktu interesterifikasi 24 jam dan 48 jam. Sampel tersebut ditimbang terlebih dahulu lalu sampel diletakkan dalam cawan DSC dengan cawan satunya kosong tertutup sebagai referensi *baseline*.

c. Metode Pengujian Kadar FFA

Nilai FFA (*Free Fatty Acid*) pada minyak merupakan parameter yang menunjukkan jumlah asam lemak bebas yang terkandung dalam minyak dan dapat dinyatakan sebagai ekuivalen dari asam lemak tertentu. Asam laurat merupakan asam lemak dominan dalam BSFLO, sehingga nilai FFA dinyatakan sebagai ekuivalen asam laurat. Pendekatan ini bertujuan untuk meningkatkan ketepatan interpretasi serta konsistensi dalam standarisasi kadar FFA pada BSFLO (Marusich *et al.*, 2020).

Pengujian kadar FFA (*Free Fatty Acid*) dilakukan berdasarkan metode dari *American Oil Chemists Society* (AOCS) Ca 5a-40.19 dengan modifikasi. Sebanyak 1 g BSFLO dicampur dengan 5 mL etanol 95% dalam labu Erlenmeyer 50 mL sambil dipanaskan pada suhu 40°C. Campuran tersebut ditambahkan dengan 0,15 mL fenolftalein, kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,005 N hingga muncul warna merah muda yang konsisten selama 30 detik. Asam laurat merupakan asam lemak dominan dalam BSFLO, sehingga nilai FFA dinyatakan sebagai ekuivalen asam laurat (Marusich *et al.*, 2020). Rumus perhitungan FFA dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\%FFA = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{Mr asam laurat}}{\text{Massa Sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Mr asam laurat = 200,32 g/mol

d. Metode Pengujian Bilangan Peroksida

Pengujian bilangan peroksida dilakukan berdasarkan metode dari *Malaysian Palm Oil Board* (MPOB) *test method* P2.3:2004. Pengujian diawali dengan menimbang sampel BSFLO sebanyak 0,5 g dan dimasukkan dalam erlenmeyer 50 mL. Larutan asam asetat glasial:kloroform (3:2) kemudian ditambahkan sebanyak 3 mL, lalu dikocok hingga tercampur sempurna. Tambahkan larutan kalium iodida (KI) jenuh sebanyak 0,1 mL, lalu dikocok dan didiamkan selama ± 1 menit. Tambahkan 3 mL akuades dan 1 mL larutan pati/*starch* 1% sebagai indikator hingga terbentuk warna kebiruan. Sampel kemudian dititrasi dengan Na₂S₂O₃ 0,001 N hingga warna biru menghilang. Kadar peroksida dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 1000}{M} \text{ Meq O}_2/\text{Kg}$$

V₂ = jumlah Na₂S₂O₃ yang digunakan untuk sampel (mL)

V₁ = jumlah Na₂S₂O₃ yang digunakan untuk blanko (mL)

N = normalitas Na₂S₂O₃

M = massa sampel

3.2.4 Analisis Data

Data hasil pengujian yang telah dilakukan menggunakan DSC diolah menggunakan *software* Origin Pro 2026 (OriginLab Corporation, Amerika Serikat) dan TA Universal Analysis (Waters Corporation, Amerika Serikat). Sedangkan data dari pengujian titik leleh, bilangan peroksida, dan kadar FFA dianalisis dengan metode deskriptif serta diolah menggunakan *software* Microsoft Excel tahun 2019. Selanjutnya data disajikan dalam bentuk grafik dan diuraikan secara deskriptif untuk mengetahui perlakuan terbaik.