

Optimasi Pencampuran Minyak Nabati Bebas Lemak Trans untuk Cokelat Isian Menggunakan Software Design Expert 13

[Blending Optimization of Free Trans Vegetable Oils for Chocolate Filling with Software Design Expert 13]

Sherly Panuju¹⁾, Sugiyono^{1,2)*}, dan Dase Hunaefi^{1,2)}

¹⁾ Program Studi Magister Teknologi Pangan, Sekolah Pascasarjana, IPB University, Bogor, Indonesia

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor, Indonesia

Diterima 7 September 2023 / Direvisi 29 April 2024 / Disetujui 8 Mei 2024

ABSTRACT

Restriction of trans fatty acids (TFA) in the diets due to their negative impacts on health has led to the development of various TFA-free products. Blending is one of the common methods used to obtain TFA-free fats. This study aimed to obtain optimum formula of TFA-free oil, designed by using Design Expert 13 mixture with a simplex-lattice design for chocolate filling application. There were four types of oils, namely palm oil (PO), palm olein (PL), palm kernel oil (PKO), and chemically interesterified palm oil (CIE). Analysis was performed on chemical and physical properties of the oil blends as well as the physical properties of chocolate filling made from the oil blends. Commercial partially hydrogenated oil (PHO) was used as a comparison. The results showed that two out of six oil blends were recommended by the software, and both conformed to the specifications of commercial PHO, namely E (blend of 48% CIE and 52% PL) and F (blend of 33% CIE, 21% PKO, 17% PL, and 29% PO). The induction period (IP) and crystallization rate of sample E and F are lower than PHO. All chocolate fillings showed good emulsion stability (oil released <0.1%). The texture of chocolate fillings F and E were softer than PHO. Principal component analysis and orthogonal partial least square-discriminant analysis graphs showed that all samples were located in different cluster, but sample F was closer to PHO compared to E. In conclusion, although the optimum blends obtained through the use of Design Expert had similar solid fat content to PHO, the chemical and physical characteristics of the oil blend and chocolate filling were significantly different from PHO. Therefore, there is a further need to evaluate the use of E or F blends to replace PHO.

Keywords: blending, chocolate filling, solid fat content, trans fatty acid, vegetable fat

ABSTRAK

Pembatasan asam lemak trans (ALT) dalam diet karena dampak negatifnya terhadap kesehatan telah mendorong munculnya berbagai pengembangan produk bebas ALT. Pencampuran merupakan satu metode yang umum digunakan untuk memperoleh minyak bebas ALT. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula optimal minyak nabati bebas ALT menggunakan software Design Expert 13 *mixture design simplex-lattice* untuk aplikasi cokelat isian. Minyak yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak sawit (PO), minyak sawit olein (PL), minyak inti sawit (PKO) dan minyak sawit yang diinteresterifikasi secara kimia (CIE). Pengujian dilakukan terhadap sifat kimia dan fisik campuran minyak, serta sifat fisik dari cokelat isian yang dibuat dari campuran minyak tersebut. Minyak komersial yang dihidrogenasi parsial (PHO) digunakan sebagai pembandingan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa dua dari enam formula campuran minyak yang direkomendasikan oleh software, memiliki kesesuaian dengan spesifikasi PHO komersial, yaitu minyak E (campuran dari CIE 48% and PL 52%) dan F (campuran dari CIE 33%, PKO 22%, PL 16%, dan PO 29%). Nilai periode induksi (IP) dan laju kristalisasi minyak E dan F lebih rendah dibandingkan dengan PHO. Semua cokelat isian memiliki kestabilan emulsi yang baik (pemisahan minyak <0,1%). Tekstur cokelat isian sampel E dan F lebih lunak dibanding PHO. Grafik *principal component analysis* dan *orthogonal partial least square-discriminant analysis* menunjukkan bahwa ketiga sampel berada pada kluster yang berbeda, akan tetapi sampel F lebih dekat ke PHO dibandingkan sampel E. Sebagai kesimpulan, walaupun dengan bantuan software Design Expert dapat dihasilkan campuran minyak optimum yang memiliki kemiripan kandungan lemak padat (KLP) dengan PHO, terdapat karakteristik kimia dan fisik dari minyak nabati dan cokelat isian yang berbeda nyata. Oleh karena itu, perlu dilakukan evaluasi lebih lanjut penggunaan campuran minyak E atau F sebagai pengganti PHO dalam pembuatan cokelat isian.

Kata kunci: asam lemak trans, cokelat isian, kandungan lemak padat, lemak nabati, pencampuran

*Penulis Korespondensi: E-mail: sugiyono@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Cokelat isian berbasis minyak merupakan produk yang dibuat dari campuran satu atau lebih produk kakao dengan atau tanpa bahan pangan lain yang memiliki karakteristik dasar kadar minyak tidak kurang dari 25% dan kadar air tidak lebih dari 2% (BPOM, 2023). Bahan-bahan yang biasa digunakan dalam pembuatan cokelat isian meliputi minyak nabati, gula, cokelat bubuk, susu bubuk, *whey* bubuk dan bahan lainnya (Cavella *et al.*, 2020). Umumnya, cokelat isian mengandung minyak sejumlah 30–60% sehingga pemilihan jenis minyak harus mempertimbangkan banyak aspek, diantaranya: (1) kualitas produk akhir yang ditargetkan (tekstur, umur simpan, kemungkinan adanya separasi dan migrasi lemak, serta adanya sumber lemak lain yang tidak kompatibel), dan (2) persyaratan nutrisi dan regulasi (kandungan asam lemak jenuh, asam lemak tak jenuh tunggal dan ganda serta lemak trans) (Beckett, 2009).

Asam lemak trans (ALT) merupakan asam lemak tak jenuh dengan sedikitnya satu ikatan karbon-karbon non konjugasi dalam konfigurasi trans. Berdasarkan sumbernya, ALT dapat dikategorikan menjadi dua yaitu: (1) ALT yang berasal dari sumber alami seperti ALT yang terbentuk dalam saluran pencernaan hewan ruminansia melalui proses biohidrogenasi parsial dari asam lemak tak jenuh, dan (2) ALT dari proses industri yang berasal dari minyak yang dihidrogenasi sebagian (*partially hydrogenated oil*/PHO) (Bhandari *et al.*, 2020). ALT dapat mengakibatkan obesitas, resistensi terhadap insulin, penyakit jantung koroner (PJK), kanker dan inflamasi (Pipoyan *et al.*, 2021). Tikus percobaan yang diberi perlakuan diet dengan tambahan 5% ALT selama 14 minggu memperlihatkan kondisi aterosklerosis, inflamasi sitokin dan stres oksidatif (Monguchi *et al.*, 2017).

WHO (2023) merekomendasikan batas maksimum konsumsi ALT tidak lebih dari 1% dari total konsumsi energi harian. Indonesia termasuk di antara beberapa negara yang belum mengeluarkan regulasi khusus terkait ALT. Hal ini mungkin disebabkan oleh masih rendahnya konsumsi minyak dan lemak pada masyarakat Indonesia. Data yang dikeluarkan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan pada tahun 2014, menyebutkan bahwa di Indonesia rata-rata konsumsi harian minyak, lemak, dan olahannya adalah 37,4 g per orang (Siswanto, 2014).

Rekomendasi dari WHO tersebut membuat produsen pangan semakin berhati-hati dalam memilih minyak nabati yang akan digunakannya. Saat ini masih terdapat minyak nabati komersial untuk aplikasi cokelat isian, berbahan dasar PHO dan mengandung ALT sejumlah 12%, yang perlu direformulasi. Upaya menghilangkan minyak trans masih mengalami banyak kendala karena karakteristik khas

yang dimiliki oleh minyak trans. Keberadaan isomer minyak berkonfigurasi trans dapat memengaruhi *melting behaviour*, polimorfisme, tekstur, dan stabilitas oksidatif produk akhir (Yamoneka *et al.*, 2019). Reformulasi campuran minyak nabati harus dilakukan dengan cermat agar tidak mengubah kualitas cokelat pasta yang dihasilkannya.

Metode penggantian PHO yang umum dilakukan di industri ada tiga yaitu: (1) penggunaan minyak sawit dan turunannya, (2) pencampuran fisik dengan minyak sawit yang dihidrogenasi penuh, dan (3) proses interesterifikasi (Bhandari *et al.*, 2020). Metode pencampuran relatif mudah dilakukan dan dapat diaplikasikan pada berbagai jenis minyak untuk mencapai persyaratan mutu, konsistensi, dan stabilitas tertentu. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan formula optimal minyak nabati bebas ALT untuk aplikasi cokelat isian menggunakan *software Design Expert 13 mixture design simplex-lattice*. Metode *simplex-lattice* umum digunakan untuk melakukan optimasi formula pada berbagai komposisi bahan yang berbeda, dan dapat pula digunakan untuk mengetahui jumlah uji yang harus dijalankan dengan menjaga konsentrasi total tetap konstan (Ramadhani *et al.*, 2017). Kandungan lemak padat (KLP) digunakan sebagai respon karena diharapkan bahwa minyak yang memiliki kemiripan nilai KLP akan memiliki sifat fisik yang mirip pula.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat campuran minyak nabati adalah minyak sawit/*palm oil* (PO), minyak sawit fraksi olein/*palm olein* (PL), minyak inti sawit/*palm kernel oil* (PKO) dan minyak yang berasal dari proses interesterifikasi kimia/*chemically interesterified* (CIE). PHO yang digunakan sebagai pembanding merupakan PHO komersial, berasal dari PL yang dihidrogenasi sebagian. Sampel minyak diperoleh dari PT Asianagro Agungjaya, Jakarta, Indonesia pada tanggal 20 November 2022. Bahan pembuat cokelat isian berupa gula pasir, cokelat bubuk, susu skim bubuk, lesitin kedelai (Bunge, Amerika Serikat), dan perisa vanila yang dibeli dari pemasok lokal.

Pelaksanaan penelitian

Penelitian dibagi menjadi tiga tahap yaitu: (1) optimasi rasio campuran minyak nabati bebas ALT, (2) analisis bilangan lod (BI), komposisi asam lemak (KAL), *induction period* (IP), dan kinetika kristalisasi dari campuran optimum dan minyak pembanding serta, (3) pembuatan cokelat isian dan analisis pemisahan minyak atau *oil released*/OR dan tekstur/*hardness* dari cokelat isian yang terbuat dari campuran optimum dan minyak pembanding.

Pembuatan campuran minyak

Campuran optimum diperoleh dengan bantuan *mixture design simplex-lattice* (*Design-Expert* 13, Stat-Ease Inc., Minneapolis, Amerika Serikat). Campuran minyak untuk analisis kandungan lemak padat (KLP) sejumlah 100 g dibuat sesuai dengan Tabel 3. Parameter KLP minyak PHO yang digunakan sebagai pembanding tersaji pada Tabel 1. KLP dipilih sebagai acuan dalam optimasi karena diharapkan minyak yang memiliki KLP serupa akan memiliki sifat fisik yang tidak berbeda nyata.

Tabel 1. Spesifikasi PHO komersial
Table 1. Specification of commercial PHO

Parameter (<i>Parameter</i>)	Spesifikasi (%) (<i>Specification (%)</i>)
BI (IV) (g I ₂ /100 g)	49–52
KLP (SFC) 10 °C (%)	57–66
KLP (SFC) 20 °C (%)	28–37
KLP (SFC) 25 °C (%)	15–20
KLP (SFC) 30 °C (%)	7–2
KLP (SFC) 35 °C (%)	0–6
ALT (TFA) (%)	8–15

Keterangan: PHO= minyak yang dihidrogenasi parsial dan mengandung asam lemak trans, KLP= kandungan lemak padat, ALT= asam lemak trans

Note: PHO= *partially hydrogenated oil that contains trans fat*, SFC= *solid fat content*, TFA= *trans fatty acids*

Analisis kandungan lemak padat

Metode yang digunakan adalah AOCS Cd 16b-93 untuk *non stabilizing oil and fat* (AOCS, 2012). Penangas air (Huber, Italia) digunakan untuk mengondisikan suhu minyak sebelum dilakukan pengukuran KLP dengan alat pNMR (Bruker Minispec mq20 *Solid Fat Content Analyzer*, Jerman). Pengujian dilakukan *triplo* untuk setiap sampel.

Analisis bilangan lod, komposisi asam lemak, dan indeks stabilitas minyak

Analisis bilangan lod dilakukan berdasarkan AOCS Cd 1b-87 (AOCS, 2012) dengan metode titrasi. Komposisi asam lemak dianalisis dengan alat kromatografi gas (Agilent 7890, kolom CP-Sil 88, Amerika Serikat) menurut metode AOCS Ce 1-62 (AOCS, 2012). Bahan kimia untuk analisis antara lain pelarut n-heptana, metanol, sikloheksana, KOH, larutan Wijs, Na₂S₂O₃ (Merck, Jerman). Standar *fatty acid methyl ester/FAME* yang digunakan berasal dari Restek (AS). Stabilitas minyak terhadap oksidasi ditentukan dengan mengukur *induction period* pada suhu 120 °C menggunakan alat Metrohm Rancimat Model 892 (AS) berdasarkan metode AOCS (2012). Analisis dilakukan *triplo* untuk setiap sampel.

Analisis kinetika kristalisasi

Analisis kinetika kristalisasi menggunakan alat pNMR (Bruker Minispec mq20 *Solid Fat Content*

Analyzer) dilakukan berdasarkan penelitian Chikhouné *et al.* (2020). Sampel minyak dipanaskan di atas *hot plate* (Thermo Scientific, Amerika Serikat) sehingga mencapai suhu 60 °C selama 30 menit. Kemudian sampel dimasukkan ke tabung NMR dengan ketinggian 4±1 cm dan dipanaskan dalam oven (Binder, Jerman) bersuhu 70 °C selama 30 menit untuk menghilangkan kristal lemak yang masih tersisa. Tabung yang berisi sampel dipindahkan ke penangas air (Huber, Italia) dengan suhu 20 °C. KLP diukur setiap dua menit selama 40 menit. Analisis dilakukan *duplo* untuk setiap sampel. Perhitungan indeks Avrami yang mencakup konstanta laju pembentukan kristal lemak (*k*) dan eksponen Avrami (*n*) dilakukan sesuai dengan Persamaan (1). Waktu paruh kristalisasi (*t*_{1/2}) dihitung dengan Persamaan (2).

$$\frac{KLP}{KLP \text{ Maksimum}} = 1 - \exp(-kt^n) \dots \dots \dots (1)$$

$$t_{1/2} = \left(\frac{\ln 2}{k} \right)^{\frac{1}{n}} \dots \dots \dots (2)$$

Pembuatan coklat isian

Bahan-bahan pembuatan coklat isian seperti tersaji pada Tabel 2 dimasukkan ke dalam *ball mill* (PD Bumi Logam, Bogor) berkapasitas maksimum 8 kg sesuai urutan dimulai dari campuran minyak nabati yang sudah dicairkan pada suhu 55–60 °C, gula, susu bubuk, coklat bubuk, lesitin kedelai, dan perisa vanila. Campuran dihaluskan dengan *ball mill* selama dua jam sambil disirkulasi, lalu dimasukkan ke dalam wadah plastik tertutup berkapasitas 400 g dan disimpan pada ruangan bersuhu 15–20 °C selama 3 jam untuk dilakukan analisis lebih lanjut (Ratnawati, 2021). Pembuatan coklat isian dilakukan satu ulangan.

Tabel 2. Formulasi coklat isian (modifikasi dari Edwards, 2009)

Table 2. Chocolate filling formulation (Edwards 2009, modified)

Bahan (<i>Ingredients</i>)	Berat (g) (<i>Weight (g)</i>)	%(b/b) (% <i>(w/w)</i>)
Coklat bubuk (<i>Cocoa powder</i>)	400	10.00
Lemak nabati (<i>Vegetable fat</i>)	1200	30.00
Susu bubuk skim (<i>Skim milk powder</i>)	400	10.00
Gula pasir (<i>Sugar</i>)	1982	49.55
Lesitin kedelai (<i>Soy lecithin</i>)	16	0.40
Perisa vanila (<i>Vanilla flavor</i>)	2	0.05

Analisis stabilitas emulsi

Sampel coklat isian disimpan pada suhu 20 °C selama 3 jam sebelum diuji. Sejumlah 1 g sampel dimasukkan ke dalam tabung, lalu disentrifusi

dengan kecepatan 10.000 rpm (MiniSpin Eppendorf, Amerika Serikat) selama 15 menit (Naeli *et al.*, 2020), lalu posisi tabung dibalikkan untuk mengambil minyak yang terpisah. Analisis dilakukan *triplo* untuk setiap sampel. Semakin banyak pemisahan minyak/*oil released* (OR) maka stabilitas emulsi semakin rendah. OR dihitung dengan Persamaan (3).

$$Oil\ Released\ (\%) = \frac{\text{berat minyak yang terpisah (g)}}{\text{berat sampel coklat pasta (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Analisis tekstur

Metode yang digunakan adalah AOCS Cj 4-00 (AOCS, 2012) dengan alat *Texture Analyzer* (TA.XT ExpressC, Stable Micro System, Inggris). Sampel dalam gelas piala 100 mL yang sudah dikondisikan pada suhu ruang selama dua hari, ditusuk dengan *cone probe* (P/45C). Analisis dilakukan *triplo* untuk setiap sampel.

Analisis data

Data hasil penelitian dinyatakan sebagai rata-rata±standar deviasi, lalu dilakukan analisis ragam satu arah (*One Way ANOVA*) dengan *software* IBM SPSS 27 (AS). Jika terdapat perbedaan nyata, dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan α= 0,05. Analisis multivariat PCA dan OPLS-DA dilakukan dengan bantuan *software* SIMCA (AS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Campuran minyak nabati yang optimal untuk pembuatan coklat isian

Software Design Mixture merekomendasikan enam campuran (A, B, C, D, E, dan F) untuk diuji lebih lanjut seperti tersaji pada Tabel 3. Parameter KLP pada suhu 10, 20, 25, 30, dan 35 °C menjadi parameter acuan yang menentukan rasio pencampuran. KLP merupakan karakteristik fisik yang menentukan penampakan, *mouthfeel*, *spreadability*, dan karakteristik sensori suatu minyak. KLP juga menggambarkan sifat pelelehan/*melting behaviour* dan tekstur/*hardness* yang sangat memengaruhi fungsionalitas dari lemak atau minyak (Li *et al.*, 2018; Norazlina *et al.*, 2022). KLP berhubungan dengan posisi asam lemak di dalam trigliserida, derajat ketidakjenuhan, dan panjang rantai asam lemak (Jahurul *et al.*, 2014). Tabel 4 menunjukkan bahwa campuran sampel E dan F memiliki KLP yang sesuai dengan syarat mutu KLP PHO yang disajikan pada Tabel 1, sehingga kedua campuran ini dipilih untuk diuji pada tahap selanjutnya.

Bilangan lod dan komposisi asam lemak nabati PHO, E, dan F

Bilangan lod (BI) menunjukkan derajat ketidakjenuhan dari minyak. Tabel 5 menunjukkan bahwa BI untuk ketiga sampel yang diuji berbeda nyata. Hal ini dipengaruhi oleh komponen minyak penyusunnya. BI berbanding lurus dengan kandungan asam lemak tidak jenuh (Norazlina *et al.*, 2022). Komponen terbesar dalam sampel F adalah PKO dan CIE yang banyak mengandung asam laurat (C12:0) yang merupakan asam lemak jenuh rantai menengah. Kandungan PL dalam sampel E dalam jumlah yang cukup tinggi (52%) berkontribusi terhadap nilai BI minyak E. Minyak PHO terbuat dari minyak sawit fraksi olein yang dihidrogenasi parsial sehingga memiliki BI yang paling tinggi di antara ketiganya. Hasil analisis yang tersaji pada Tabel 5 juga menunjukkan bahwa tidak terdapat ALT pada sampel E dan F karena dibuat dari campuran minyak bebas ALT. Minyak PHO mengandung 12% ALT yang berasal dari proses hidrogenasi parsial asam lemak tak jenuhnya.

Tabel 3. Campuran minyak nabati yang direkomendasikan oleh *software* Design Expert 13
 Table 3. Recommended oil blend by software Design Expert 13

Sampel (Sample)	CIE (%)	PKO (%)	PL (%)	PO (%)
A	23.62	3.70	0.00	72.68
B	26.21	0.00	0.00	73.79
C	47.02	2.53	50.45	0.00
D	21.11	9.06	0.00	69.83
E	47.73	0.00	52.27	0.00
F	33.20	21.90	15.83	29.07

Keterangan: CIE= minyak sawit yang diinteresterifikasi secara kimia, PKO= minyak inti sawit, PL= minyak sawit olein, PO= minyak sawit

Note: CIE= chemically interesterified palm oil, PKO= palm kernel oil, PL= palm olein, PO= palm oil

Indeks stabilitas minyak/oil stability index (OSI)

Stabilitas oksidatif merupakan salah satu faktor penting yang perlu diuji karena kerusakan oksidatif dapat memberikan efek negatif terhadap atribut sensori, kandungan nutrisi, dan penerimaan pelanggan (Shin *et al.*, 2021). Oksidasi terdiri dari empat tahap yaitu inisiasi, propagasi I, propagasi II dan terminasi. Tahap inisiasi biasanya cukup lambat dibandingkan tahap propagasi. Tahap ini dikenal juga dengan istilah *induction period* (IP) (Talbot, 2016; Farhoosh, 2021).

Salah satu alat yang biasa digunakan untuk mengukur stabilitas oksidatif adalah Rancimat dari Metrohm. Alat ini bekerja mengevaluasi stabilitas oksidatif minyak dengan cara memberikan gelembung udara yang mengandung oksigen kepada minyak. Minyak yang teroksidasi akan menghasilkan komponen volatil larut air yang dapat meningkatkan konduktivitas air. Semakin tinggi nilai IP berarti sema-

kin tahan suatu minyak terhadap oksidasi (Tonfack Djikeng *et al.*, 2019). Talbot (2016) dan Tonfack Djikeng *et al.* (2019) menyebutkan bahwa IP dari

suatu campuran minyak bergantung kepada KAL, kondisi penyimpanan, dan keberadaan dari senyawa prooksidan atau antioksidan.

Tabel 4. Nilai kandungan lemak padat (KLP) sampel minyak nabati
 Table 4. Solid fat content (SFC) values of oil blend samples

Sampel (Sample)	KLP (SFC) 10 (%) Target 60–70%	KLP (SFC) 20 (%) Target 28–37%	KLP (SFC) 25 (%) Target 15–20%	KLP (SFC) 30 (%) Target 7–12%	KLP (SFC) 35 (%) Target 0–6%
A	56.42±0.55	27.85±0.50	17.30±0.15	9.52±0.05	3.76±0.04
B	58.44±0.12	29.92±0.05	18.72±0.21	10.33±0.13	4.52±0.17
C	59.79±0.72	32.22±0.78	19.09±0.71	8.26±0.09	0.95±0.18
D	56.69±0.16	26.25±0.02	15.54±0.19	8.27±0.03	3.29±0.10
E	61.41±0.56	32.24±0.07	19.41±0.16	8.38±0.19	1.16±0.12
F	64.51±0.12	32.92±0.13	18.10±0.05	7.88±0.04	2.43±0.17
PHO	67.59±0.38	33.72±0.43	19.30±0.24	9.56±0.22	3.44±0.34

Keterangan: A= campuran minyak interesterifikasi kimia (24%), minyak inti sawit (4%), dan minyak sawit (72%); B= campuran minyak interesterifikasi kimia (26%) dan minyak oil (74%); C= campuran minyak interesterifikasi kimia (47%), minyak inti sawit (3%), dan minyak sawit olein (50%); D= campuran minyak interesterifikasi kimia (21%), minyak inti sawit (9%), dan minyak sawit (70%); E= campuran minyak interesterifikasi kimia (48%) dan minyak sawit olein (52%); F= campuran minyak interesterifikasi kimia (33%), minyak inti sawit (22%), minyak sawit olein (16%), dan minyak sawit (29%); KLP= kandungan lemak padat; PHO= minyak komersial yang dihidrogenasi parsial

Note: A= blend of chemically interesterified palm oil (24%), palm kernel oil (4%), and palm oil (72%); B= blend of chemically interesterified palm oil (26%) and palm oil (74%); C= blend of chemically interesterified palm oil (47%), palm kernel oil (3%), and palm olein (50%); D= blend of chemically interesterified palm oil (21%), palm kernel oil (9%), and palm oil (70%); E= blend of chemically interesterified palm oil (48%) and palm olein (52%); F= blend of chemically interesterified palm oil (33%), palm kernel oil (22%), palm olein (16%), and palm oil (29%); SFC= solid fat content; PHO= partially hydrogenated oil

Tabel 5. Bilangan Iod, komposisi asam lemak, dan induction period sampel minyak nabati
 Table 5. Iodine value, fatty acid composition, and induction period of vegetable oil samples

Parameter (Parameter)	PKO	PO	PL	CIE	PHO	E	F
Bilangan Iod (g I ₂ /100 g) (Iodine Value (g I ₂ /100 g))	17.21±0.03	52.64±0.04	60.14±0.04	10.14±0.03	46.40±0.02 ^c	36.07±0.04 ^b	31.03±0.18 ^a
Komposisi asam lemak (%) (Fatty acid composition (%))							
C8:0	3.14±0.21			0.21±0.02	0.21±0.00	0.94±0.12	1.38±0.01
C10:0	3.32±0.06			0.86±0.01	0.20±0.00	0.99±0.11	1.45±0.01
C12:0	49.75±0.11	0.16±0.00	0.19±0.00	20.31±0.06	1.72±0.01 ^a	14.36±1.59 ^b	21.61±0.07 ^c
C14:0	16.95±0.13	0.99±0.00	0.95±0.01	10.33±0.01	1.71±0.01	5.78±0.32	7.99±0.01
C16:0	8.51±0.18	44.82±0.02	38.26±0.06	35.27±0.02	41.71±0.06 ^c	34.13±1.33 ^b	30.33±0.01 ^a
C16:1	0.01±0.00	0.15±0.00	0.18±0.00	0.01±0.00	0.15±0.00	0.11±0.00	0.09±0.00
C18:0	2.09±0.09	4.44±0.01	4.03±0.01	20.69±0.03	7.09±0.03 ^a	9.91±0.38 ^c	7.90±0.02 ^b
C18:1trans	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	11.32±0.10 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
C18:1cis	13.88±0.03	39.50±0.02	44.53±0.05	10.52±0.02	31.38±0.16 ^c	26.57±0.97 ^b	23.34±0.05 ^a
C18:2trans	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.64±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
C18:2cis	2.25±0.02	9.30±0.01	11.18±0.01	1.47±0.00	3.45±0.00 ^a	6.73±0.19 ^c	5.53±0.01 ^b
C18:3cis	0.00±0.00	0.20±0.00	0.21±0.00	0.00±0.00	0.05±0.00	0.13±0.00	0.10±0.00
C20:0	0.06±0.04	0.33±0.00	0.32±0.00	0.27±0.00	0.29±0.00	0.24±0.01	0.20±0.00
C20:1cis	0.05±0.04	0.12±0.00	0.15±0.00	0.06±0.01	0.08±0.00	0.09±0.00	0.08±0.00
Asam lemak jenuh (%) (Saturated fatty acids (%))	83.80±0.03	50.74±0.03	43.74±0.06	87.94±0.03	52.92±0.07 ^a	66.37±1.17 ^b	70.86±0.06 ^c
Asam lemak tak jenuh tunggal (%) (Monounsaturated fatty acids (%))	13.94±0.04	39.77±0.02	44.86±0.05	10.59±0.03	42.94±0.07 ^c	26.77±0.97 ^b	23.51±0.05 ^a
Asam lemak tak jenuh ganda (%) (Polyunsaturated fatty acids (%))	2.25±0.02	9.49±0.01	11.40±0.01	1.47±0.00	4.14±0.00 ^a	6.86±0.20 ^c	5.63±0.01 ^b
Asam lemak trans (%) (Trans fatty acids (%))	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	11.96±0.10 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
Periode induksi (jam) (Induction period (h))					21.36±0.18 ^c	16.89±0.35 ^a	19.74±0.59 ^b

Keterangan: Perbedaan nyata berdasarkan hasil uji lanjut DMRT ($\alpha = 0,05$) ditunjukkan oleh huruf yang berbeda dalam baris yang sama. PKO= minyak inti sawit, PO= minyak sawit, PL= minyak sawit olein, CIE= minyak sawit yang diinteresterifikasi secara kimia, PHO= minyak komersial yang dihidrogenasi parsial, E= campuran minyak interesterifikasi kimia (48%) dan minyak sawit olein (52%), F= campuran minyak interesterifikasi kimia (33%), minyak inti sawit (22%), minyak sawit olein (16%), dan minyak sawit (29%)

Note: Significant differences based on DMRT ($\alpha = 0.05$) were indicated by different superscripts following values on the same row. PKO= palm kernel oil, PO= palm oil, PL= palm olein, CIE= chemically interesterified palm oil, PHO= partially hydrogenated oil, E= blend of chemically interesterified palm oil (48%) and palm olein (52%), F= blend of chemically interesterified palm oil (33%), palm kernel oil (22%), palm olein (16%), and palm oil (29%)

Tabel 5 menunjukkan bahwa minyak E memiliki nilai IP terendah diikuti oleh sampel F dan PHO. Diduga hal ini dipengaruhi oleh KAL dan jumlah antioksidan alami dari komponen penyusunnya. Sampel E terbuat dari 48% lemak CIE. IP minyak yang telah mengalami proses interesterifikasi kimia umumnya menurun dibandingkan dengan campuran minyak sebelum interesterifikasi. Hal ini disebabkan oleh menurunnya kadar antioksidan alami tokoferol dan tokotrienol setelah reaksi dan sesudah proses deodorisasi (Zhang *et al.*, 2021). Perubahan pada struktur trigliserida selama proses interesterifikasi berupa perpindahan gugus asam lemak tak jenuh dari posisi internal sn-2 menjadi posisi eksternal sn-1 dan sn-3 yang lebih mudah mengalami oksidasi, juga dapat menyebabkan penurunan IP (Naeli *et al.*, 2016). Kandungan asam lemak tak jenuh juga berkontribusi terhadap rendahnya nilai IP. Jumlah asam linoleat (C18:2) yang terdapat pada minyak E, 1% lebih tinggi dibanding minyak F. Shin *et al.* (2021) menyebutkan bahwa asam linoleat sepuluh kali lebih cepat teroksidasi dibandingkan dengan asam oleat.

Minyak F lebih unggul dalam hal stabilitas oksidatif (IP 20 jam) dibanding minyak E. Hal ini disebabkan oleh komponen utama (46%) minyak F adalah minyak sawit (PO dan PL), serta minyak inti sawit (PKO). Stabilitas oksidatif minyak tergantung pada derajat kejenuhan dan keberadaan antioksidan alami. Minyak sawit banyak mengandung karotenoid dan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) yang berfungsi sinergis sebagai antioksidan alami yang sangat kuat (Mba *et al.*, 2015; Tonfack Djikeng *et al.*, 2019). PO memiliki jumlah asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh yang hampir seimbang, dan akan menghasilkan kondisi stabil yang optimal. Stabilitas oksidatif PKO lebih tinggi dibandingkan dengan PO karena memiliki kandungan asam lemak tak jenuh yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan PO.

Nilai IP minyak PHO paling tinggi karena terbuat dari PL yang dihidrogenasi parsial. PHO mengandung asam lemak tak jenuh dalam jumlah yang cukup tinggi yaitu sekitar 47%, PHO yang juga mengandung 12% ALT yang tersusun atas C18:1 *trans* dan C18:2 *trans*. Talbot (2016) menyebutkan bahwa C18:1 *trans* lebih lambat teroksidasi dibandingkan dengan C18:1 *cis*.

Kinetika kristalisasi

Model Avrami digunakan untuk menggambarkan proses kristalisasi secara kuantitatif. Tabel 6 menunjukkan bahwa nilai R² model Avrami untuk ketiga sampel cukup tinggi (R²>0,96). Tingginya nilai R² mengindikasikan kesesuaian model (Pangestu *et al.*, 2023). Terdapat perbedaan nyata pada ketiga sampel untuk nilai eksponen Avrami (*n*) dan nilai konstanta Avrami (*k*). Nilai *n* menggambarkan model pertumbuhan inti kristal dan dimensi/ukuran jaringan kristal (Li *et al.*, 2018). Nilai *n* 0,92–1,6 mengindikasikan model pertumbuhan kristal dari kecil dan bulat (*spherulitic*) menjadi kristal berbentuk batang (Zhou *et al.*, 2021). Minyak nabati PHO, E, dan F diduga memiliki bentuk kristal yang *spherulitic* karena nilai *n* mendekati nilai tersebut.

Laju kristalisasi yang lebih rendah ditunjukkan oleh semakin rendahnya nilai *k* dan semakin tingginya nilai *t*_{1/2} (Zhou *et al.*, 2021). Gambar 1 menunjukkan bahwa minyak F memiliki laju kristalisasi yang lebih rendah, diikuti oleh sampel E dan PHO. Kandungan asam lemak jenuh palmitat dan stearat yang lebih tinggi pada minyak E dibanding minyak F diduga berkontribusi terhadap laju kristalisasi. Menurut Müller dan Careglio (2018), kristalisasi dapat diinisiasi oleh asam lemak yang memiliki titik leleh tinggi seperti asam palmitat (63 °C) dan stearat (69 °C). Menurut Zhang *et al.* (2021), lemak yang memiliki laju kristalisasi tinggi cenderung membentuk kristal β'. Adanya perbedaan laju kristalisasi antara minyak nabati E, F dengan PHO perlu diantisipasi pada pembuatan cokelat isian. Menurut Li *et al.* (2018), laju kristalisasi dapat diatur dengan mengatur suhu kristalisasi. Pada suhu yang lebih rendah, laju kristalisasi cenderung lebih cepat.

Oil released (OR)

Cokelat isian termasuk *intermediate moisture food/IMF* yang memiliki *water activity* (*a_w*) sekitar 0,70–0,85 sehingga tidak rentan terhadap pembusukan mikroba karena mikroba umumnya tidak dapat tumbuh pada *a_w* di bawah 0,95 (De Clercq *et al.*, 2017). Salah satu faktor yang memperpendek umur simpan cokelat isian adalah adanya pemisahan minyak/oil released (OR) selama penyimpanan, khususnya ketika ALT tidak ada dan jumlah asam lemak jenuh sedikit (Peyronel *et al.*, 2016).

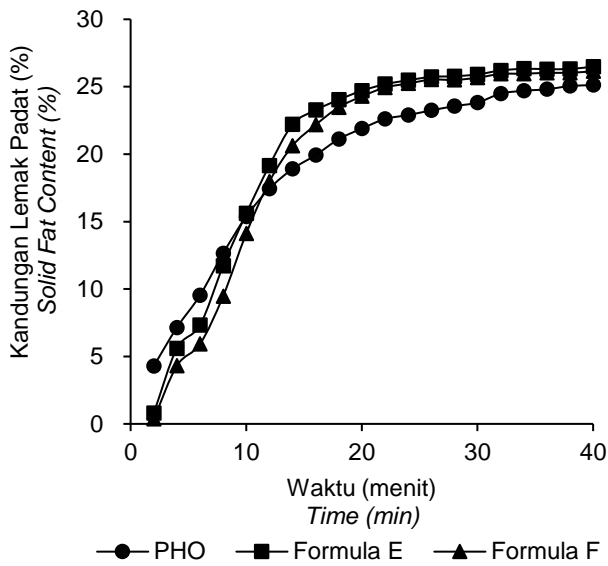
Tabel 6. Indeks Avrami dari minyak nabati PHO, E dan F

Table 6. Avrami Index of vegetable oil PHO, E and F

Lemak Nabati (Vegetable Fat)	R ²	Eksponen Avrami (<i>n</i>)	Konstanta Avrami (<i>k</i>)	<i>t</i> _{1/2} Kristalisasi
PHO	0.98±0.01	1.13±0.01 ^a	0.07±0.00 ^c	7.50±0.31 ^a
E	0.97±0.02	1.64±0.05 ^b	0.02±0.00 ^b	9.43±1.16 ^{ab}
F	0.97±0.02	1.87±0.06 ^c	0.01±0.00 ^a	10.51±0.77 ^b

Keterangan: Perbedaan nyata berdasarkan hasil uji lanjut DMRT (α= 0,05) ditunjukkan oleh huruf yang berbeda dalam kolom yang sama

Note: Significant differences based on DMRT (α= 0.05) were indicated by different superscripts following values on the same column



Keterangan: PHO= minyak nabati yang berasal dari proses hidrogenasi parsial dan masih mengandung asam lemak trans. Formula E= campuran minyak interesterifikasi kimia (48%) dan minyak sawit olein (52%); Formula F= campuran minyak interesterifikasi kimia (33%), minyak inti sawit (22%), minyak sawit olein (16%), dan minyak sawit (29%)

Note: PHO= partially hydrogenated oil that contains trans fat. Formula E= blend of interesterified oil (48%) and palm olein (52%); Formula F= blend of interesterified oil (33%), palm kernel oil (22%), palm olein (26%), and palm oil (29%)

Gambar 1. Diagram kinetika kristalisasi minyak nabati E, F, dan PHO pada suhu 20 °C

Figure 1. Crystallization kinetics of vegetable oil E, F, and PHO at 20 °C

OR yang berlebihan tidak diinginkan karena jika cokelat isian digunakan bersama dengan cokelat pelapis/coating yang tidak kompatibel, migrasi dari OR dapat menimbulkan kebocoran lapisan luar (Manzocco et al., 2014).

OR pada ketiga cokelat isian tidak memiliki perbedaan nyata (Tabel 7). Menurut Manzocco et al. (2014), stabilitas cokelat pasta akan menurun dengan semakin meningkatnya fluiditas dari lemak yang digunakan dalam formulasi. Jika nilai OR <10%, cokelat dapat dikatakan stabil dan tidak mudah terpisah minyaknya. Ketiga sampel yang diuji memiliki OR <1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiganya stabil.

KLP pada suhu 20–22 °C juga menentukan stabilitas dan resistensi terhadap pemisahan minyak pada suhu ruang (Do Santos et al., 2014). Minyak PHO, E, dan F memiliki KLP >30% pada suhu 20 °C. Hal ini diduga merupakan salah satu faktor penyebab rendahnya OR pada pada ketiga sampel cokelat. Selain formulasi, OR juga dipengaruhi oleh kondisi proses. Pendinginan minyak pada suhu lebih rendah

dan waktu yang lebih cepat akan menghasilkan kristal β' yang kecil, halus, dan dapat menstabilkan udara dan komponen cair sehingga sangat efektif menurunkan OR (Peyronel et al., 2016).

Tabel 7. Oil released dan tekstur/hardness cokelat isian dari minyak nabati yang berbeda
Table 7. Oil released and texture/hardness of chocolate filling made from different vegetable oils

Minyak Nabati (Vegetable Oil)	Oil Released (%)	Tekstur/Hardness (Texture/Hardness) (g)
PHO	0.08±0.03 ^a	1362.70±71.10 ^a
E	0.05±0.00 ^a	1023.20±109.59 ^b
F	0.06±0.00 ^a	598.00±47.73 ^c

Keterangan: Perbedaan nyata berdasarkan hasil uji lanjut DMRT (α=0,05) ditunjukkan oleh huruf yang berbeda dalam kolom yang sama

Note: Significant differences based on DMRT (α=0,05) were indicated by different superscripts following values on the same column

Tekstur

Tekstur (hardness) dipengaruhi oleh KAL, KLP dan suhu penyimpanan (Li et al., 2018). Nilai hardness untuk ketiga sampel cokelat isian yang diuji berbeda nyata (p<0,05%). Tabel 7 menunjukkan nilai tekanan yang dibutuhkan untuk melakukan penetrasi terhadap sampel cokelat isian dengan kedalaman satu cm dengan probe berbentuk cone sebagai indikasi dari tekstur (hardness) dan diperoleh hasil bahwa cokelat isian F memiliki nilai hardness terendah. Gaya yang dibutuhkan untuk melakukan penetrasi terhadap sampel cokelat F dan E adalah 44 dan 75% dibandingkan dengan gaya yang dibutuhkan untuk mempenetrasi PHO. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Saghafi et al. (2019), lemak nabati dengan kandungan asam lemak jenuh yang lebih tinggi serta BI rendah akan memiliki nilai hardness yang lebih tinggi. Pada penelitian ini, nilai asam lemak jenuh terendah dan BI tertinggi ada pada sampel F. Perbedaan ini diduga karena hanya 54% asam lemak jenuh pada F yang merupakan asam lemak palmitat dan stearat. Pada sampel E, jumlah asam lemak palmitat dan stearatnya tinggi, yaitu 67% dari total asam lemak jenuh. Kedua asam lemak jenuh ini berkontribusi besar terhadap kristalisasi.

Cokelat dari minyak PHO memiliki hardness paling tinggi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh De Graef et al. (2007) bahwa minyak yang mengandung ALT lebih cepat membentuk kristal dan menghasilkan nilai hardness yang lebih tinggi pada semua suhu saat pengujian dibandingkan dengan minyak bebas ALT. Keberadaan ALT mengurangi efek dari variasi komposisi pada proses kristalisasi. Pada minyak bebas ALT, komposisi kimia menjadi sangat penting dalam menentukan laju kristalisasi, KLP, dan nilai hardness. Berdasarkan

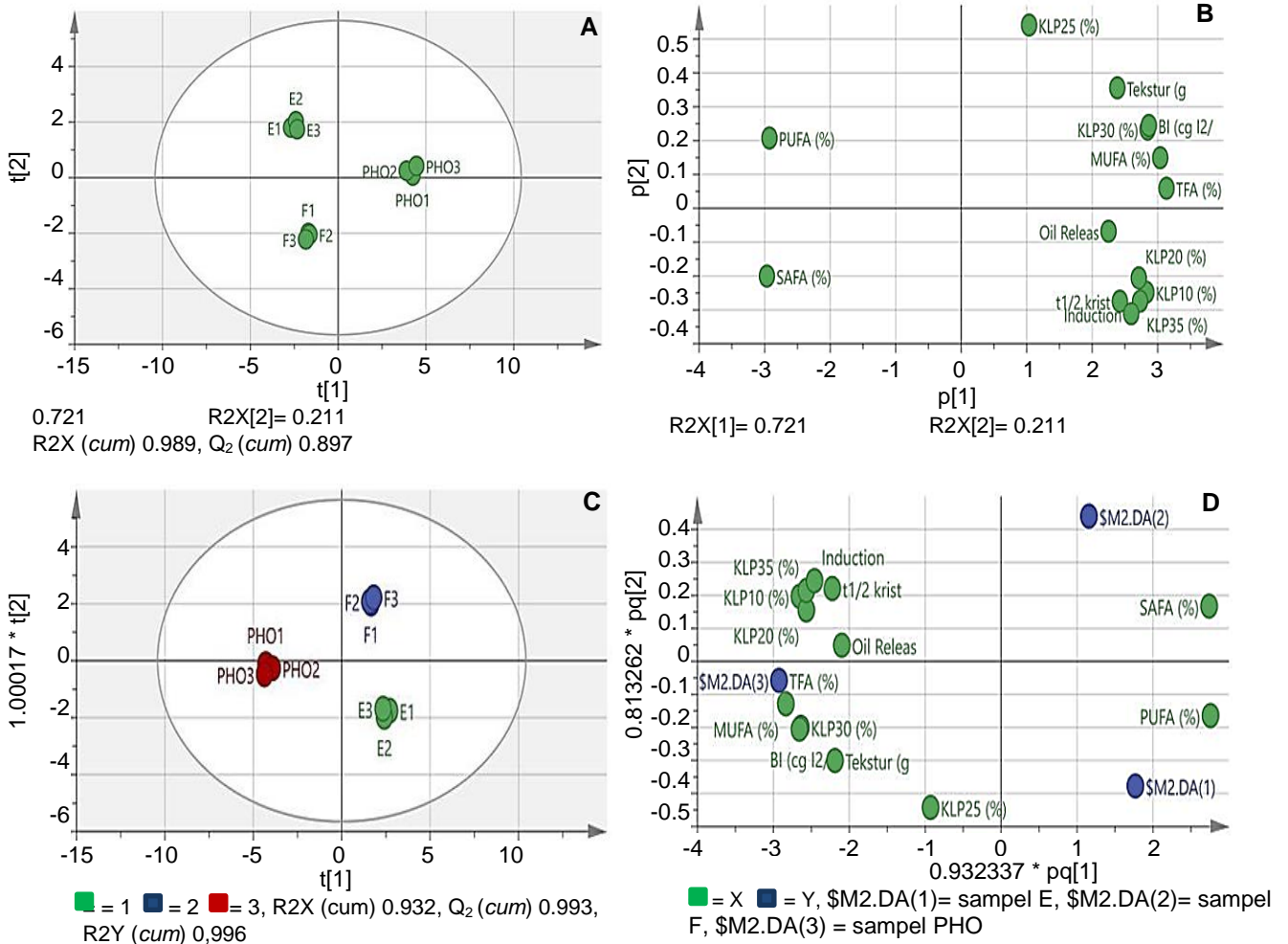
data ini dapat disimpulkan bahwa walaupun nilai KLP ketiga sampel memiliki kemiripan, namun ketiganya menghasilkan tekstur yang berbeda secara signifikan. Hal ini sangat dipengaruhi oleh kandungan asam lemak yang terdapat pada minyak yang tentunya akan mempengaruhi polimorfis dan ukuran kristal lemak. Pada minyak yang memiliki KLP yang serupa, *hardness* dipengaruhi oleh polimorfis dan ukuran kristal lemak (Saghafi *et al.*, 2018).

Hasil PCA dan OPLS-DA

Perbedaan antar sampel secara keseluruhan dapat divisualisasikan dengan analisis multivariat seperti *principal component analysis* (PCA) dan *orthogonal partial least square-discriminant analysis* (OPLS-DA). PCA merupakan metode pengelompokan yang tidak disupervisi, digunakan untuk memperoleh gambaran tentang variasi sampel tanpa pengetahuan tentang kelompok data. OPLS-DA yang

disupervisi, dilakukan untuk mengetahui validitas PCA dalam mengelompokkan dan mengarakterisasi penanda untuk tiap kategori (Ni *et al.*, 2022).

Degree of fit (R^2) dan *predictive power* (Q^2) pada model OPLS-DA dapat digunakan untuk mengidentifikasi atribut dengan perbedaan yang signifikan. R^2X digunakan untuk mengevaluasi kecocokan model, sedangkan R^2Y digunakan untuk mengevaluasi reliabilitas dari model. Parameter ini memiliki nilai antara nol dan satu. Semakin dekat nilainya ke satu, maka model semakin dapat diprediksi atau diinterpretasi (Kang *et al.*, 2022). Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai R^2X , R^2Y , dan Q^2 mendekati satu, sehingga dapat disimpulkan bahwa baik PCA dan OPLS-DA dapat menginterpretasikan dan memprediksikan perbedaan dengan baik. Ketiga sampel yang diuji berada pada kluster yang berbeda (Gambar 2A dan 2C), namun karakter sampel F cenderung lebih dekat ke PHO dibandingkan dengan sampel E.



Gambar 2. Analisis *principal component analysis* (A) score plot dan (B) loading plot, dan *orthogonal partial least square-discriminant analysis* (C) score plot dan (D) loading plot dari sampel E, F, dan PHO
 Figure 2. *Principal component analysis* (A) score plot and (B) loading plot, and *Orthogonal Partial Least Square-Discriminant Analysis* (C) score plot and (D) loading plot of samples E, F, and PHO

Hal ini menunjukkan bahwa walaupun dengan bantuan *software Design Expert* dapat dihasilkan campuran minyak optimum yang memiliki respon KLP yang sesuai dengan spesifikasi, namun terdapat karak-teristik kimia dan fisik dari minyak nabati dan coklat isian yang akan terpengaruh oleh penggantian ini. Hal ini perlu diantisipasi oleh perusahaan jika akan menggunakan minyak E atau F sebagai pengganti PHO.

KESIMPULAN

Campuran minyak nabati E dan F merupakan dua dari enam campuran yang direkomendasikan oleh *software* dan memenuhi spesifikasi produk. Campuran E terbuat dari CIE 48% and PL 52%, sedangkan campuran F terbuat dari CIE 33%, PKO 22%, PL 16%, dan PO 29%. Stabilitas oksidatif yang ditunjukkan oleh nilai IP pada sampel E (18 jam), paling rendah dibandingkan IP sampel lainnya. Nilai IP sampel F dan PHO berturut-turut 20 dan 21 jam. Laju kristalisasi sampel E dan F lebih rendah dibandingkan dengan PHO. Seluruh coklat isian memiliki kestabilan emulsi yang baik terlihat dari nilai *oil released* <0,1%. *Hardness* coklat isian F dan E lebih rendah dibandingkan PHO. Grafik PCA dan OPLS-DA menunjukkan bahwa ketiga sampel berada pada kluster yang berbeda, namun karakter sampel F lebih dekat ke PHO dibandingkan sampel E. Hal ini mengindikasikan bahwa walaupun dengan bantuan *software Design Expert* dapat dihasilkan campuran minyak optimum yang memiliki respon KLP yang sesuai dengan spesifikasi, terdapat karakteristik kimia dan fisik dari minyak nabati dan coklat isian yang akan terpengaruh oleh penggantian ini. Hal ini perlu diantisipasi oleh perusahaan jika akan menggunakan minyak E atau F sebagai pengganti PHO.

PERNYATAAN BEBAS DARI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan bahwa isi artikel ini tidak memiliki konflik kepentingan dengan pihak mana pun.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOCS] American Oil Chemists' Society. (2012). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. USA: American Oil Chemists' Society.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2023). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2023 tentang Kategori Pangan. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Beckett, S. T. (2009). *Industrial chocolate manufacture and use* 4th ed. Wiley-Blackwell, Oxford (UK). <https://doi.org/10.1002/9781444301588>
- Bhandari, S. D., Delmonte, P., Honigfort, M., Yan, W., Dionisi, F., Fleith, M., Iassonova, D., & Bergeson, L. L. (2020). Regulatory changes affecting the production and use of fats and oils: Focus on partially hydrogenated oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 97(8), 797–815. <https://doi.org/10.1002/aocs.12366>
- Cavella, S., Miele, N. A., Fidaleo, M., Borriello, A., & Masi, P. (2020). Evolution of particle size distribution, flow behaviour and stability during mill ball refining of a white chocolate flavouring paste. *LWT-Food Science and Technology*, 132, 109910. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109910>
- Chikhoun, A., Shashkov, M., Piligaev, A. V., Lee, J., Boudjellal, A., & Martini, S. (2020). Isothermal crystallization of palm oil - based fats with and without the addition of essential oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 97(8), 861–878. <https://doi.org/10.1002/aocs.12378>
- De Clercq, N., Van Coillie, E., Horemans, B., Duquenne, B., Vandekerckhove, M., Vlaemynck, G., De Meulenaer, B., & Devlieghere, F. (2017). Thermal humid treatment of walnuts as potential preventive measure against fungal contamination of chocolate confectionery fillings. *Food Control*, 73, 1144–1148. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.031>
- De Graef, V., Foubert, I., Smith, K.W., Cain, F.W., Dewettinck, K. (2007). Crystallization behavior and texture of trans-containing and trans-free palm oil based confectionery fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10258–10265. <https://doi.org/10.1021/jf071967q>
- Dos Santos, M. T., Gerbaud, V., & Le Roux, G. A. C. (2014). Solid fat content of vegetable oils and simulation of interesterification reaction: Predictions from thermodynamic approach. *Journal of Food Engineering*, 126, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.012>
- Edwards, W. P. (2009). Caramels, fondants and jellies as centres and fillings. Di dalam: Talbot G, editor. 2009. *Science and Technology of Enrobed and Filled Chocolate, Confectionery and Bakery Products*. Woodhead & CRC Press, Cambridge (UK), 123–151. <https://doi.org/10.1533/9781845696436.1.123>

- Farhoosh, R. (2021). Initiation and propagation kinetics of inhibited lipid peroxidation. *Scientific Reports*, 11(1), 6864. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86341-9>
- Jahurul, M. H. A., Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. N., Sahena, F., Abedin, M. Z., Mohamed, A., & Omar, A. M. (2014). Hard cocoa butter replacers from mango seed fat and palm stearin. *Food Chemistry*, 154, 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.098>
- Kang, C., Zhang, Y., Zhang, M., Qi, J., Zhao, W., Gu, J., Guo, W., & Li, Y. (2022). Screening of specific quantitative peptides of beef by LC–MS/MS coupled with OPLS-DA. *Food Chemistry*, 387, 132932. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132932>
- Li, Y., Zhao, J., Xie, X., Zhang, Z., Zhang, N., & Wang, Y. (2018). A low trans margarine fat analog to beef tallow for healthier formulations: Optimization of enzymatic interesterification using soybean oil and fully hydrogenated palm oil. *Food Chemistry*, 255, 405–413. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.086>
- Manzocco, L., Calligaris, S., Camerin, M., Pizzale, L., & Nicoli, M. C. (2014). Prediction of firmness and physical stability of low-fat chocolate spreads. *Journal of Food Engineering*, 126, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.042>
- Mba, O. I., Dumont, M. J., & Ngadi, M. (2015). Influence of palm oil, canola oil and blends on characteristics of fried plantain crisps. *British Food Journal*, 117(6), 1793–1807. <https://doi.org/10.1108/BFJ-04-2014-0155>
- Monguchi, T., Hara, T., Hasokawa, M., Nakajima, H., Mori, K., Toh, R., Irino, Y., Ishida, T., Hirata, K. I., & Shinohara, M. (2017). Excessive intake of trans fatty acid accelerates atherosclerosis through promoting inflammation and oxidative stress in a mouse model of hyperlipidemia. *Journal of Cardiology*, 70(2), 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.jcc.2016.12.012>
- Müller, M., & Careglio, E. (2018). Influence of free fatty acids as additives on the crystallization kinetics of cocoa butter. *Journal of Food Research*, 7(5), 86–97. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n5p86>
- Naeli, M. H., Farmani, J., & Zargaraan, A. (2017). Rheological and physicochemical modification of trans-free blends of palm stearin and soybean oil by chemical interesterification. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12409. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12409>
- Naeli, M. H., Milani, J. M., Farmani, J., & Zargaraan, A. (2020). Development of innovative ethyl cellulose-hydroxypropyl methylcellulose biopolymer oleogels as low saturation fat replacers: Physical, rheological and microstructural characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 792–804. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.087>
- Ni, R., Yan, H., Tian, H., Zhan, P., & Zhang, Y. (2022). Characterization of key odorants in fried red and green huajiao (*Zanthoxylum bungeanum* maxim. and *Zanthoxylum schinifolium* sieb. et Zucc.) oils. *Food Chemistry*, 377, 131984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131984>
- Norazlina, M. R., Jahurul, M. H. A., Hasmadi, M., Mansoor, A. H., Patricia, M., & Ramlah, M. R. G. (2022). Physicochemical properties of bambangan kernel fat and its stearin mixtures with cocoa butter. *LWT*, 153, 112556. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112556>
- Pangestu, F. A., Palupi, N. S., Wulandari, N., & Supriyadi, D. (2023). Kinetika kristalisasi campuran minyak sawit bebas asam lemak trans untuk produksi margarin. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 34(1), 37–47. <https://doi.org/10.6066/jtip.2023.34.1.37>
- Pipoyan, D., Stepanyan, S., Stepanyan, S., Beglaryan, M., Costantini, L., Molinari, R., & Merendino, N. (2021). The effect of trans fatty acids on human health: regulation and consumption patterns. *Foods*, 10(10), 2452. <https://doi.org/10.3390/foods10102452>
- Peyronel, F., Campos, R., & Marangoni, A. G. (2016). Prevention of oil migration in palm mid fraction and palm olein using a stabilizer rich in behenic acid. *Food Research International*, 88, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.001>
- Ramadhani, R. A., Riyadi, D. H. S., Triwibowo, B., & Kusumaningtyas, R. D. (2017). Review pemanfaatan design expert untuk optimasi komposisi campuran minyak nabati sebagai bahan baku sintesis biodiesel. *Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*, 1(1), 11–16. <https://doi.org/10.33795/jtkl.v1i1.5>
- Ratnawati, B. D. (2021). Optimasi penggunaan inulin dan spread fat pada coklat pasta tanpa penambahan gula. [Disertasi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Siswanto, S. (2014). Buku studi diet total: Survei konsumsi makanan individu Indonesia 2014. Lembaga Penerbitan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Saghafi, Z., Naeli, M. H., Tabibiazar, M., & Zargaraan, A. (2018). Zero-trans cake shortening: Formulation and characterization of physicochemical, rheological, and textural properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 95(2), 171–183. <https://doi.org/10.1002/aocs.12033>

- Shin, D. M., Yune, J. H., Kim, T. K., Kim, Y. J., Kwon, H. C., Jeong, C. H., Choi, Y. S., & Han, S. G. (2021). Physicochemical properties and oxidative stability of duck fat-added margarine for reducing the use of fully hydrogenated soybean oil. *Food Chemistry*, 363, 130260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130260>
- Talbot, G. (2016). The stability and shelf life of fats and oils. In the stability and shelf life of food. Woodhead Publishing, Inggris, 461–503. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00016-2>
- Tonfack Djikeng, F., Womeni, H. M., Kingne Kingne, F., Karuna, M. S. L., Rao, B. V. S. K., & Prasad, R. B. N. (2018). Effect of sunlight on the physicochemical properties of refined bleached and deodorized palm olein. *Food Research*, 3(1), 49–56. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.3\(1\).209](https://doi.org/10.26656/fr.2017.3(1).209)
- [WHO] World Health Organization. (2023). WHO updates guidelines on fats and carbohydrates. World Health Organization. <https://www.who.int/news/item/17-07-2023-who-updates-guidelines-on-fats-and-carbohydrates> [24 September 2023].
- Yamoneka, J., Malumba, P., Lognay, G., Blecker, C., & Danthine, S. (2019). Irvingia gabonensis seed fat as hard stock to formulate blends for trans free margarines. *LWT*, 101, 747-756. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.053>
- Zhang, Z., Ye, J., Lee, W. J., Akoh, C. C., Li, A., & Wang, Y. (2021). Modification of palm-based oil blend via interesterification: Physicochemical properties, crystallization behaviors and oxidative stabilities. *Food Chemistry*, 347, 129070. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129070>
- Zhou, H., Zhang, Z., Lee, W. J., Xie, X., Li, A., & Wang, Y. (2021). Acyl migration occurrence of palm olein during interesterification catalyzed by sn-1, 3 specific lipase. *LWT*, 142, 111023. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111023>