

ASIDOLISIS ENZIMATIS MINYAK SAWIT MERAH DAN MINYAK IKAN TUNA DENGAN BIOKATALIS LIPASE PADI MENGHASILKAN ASAM LEMAK KAYA OMEGA -3

Wahyuningsih, Margaretha Tuti Susanti dan Moh Endy Yulianto
PSD III Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro

Abstract

*Red palm oil is source of p carotene and vitamin E, while Tuna fish is source of omega-3 and 6. Diversification of palm oil and tuna fish oil can be used as food supplement. The utilization of high concentration of minor vitamin is one of strategy to increase the additional value of both oil and also to provide minor vitamin from local product in order to increase the healthy of the society. There was some research conducted on micro encapsulation process of red palm oil which is rich of P carotene, provitamin A, and provitamin E. And there was also research subjected to microencapsulated fish oil which is rich of omega-3. In this research we combined the microencapsutaion of both red palm oil and tuna fish oil through enzymatic cytolysis process. From the cytolysis process, we will got type of fatty acid which is rich of omega 3 and P carotene . The objective of the research were to study the activity of rice bran lipase as biocatalisator in the conversion of palm oil fatty acid into fatty acid which is rich of omega-3, and to develop the bioreactor for the enzymatic cytolysis for fatty acid production. The research result showed that optimum condition for the cytolysis process was the ratio of red palm oil-tuna fish oil 3:1, temperature 40°C; reaction time 4 hours, where the yield of fatty acid has EPA and DHA concentration 35,92% and 5,65%, respectively. While the rate of the reaction was 619,67 mol/hour. Red palm oil is an alternative source of fatty acid which is rich of omega 3 (EPA and DHA), and it can be produced by enzymatic cytolysis by using rice bran lipase. Lipase enzyme of *R Meithei* found to be a good biocatalyst in the red palm oil and tuna fish incorporation process of the fatty acid which is rich of omega-3.*

Key words: cytolysis, red palm oil, tuna fish oil

PENDAHULUAN

Minyak kelapa sawit merupakan sumber betakaroten dan vitamin E, demikian pula minyak ikan tuna merupakan sumber omega-3 dan omega -6. Disversivikasi minyak kelapa sawit dan minyak ikan tuna menjadi suplemen makanan yang memanfaatkan kandungan gizi minor yang tinggi, ini merupakan strategi yang baik untuk meningkatkan nilai tambahnya sekaligus penyediaan gizi minor bagi masyarakat mengandalkan produk local .

Pada penelitian yang sudah dikerjakan adalah proses mikroenkapsulasi kelapa sawit (Minyak makan merah) kaya betakaroten. Provitamin A dan Vitamin E, ada pula penelitian mikroenkapsulasi minyak ikan kaya omega -3. Disini kami ingin mengembangkan penelitian-penelitian yang sudah ada, yaitu penggabungan asam lemak kelapa sawit dan asam lemak dari minyak ikan tuna melalui proses asidolisis. Dari proses asidolisis ini akan diperoleh jenis asam lemak lain yang kandungan omega 3 dan betakarotena tinggi.

Dari hasil penelitian (Yenny, E, 2009) menyatakan minyak kelapa sawit merupakan sumber beta karoten dan vitamin E yang tinggi, Diversifikasi minyak sawit menjadi suplemen makanan yang memanfaatkan kandungan gizi minor yang tinggi merupakan strategi yang baik untuk meningkatkan nilai tambahnya sekaligus penyediaan gizi minor bagi masyarakat dengan mengandalkan produk lokal.

Minyak sawit memiliki keunggulan, bisa diaplikasikan untuk produk-produk pangan, terutama karena kandungan mikronutrientnya yang tinggi seperti karotenoid (500-700 ppm) dan vitamin E (1000 ppm). Minyak sawit kasar (CPO) dikenal kaya akan mikronutrien, terutama karotenoid (provitamin A) dan sitosterol. CPO berwarna merah kecoklatan menandakan kandungan karotenoidnya yang sangat tinggi, karotenoid merupakan prekursor vitamin A sebagai provitamin A. Terdapat 10 macam provitamin A yang paling potensial 6 karoten yang ekuivalen dengan 2 vitamin A serta punya aktivitas vitamin A 100%.

Karoten juga merupakan senyawa antiradikal bebas dan mampu meningkatkan kekebalan tubuh. Sekitar 68 % karoten adalah β karoten yang mempengaruhi kesehatan mata. Sedangkan tokoferol bersifat antioksidan payudara, konsumsi makanannya juga mengandung tokoferol (vitamin E) yang akan meningkatkan perna karoten sebagai pencegah penyakit

degeneratif seperti arteriosklerosis dan kanker, serta menunda penuaan dini dan pemusnah radikal bebas

Minyak ikan telah sangat umum digunakan sebagai sumber utama asam lemak omega 3 yang sangat dibutuhkan anak-anak untuk meningkatkan kecerdasan dan memperbaiki penglihatan. Asam lemak omega 3 merupakan asam lemak omega essential bagi tubuh, sehingga harus didapatkan dari luar melalui makanan. Minyak ikan yang banyak mengandung asam lemak omega 3, misalnya ikan salmon, tuna, kakap merah, tongkol, tengiri. Dalam minyak ikan selain terdapat asam lemak omega 3 juga terdapat asam lemak omega 6

METODE PENELITIAN

Penelitian tentang pembuatan mikroenkapsulasi asam lemak kaya omega 3 melalui asidolisis trigliserida enzimatis dengan minyak ikan tuna dan diinvestasikan baik secara eksperimen maupun pemodelan. Rangkaian penelitian akan dilaksanakan secara bertahap meliputi :

- Perancangan dan pabrikasi Bioreaktor Asidolisis enzimatis
- Studi kinetika reaksi enzimatis dan kumputasi proses
- Studi produktifitas asam lemak kaya omega 3 melalui proses asidolisis
- Optimisasi parameter-parameter proses
 - **Bahan dan alat penelitian**
 - **Bahan penelitian**

- Bahan baku yang akan digunakan pada penelitian ini adalah minyak kelapa sawit dan minyak ikan tuna keduanya dibeli dari apotok, biokatalistik enzim lipase dari dedak.
- Bahan lain yang diperlukan adalah bahan untuk melakukan titrasi dalam penentuan bilangan asam untuk menguji kadar asam lemak bebas, bilangan iod untuk menguji kejenuhan, bilangan penyabunan untuk menguji berat molekul dan panjang rantai Carbon serta penentuan bilangan peroksida.
- **Alat penelitian**
- Peralatan untuk dipakai pada penelitian ini adalah bioreactor asidolisis enzimatis. Alat lain yang diperlukan adalah alat untuk titrasi dalam penentuan kadar asam, bilangan iod, bilangan penyabunan dan bilangan peroksida, sedangkan untuk menentukan komposisi asam lemak kaya omega 3 dapat dilakukan dengan kromatografi gas (GC)
- **Inteperasi data**
- Guna menyederhanakan system persamaan non liner yang terbentuk, reaksi diasumsikan bahwa kompleks enzim substrat berada pada konsentrasi keseimbangan sehingga persamaan 3 .
- Persamaan tersebut diatas disebut kinetika Michaelis menten, dimana V_m bukan suatu konstanta melainkan

lainya tergantung pada konsentrasi awal enzim dalam sistem . dari data-data yang telah diukur. Digunakan sebagai input untuk membangun model dalam bentuk persamaan empiris dengan menggunakan program *matlab*

Variabel Penelitian

Variable operasi selama penelitian tentang kinetika reaksi adalah

- a) Variabel tetap
 - Dimana peralatan D/H Konstan
 - Tekanan Operas
- b) Variabel berubah : 1 atm
 - Rasio minyak kelapa sawit – minyak tuna : 30-40 °C (kondisi aktifitas lipse)
 - Suhu reaksi : 3-4,5 jam

Prosedur Penelitian

Preparasi minyak makan kaya EPA dan DHA

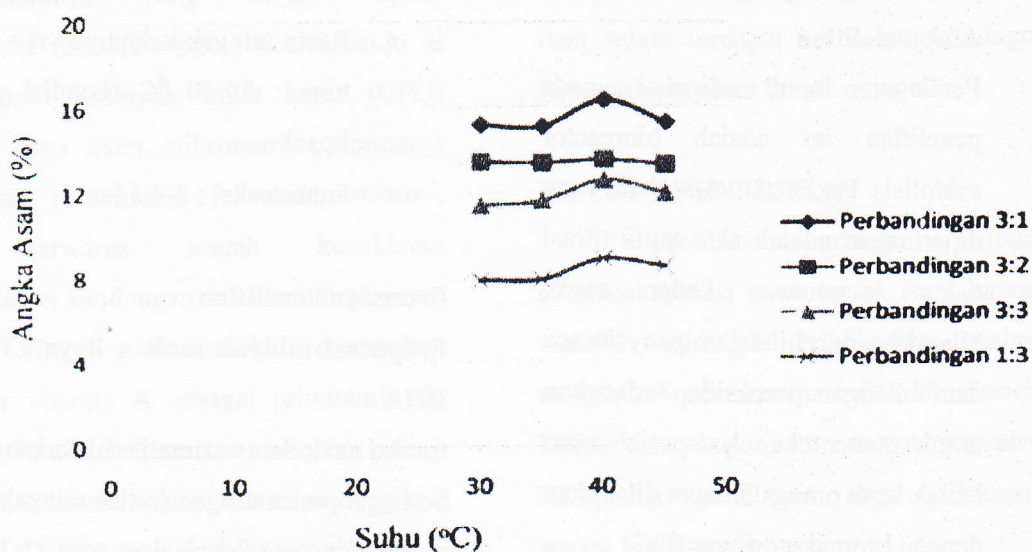
Reaksi asidolisis enzimatik dilakukan dengan berbagai perbandingan (ratio) minyak makan merah dengan minyak ikan tuna (1:3;2:3;3). Reaksi dilakukan beberapa kondisi suhu (30-40 °C serta enzim lipase 10% (b/b) substrat campuran), kecepatan pengadukan 200rpm dalam orbital shaker water bath. Reaksi asidolisis dihentikan dengan penambahan 10 ml campuran aseton / etano (1:1 v/v) dan pemisahan enzim dari campuran dilakukan dengan penyaringan. Penghilangan asam lemak bebas dari campuran reaksi dilakukan

dengan tirasi menggunakan NaOH metanolik
0,5 N

HASIL PENGAMATAN

Tabel 1. Pengaruh suhu dan perbandingan pereaksi terhadap angka asam pada waktu 4 jam

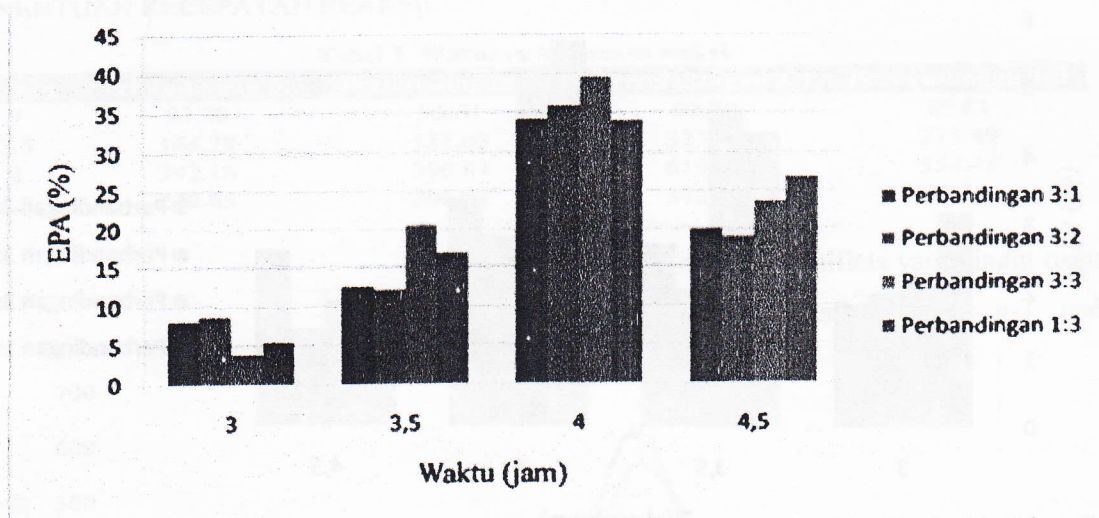
| Suhu | Perbandingan 3:1 | Perbandingan 3:2 | Perbandingan 3:3 | Perbandingan 1:3 |
|------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 30 | 15.18 | 13.44 | 11.42 | 7.89 |
| 35 | 15.09 | 13.39 | 11.63 | 7.92 |
| 40 | 16.34 | 13.54 | 12.59 | 8.91 |
| 45 | 15.28 | 13.31 | 11.99 | 8.56 |



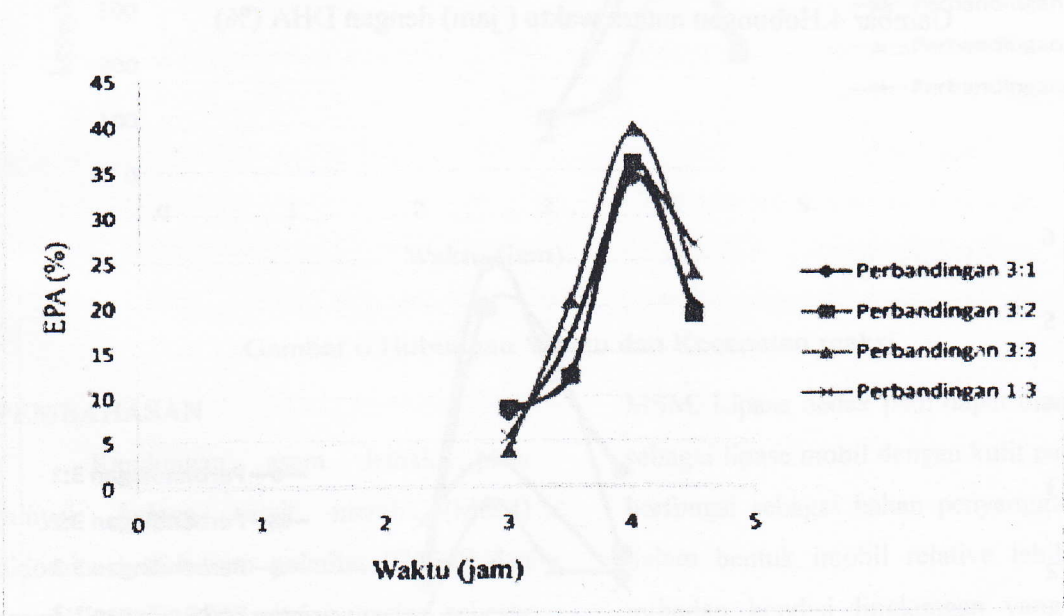
Gambar 1. Hubungan suhu ($^{\circ}\text{C}$) dan angka asam (%) dari berbagai pereaksi pada waktu 4 jam

Tabel 2. Hubungan Harga EPA terhadap waktu reaksi dan perbandingan pereaksi

| Waktu | Perbandingan 3:1 | Perbandingan 3:2 | Perbandingan 3:3 | Perbandingan 1:3 |
|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 3 | 8.14 | 8.76 | 4.01 | 5.52 |
| 3.5 | 12.59 | 12.19 | 20.63 | 16.81 |
| 4 | 39.57 | 35.92 | 34.22 | 34.08 |
| 4.5 | 20.04 | 18.99 | 23.81 | 26.89 |



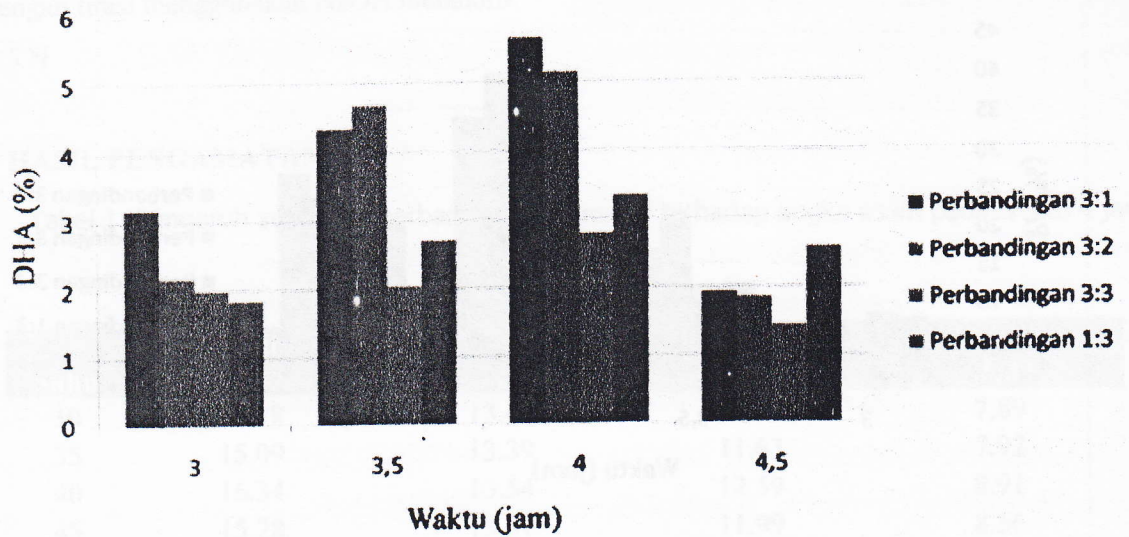
Gambar 2. Hubungan waktu (Jam) dan EPA (%) dari berbagai perbandingan pereaksi



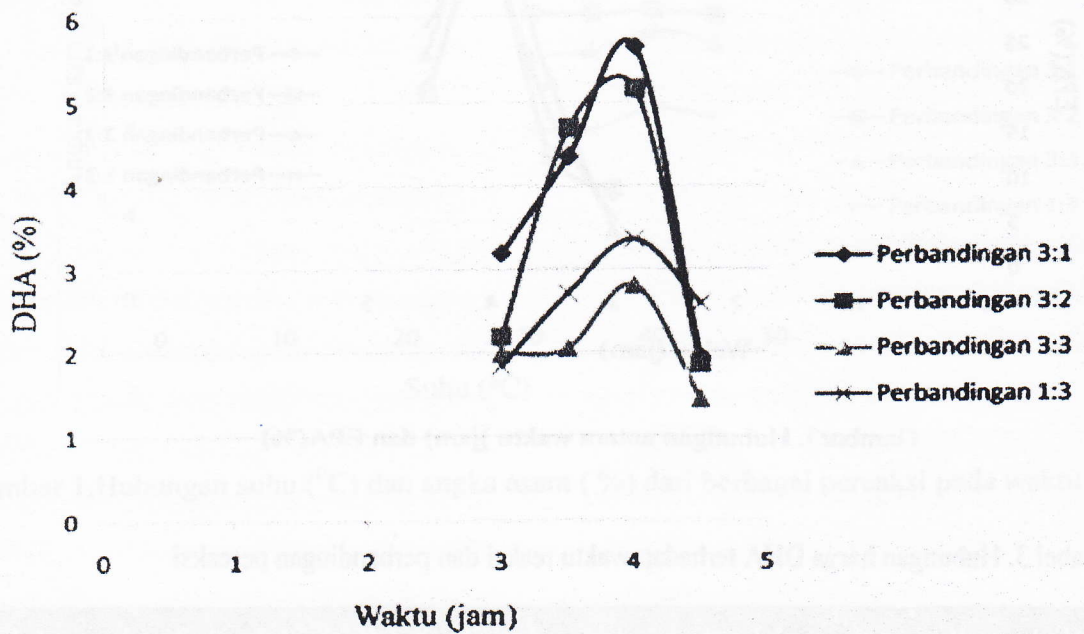
Gambar 3. Hubungan antara waktu (jam) dan EPA (%)

Tabel 3. Hubungan harga DHA terhadap waktu reaksi dan perbandingan pereaksi

| Waktu | Perbandingan 3:1 | Perbandingan 3:2 | Perbandingan 3:3 | Perbandingan 1:3 |
|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 3 | 3.19 | 2.19 | 1.99 | 1.84 |
| 3.5 | 4.35 | 4.69 | 2.05 | 2.71 |
| 4 | 5.65 | 5.15 | 2.81 | 3.36 |
| 4.5 | 1.94 | 1.86 | 1.44 | 2.59 |



Gambar 4. Hubungan antara waktu (jam) dengan DHA (%)



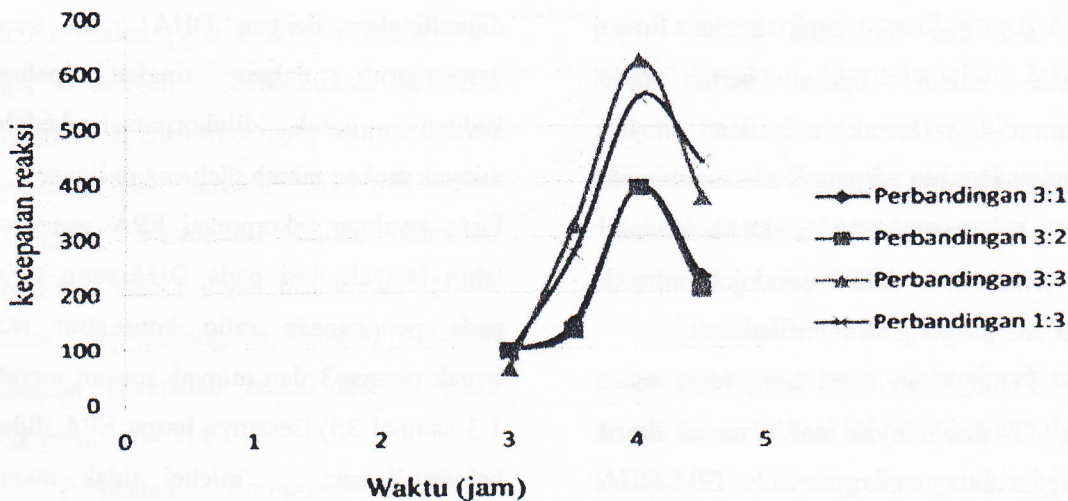
Gambar 5. Hubungan waktu (jam) dengan (DHA(%))

PENENTUAN KECEPATAN REAKSI:

Tabel 5. Waktu vs kecepatan reaksi

| Waktu | Perbandingan 3:3 | Perbandingan 3:2 | Perbandingan 3:1 | Perbandingan 1:3 |
|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 3 | 93.28 | 95.31 | 62.79 | 89.81 |
| 3.5 | 144.28 | 132.63 | 323.06 | 273.49 |
| 4 | 392.16 | 390.81 | 619.67 | 554.48 |
| 4.5 | 229.65 | 206.61 | 372.86 | 437.5 |

padi mempunyai aktifitas yang tinggi dalam menginkorporasi asam lemak n-3 pada



Gambar 6. Hubungan Waktu dan Kecepatan reaksi

PEMBAHASAN

Kandungan asam lemak pada minyak kelapa sawit merah (MSM) didominasi oleh sam palmitat (C16:0) dan asam oleat (C18:0), masing-masing sebesar 49,6 dan 40,1% sedangkan asam lemak tidak jauh terdeteksi hanyalah asam linoet (C:18 2n-6) sebesar 8% MSM sebagai sumber molekul trikliserida, sedangkan konsentrat asam lemak n-3 digunakan sebagai sumber EPA dan DHA kandungan EPA dan DHA ikan tuna awal 3,9 % dan 2,7% sedangkan pada kosentrat asam lemak n-m sebesar 34,22% dan 5,65 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biokatalisi lipase dedak

MSM. Lipase dedak padi dapat dianalogkan sebagai lipase mobil dengan kulit padai yang berfungsi sebagai bahan penyangga. Enzim dalam bentuk imobil relative lebih setabil terhadap kondisi lingkungan yang kurang sesuai, seperti suhu tinggi dan polaritas medium ,sehingga aktivitasnya dapat lebih tinggi(Shuler dan Kargi,1992)

Dari gambar 1 terlihat dengan bertambahnya suhu dan perbandingan pereaksi maka pelepasan asam bebas dalam lemak makin meningkat. Hasil angka asam maksimal yang diperoleh pada percobaan ini pada suhu reaksi 40 C, waktu 4 jam ,perbandingan pereaksi (minyak makan

merah/minyak ikan tuna) 3:1, sebesar 16,34 %, ini menunjukkan bahwa pelepasan asam lemak bebas maksimal terjadi pada suhu 40 C, waktu 4 jam dan perbandingan pereaksi 3:1

Komposisi asam lemak pada minyak makan merah sangat berubah setelah mengalami inkubasi dengan konsentrat asam lemak n-3 dan biokatalis enzim lipase. Dimana enzim lipase serta ratio konsentrat asam lemak n-3 dan minyak makan merah yang berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi EPA dan DHA dan total asam lemak n-3 dalam produk minyak makan merah yang termodifikasi.

Peningkatan ratio konsentrat asam lemak n-3 dan minyak makan merah dapat meningkatkan inkorporasi EPA, DHA, dengan menggunakan biokatalis lipase dedak padi. Peningkatan inkorporasi terbesar untuk EPA diperoleh pada perbandingan pereaksi 3:3, suhu 40 C, waktu 4 jam yaitu 39,57 %, sedangkan inkorporasi terbesar untuk DHA diperoleh pada perbandingan pereaksi 3:1, suhu 40 C, waktu 4 jam, yaitu 5,69 %

Dengan demikian hasil penelitian ini menyatakan bahwa lipase dedak padi merupakan biokatalisator yang baik untuk proses asidolisis enzimatik minyak kelapa merah

Dari gambar 2 dan 4 dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrat asam lemak omega-3 (minyak ikan tuna) dan minyak makan merah 1:3 baik harga EPA dan DHA

mengalami kenaikan yang signifikan. Fenomena ini berhubungan dengan sifat spesifisitas enzim lipase serta tingkat kompetisi antara EPA dan DHA dalam mencapai sisi aktif enzim

Ratio EPA dan DHA pada konsentrat asam lemak omega-3 mencapai (3:3), jumlah molekul EPA jauh lebih banyak dibandingkan dengan DHA, ini sangat berpengaruh dalam tingkat peluang keduanya untuk diinkorporasi ke dalam minyak makan merah oleh enzim lipase. Pada awalnya inkorporasi EPA yang jauh lebih banyak dari pada DHA yang terjadi pada penggunaan ratio konsentrat asam lemak omega-3 dan minyak makan merah (1:3 sampai 3:1). Besarnya harga EPA diduga bahwa lipase miehei tidak mampu menginkorporasi DHA pada molekul gliserida yang telah dimiliki DHA

Inkorporasi DHA dan total asam lemak omega-3 telah mencapai maksimal pada konsentrat asam lemak omega-3 tiga dan minyak makan merah 1:3 pada waktu 4 jam dan suhu 40° C, dengan enzim lipase miehei. Sedangkan inkorporasi EPA dan total omega-3 mencapai maksimal pada konsentrat asam lemak omega-3 dan minyak makan merah (3:3) pada waktu 4 jam dan suhu 40° C dengan enzim lipase miehei. Hal ini karena adanya Substrate Inhibition pada tingkat ratio konsentrat asam omega-3 dan minyak makan merah tinggi, serta tingkat kompetisi dan peluang antara molekul asam

lemak dan molekul gliserida untuk mencapai sisi aktifenzim.

Dengan jumlah molekul asam lemak yang lebih tinggi pada tingkat ratio konsentrat asam lemak omega-3 dan minyak makan merah yang tinggi, maka molekul gliserida kalah bersaing dengan molekul asam lemak dalam akses kesisi aktifenzim

Kinetika reaksi pada reaktor enzimatis ini dibuat dengan berdasarkan reaksi transesterikasi overall, dengan asumsi bahwa pereaktan dibuat berlebih (3:1) dan reaksi berlangsung irreversible Model kinetika pseudo-first orde. (dapat dilihat dari grafik gambar 15) sedangkan harga k untuk penentuan kecepatan reaksi terlihat pada grafik gambar 11-14

Perubahan komposisi gliserida dalam masing-masing produk minyak makan merah termodifikasi ini berhubungan dengan kecepatan reaksi yang dipengaruhi oleh ratio konsentrat asam lemak omega-3 sebagai donor EPA dan DHA serta minyak makan merah sebagai sumber molekul gliserida

*** Inkorporasi EPA dan total Omega-3**

mencapai maksimal pada konsentrat asam lemak omega-3 dan minyak makan merah (3:3) pada waktu 4 jam dan suhu 40° C dengan enzim lipase miehei.

Hal ini karena adanya Substrate Inhibition pada tingkat ratio konsentrat asam omega-3 dan minyak makan merah tinggi, serta tingkat kompetisi dan peluang antara molekul asam lemak dan molekul gliserida untuk mencapai sisi aktifenzim.

Dengan jumlah molekul asam lemak yang lebih tinggi pada tingkat ratio konsentrat asam lemak omega-3 dan minyak makan merah yang tinggi, maka molekul gliserida kalah bersaing dengan molekul asam lemak dalam akses kesisi aktifenzim

Kinetika reaksi pada reaktor enzimatis ini dibuat dengan berdasarkan reaksi transesterikasi overall, dengan asumsi bahwa pereaktan dibuat berlebih (3:1) dan reaksi berlangsung irreversible Model kinetika pseudo-first orde. sedangkan harga k untuk penentuan kecepatan reaksi terlihat pada grafik gambar 6

Perubahan komposisi gliserida dalam masing-masing produk minyak makan merah termodifikasi ini berhubungan dengan kecepatan reaksi yang dipengaruhi oleh ratio konsentrat asam lemak omega-3 sebagai donor EPA dan DHA serta minyak makan merah sebagai sumber molekul gliserida

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN:

1. Minyak makan merah merupakan alternatif sumber **Asam lemak** kaya omega-3 (EPA dan DHA) dengan teknik asidolisis dengan minyak ikan tuna memakai biokatalis enzim lipase dedak padi
2. Semakin tinggi ratio konsentrat minyak makan merah/minyak ikan tuna (3:1) yang digunakan maka semakin tinggi tingkat inkorporasi asam lemak EPA dan DHA pada minyak makan

- merah. Sebaliknya semakin rendah perbandingan minyak makan merah/minyak ikan tuna (1:3) maka makin rendah tingkat inkorporasi asam lemak EPA dan DHA pada minyak ikan merah
3. Lipase sangat baik untuk digunakan sebagai biokatalis proses inkorporasi asam lemak kaya omega -3 pada minyak makan merah dan minyak ikan tuna
 4. Tingkat inkorporasi paling tinggi dihasilkan pada waktu reaksi 4 jam; suhu reaksi 40°C dan perbandingan minyak makan merah/minyak ikan tuna 3:1 Hasil EPA : 34,22% ;DHA: 5,65 %, Kecepatan reaksinya: 619,67 mo l/jam
 5. Dengan optimasi kondisi operasi asidolisis ,sifat spesifik enzim lipase yang digunakan pada penelitian ini dapat dieksploitasi sehingga dapat menghasilkan asam lemak omega 3 yang optimal

UCAPAN TERIMA KASIH:

Peneliti mengucapkan terma kasih kepada LPPM Undip yang telah memberikan kesempatan pada Tim kami untuk melakukan penelitian dari dana desentralisasi Hibah bersaing DP2M Dikti tahun anggaran 2010,kami ucapkan terima kasih pula kepada Ibu dekan Fakultas Teknik dan Ketua PSD III Teknik Kimia yang sudah memberikan fasilitas hingga penelitian ini selesai

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., Hartati, I., dan Yulianto, M.E., 2007, "Model Regresi Biokonversi Buah Kelapa Sawit Menjadi Asam Lemak Secara Enzimatis", Laporan Penelitian Fundamental DIKTI.
- Bailey, A. E, 1950, "Industrial Oil and Fat Products", Interscholastic Publishing, Inc, New York.
- Benjamin Harrow, W.B, 1946, "Textbook of Biochemistry", Saunders Company, Philadelphia.
- Edward Staunton West and Wilbert, Todd, 1957, " Textbook of Biochemistry", second edition, The Macmillan Company, New York.
- Ernest Baldwin, 1952, "Dynamic Aspect of Biochemistry", Cambridge University Press.
- Padiloglu, S., Ciftci, O.N., Gogus, F., 2003, "Reduction of Free Fatty Acid Content of Olive-Pomace Oil by Enzymatic Glycerolysis," Food Science and Technology International (Abstract), Vol. 9, No. 1, p.11-15.
- Gunstone, F.D, 1987, "Critical Reports on Applied Chemistry, Volume 15, Palm Oil", John Wiley & Sons, New York.
- Hamilton, R.J and Bhati, A, 1987, "Recent Advantages in Chemistry and Technology of Fats and Oils", Elsevier Applied Science Publisher, London.

- Harry, J and Dewel, Jr, 1955, "Biochemistry, Volume II, The Lipids Their Chemistry And Biochemistry", Intel-science Publisher, Inc. New York.
- Harry, W. Lawson, 1985; 'Standards for Fats & Oils', Volume V, The Avi Publishing Company, Inc, Westport, Connecticut.
- Hartati, I., Yulianto, M.E., and Paramita, V., 2006, "Prestudy of the fatty Acid Production from Palm Oil Fresh Fruit Through Direct Enzymatic Hydrolisis Process", PROSIDING Seminar Nasional MIPA Kimia UNS, 9 September, hal. 252 - 256.
- Hartati, I., and Yulianto, M.E., 2007, " The Effect of Buffer Addition and Water Concentration on the Fatty acids Production from Palm Fresh Fruit by Direct Enzymatic Hydrolisis Process", Jurnal Metana, Vol. 3, No. 2.
- Henry Tauber, 1950, 'The Chemistry and Technology of Enzymes', John Wiley & Sons, Inc, New York.
- Hiol, A., Jonzo, M.D., Druet, D., and Comeau, L., 1999, 'Troduction, Purification, and Characterization of an Extrasellular Lipase from *Mucor hiemalis f. Hiemalis*', Enzym and Microbial Technology, 25, hal. 80 — 87.
- Holtman, A., Under supervisor of Ganzelveld, K.J., and Manurung, R., 2003, 'Tn situ Direct Hydrolysis of Palm Oil', Rug - ITB - Agrical.
- <http://www.americanpalmoil.com/glossarv.html#14>
- <http://www.aitl.info/viewarticle.pl.pPid^3535>
- <http://www.fst.sagepub.com/cgi/content/abstract/19/1/11>
- <http://www.indiamart.com/muezhest/ttp://www.freepatentsoniinePatent42Q8432.htm>
- <http://www.freepatentsonlinePatent55187S4.htm>
- <http://www.freepatentsonlinePatent6706502.htm>
- Ketaren, S, 1986, "Minyakdan Pangan", Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Muhamad Wirahadikusumah, 1985, "Biokimia, Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid", Penerbit ITB, Bandung.
- Nord, F.F, 1948, "Advances in Enzymology", Volume III, Interscience Publishers, Inc, New York.
- Nord, F.F, 1954, "Advances in Enzymology", Volume XV, Interscience Publishers, Inc, New York.
- Olie, J.J and Tjeng, T.D, 1988; 'The Extraction of Palm Oil', Stork Amsterdam.
- Simopoulus, A.P., 1991, "Omega-3 fatty acid in health and dicease and in growth and development", American Journal Chem.Nutrition.54,438-463

- Sambanthamurthi, R., and Kushairi, A., 2002, "Selection for Lipase Activity in The Oil Palm", MPOB TT.14L
- Sukandar, S, 2007, 'Tahun ini, Produksi CPO Dunia 38,4 Juta Ton", Media Indonesia, 10 Maret.
- Philip, H. Mitchell, PhD, 1946, "A Textbook of Biochemistry", Me Graw Hill Book Company, Inc, New York.
- Yassin, A.A., Mohamed, I.O., Ibrahim, M.N., Yusoff, M.S. 2003, "Effect of Enzymatic Interesterification on Melting Point of Palm Olein," Appi Biochem Biotechnol. (Abstract), Vol. 110 No. 1, July, p. 45-52.
- Yulianto, M.E., Broto, R.W., and Pudjihastuti, I., 2005, "Studi Awal Pembuatan Asam Lemak Secara Enzimatis Dari Buah Segar Kelapa Sawit", Jurnal Metana, Vol. 1, No. 2, hal22-27.
- Wahyuningsih., 2007, "Pembuatan Asam lemak Dari Buah Segar Kelapa Sawit Secara Enzimatis Menggunakan Buffer Fosfat", Laporan Penelitian PKM-DIKTI.