

Saponifikasi dan Ekstraksi Satu Tahap untuk Ekstraksi Minyak Tinggi Linoleat dan Linolenat dari Kedelai Varietas Lokal

One Step Saponification and Extraction for Extracting High Linoleic and Linolenic Oil from Local Soybean

Teti Estiasih¹, Kgs. Ahmadi², Wenny Bakti Sunarharum¹, R. Amilia D. Kurnain¹

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Jalan Veteran Malang 65145;

²Jurusan Teknologi dan Industri Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Tribhuwana,

Jl.Telaga Warna Blok-C,Tlogo Mas Malang 65145

Email: teties@yahoo.co.id

ABSTRAK

Asam linoleat (LA, *linoleic acid*, C18:2 ω -6) dan asam alfa linolenat (ALA, *alpha linolenic acid*, C18:3 ω -3) merupakan asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA, *polyunsaturated fatty acid*) esensial. Penelitian tentang kedelai varietas lokal sebagai sumber LA dan ALA sangat penting dalam rangka mengurangi ketergantungan terhadap produk minyak tinggi LA dan ALA impor. Akan tetapi, penelitian tentang ekstraksi LA dan ALA dari kedelai varietas lokal yang ada di Indonesia masih sangat terbatas. Teknik ekstraksi yang efisien diperlukan untuk meningkatkan kadar PUFA. Salah satu teknik untuk mengekstrak minyak tinggi LA dan ALA adalah kombinasi saponifikasi dan ekstraksi simultan atau saponifikasi-ekstraksi satu tahap.

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap potensi kedelai varietas lokal sebagai sumber LA dan LA, dan untuk mengembangkan teknik saponifikasi-ekstraksi satu tahap. Kedelai varietas lokal, yaitu Panderman, Wilis, Kaba, Burangrang, dan Anjasmara, dianalisis profil asam lemaknya. Varietas yang digunakan lebih lanjut untuk saponifikasi-ekstraksi satu tahap didasarkan pada kadar LA dan ALA tertinggi. Selanjutnya, kondisi saponifikasi-ekstraksi satu tahap dioptimasi dengan menggunakan metodologi permukaan respon dengan tiga faktor yaitu rasio air:tepung kedelai, suhu saponifikasi, dan lama saponifikasi. Respon yang dikaji adalah kadar LA dan ALA dalam minyak yang terekstrak.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diantara kedelai varietas lokal yang diteliti, varietas Burangrang mempunyai kadar LA+ALA tertinggi (60,43 %). Varietas yang berbeda menunjukkan profil asam lemak yang berbeda dan kadar minyak (dalam bentuk asam lemak bebas) yang berbeda pula. LA merupakan asam lemak yang dominan untuk seluruh varietas kedelai. Rasio air:tepung kedelai, suhu saponifikasi, dan lama saponifikasi mempengaruhi respon yang bersifat kuadratik. Kondisi optimum tercapai pada rasio air:tepung kedelai 2,03:1, suhu saponifikasi 58,86 °C, dan lama saponifikasi 92,27 menit. Respon kadar LA dan ALA (%) pada kondisi optimum berdasarkan prediksi adalah 68,47 % dan respon aktual 68,89 %. Minyak yang diperoleh mempunyai tingkat oksidasi yang rendah.

Kata kunci: Asam linoleat, asam linolenat, ekstraksi minyak, saponifikasi, saponifikasi-ekstraksi satu tahap

ABSTRACT

Linoleic acid (LA, C18:2 ω -6) and alpha linolenic acid (ALA, C18:3 ω -3) were essential polyunsaturated fatty acid (PUFA). The exploration of local varieties of soybean as the sources of LA and ALA is very important to reduce the dependence of LA+ALA import products. However, the local varieties of soybean in Indonesia are limited to be explored as the source of LA and ALA. The efficient technique is needed to increase the PUFA (LA and ALA) content of soybean oil. One of the techniques is the combination of simultaneous saponification and extraction or one step saponification-extraction.

This research was objected to elucidate the potency of local soybean varieties as the source of LA and ALA and to develop one step saponification-extraction in obtaining high LA+ALA oil from local varieties of soybean. Firstly, various local soybean varieties, i.e. Panderman, Wilis, Kaba, Burangrang, and Anjasmara, were assessed for fatty acid profiles. The selected variety of local soybean for one step saponification-extraction in oil extraction was based on the highest content of LA and ALA. Secondly, the condition of one step saponification-extraction was optimized by using

Response Surface Methodology with three factors: water to soybean meal ratio, saponification temperature, and saponification time. The response was LA+ALA content in extracted oil.

The result showed that among the local soybean varieties tested, Burangrang had the highest content of LA+ALA (60.43 %). Different varieties showed different fatty acid profile and oil (in the form of fatty acid) content. Linoleic acid was the predominant in all varieties. Burangrang was used as the raw material of one step saponification-extraction. Ratio of water to soybean meal, saponification temperature, and time affected response of LA+ALA content. The response is quadratic. Optimum condition was achieved at water to soybean meal ratio of 2.03:1, saponification temperature of 58.86 °C, and saponification time of 92.27 minutes. The response of LA+ALA concentration (%) at optimum condition was predicted 68.47 % and actual response was 68.89 %. The extracted oil showed low oxidation level.

Keywords: Linoleic acid, linolenic acid, oil extraction, saponification, one step saponification-extraction

PENDAHULUAN

Asam linoleat atau LA (LA, *linoleic acid*) dan asam alfa linolenat atau ALA (ALA, *alpha linolenic acid*) merupakan asam lemak tidak jenuh tinggi ikatan rangkap (PUFA, *polyunsaturated fatty acid*) yang hanya dapat diperoleh tubuh dari makanan yang dikonsumsi akibat tubuh tidak mempunyai enzim $\Delta 12$ - dan $\Delta 15$ -desaturase sehingga sintesis LA dan ALA dari asam stearat tidak dapat dilakukan (Goyens dkk, 2006). Oleh karena itu, LA dan ALA termasuk ke dalam asam lemak esensial (Anonymous, 1992; Sinclair, 1993) yang harus dipenuhi dari asupan makanan. Peningkatan tersebut dapat dilakukan melalui fortifikasi LA dan ALA pada makanan yang umum dikonsumsi ataupun melalui suplemen makanan. Hal ini menyebabkan penyediaan minyak tinggi LA+ALA penting untuk dilakukan.

Salah satu sumber LA dan ALA yang potensial adalah kedelai. Kadar ALA dalam minyak kedelai mencapai 70 g/kg (Patil dkk, 2007) atau 6,67 % (Sanibal dan Mancini-Pilho, 2004). Sanibal dan Mancini-Pilho (2004) lebih lanjut menjelaskan bahwa kadar LA dalam minyak kedelai mencapai 55,83 %, akan tetapi minyak ini juga mengandung asam lemak jenuh yang berdampak negatif terhadap kesehatan sehingga harus dikurangi kadarnya. Indonesia mempunyai kedelai varietas lokal yang belum banyak dieksplorasi sebagai sumber LA dan ALA sehingga penting untuk dikaji. Sebenarnya ada puluhan varietas kedelai (*Glycin max*) lokal yang telah dikembangkan lembaga riset pemerintah dan swasta (Anonim, 2008a). Kedelai lokal merupakan kedelai asli hayati dan bukan kedelai transgenik seperti kedelai impor. Kedelai yang ditanam di negara-negara maju 80 persen adalah organisme yang telah dimodifikasi secara genetik (GMO, *Genetically Modified Organism*) (Anonim, 2008b).

Selama ini industri pangan di Indonesia, seperti industri susu, menggunakan LA (sebagai sumber asam lemak ω -6) dan ALA (sebagai sumber asam lemak ω -3) untuk fortifikasi pada produknya dengan tujuan mendapatkan sifat fungsional LA dan ALA terhadap kesehatan. LA dalam tubuh diubah

menjadi GLA (*gamma linolenic acid*) dan ARA (*arachidonic acid*) yang penting bagi otak dan ALA diubah menjadi EPA dan DHA yang penting bagi kesehatan (Griffith dan Morse, 2006). Demikian juga dengan industri farmasi telah mengembangkan produk suplemen LA dan ALA, karena asam lemak ini adalah asam lemak esensial yang mempunyai peran fisiologis penting dalam tubuh. Sumber LA dan ALA yang digunakan adalah konsentrat LA atau ALA yang masih diimpor. Diharapkan pengembangan kedelai lokal sebagai sumber LA dan ALA dapat membatasi ketergantungan terhadap produk impor sehingga meningkatkan ketahanan pangan nasional.

Pengembangan teknik ekstraksi dan dilanjutkan teknik saponifikasi secara langsung merupakan salah satu cara untuk efisiensi proses pembuatan konsentrat PUFA (Guil-Guerrero dkk, 2007) yang dapat diterapkan pada pembuatan konsentrat LA+ALA. Guil-Guerrero dkk (2007) melakukan ekstraksi minyak dari hati ikan dan secara simultan dilanjutkan dengan teknik konsentrasi dengan kristalisasi pelarut. Adapun Chabrand dkk (2008) menerapkan teknik ekstraksi akueous minyak dari tepung kedelai. Kombinasi dari kedua teknik tersebut akan dikaji pada penelitian ini untuk mendapatkan teknik saponifikasi-ekstraksi satu tahap yang tepat dan efisien.

Pengkajian penerapan teknik saponifikasi-ekstraksi satu tahap dari biji kedelai lokal penting untuk dilakukan. Teknik saponifikasi-ekstraksi satu tahap telah diterapkan oleh Guil-Guerrero dkk (2007) adalah pada hati ikan, sehingga perlu dikaji kondisi proses yang tepat jika diterapkan pada biji kedelai.

METODE PENELITIAN

Bahan

Kedelai lokal varietas Anjasmoro, Burangrang, Panderman, Wilis, dan Kaba, etanol, akuades, NaOH, metilen klorida, heksana, ammonium tiosianat, barium klorida, hidrogen peroksida, ferroklorida, ferriklorida, benzena, metanol, HCl,

p-anisidin (p.a. dari Merck), etanol, heksana, NaOH (teknis), BF3-metanol 14 %, standar campuran asam lemak C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 ω -9, C18:2 ω -6, C18:3 ω -3, standar internal C17:0, SDS (Sigma Co.), gas nitrogen, gas hidrogen, kertas saring kasar, dan es kering.

Peralatan

Kromatografi gas (GC-14B, Shimadzu), integrator (Chromatopac CRA), rotavapor (Buchi), peralatan gelas, spektrofotometer, homogenizer, plat pemanas, penangas air, dan neraca analitik.

Pelaksanaan Penelitian

Pada tahap penelitian ini dilakukan analisis komposisi asam lemak dari berbagai kedelai varietas lokal, dilanjutkan dengan optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap dari varietas kedelai dengan kadar LA+ALA tertinggi.

Analisis komposisi asam lemak kedelai varietas lokal. Analisis komposisi asam lemak kedelai varietas lokal dilakukan pada varietas Burangrang, Anjasmoro, Wilis, Kaba, dan Panderman secara langsung dari tepung kedelai dengan menggunakan metode transesterifikasi *in situ* Park dan Goin

(1994). Varietas kedelai lokal dengan kadar LA+ALA tertinggi digunakan sebagai bahan baku saponifikasi-ekstraksi satu tahap.

Optimasi ekstraksi dan saponifikasi satu tahap dengan metodologi permukaan respon. Pada tahap penelitian ini kondisi ekstraksi dan saponifikasi simultan untuk menghasilkan asam lemak bebas dikaji. Kedelai yang digunakan adalah kedelai lokal dengan varietas yang mempunyai kadar LA+ALA tertinggi (berat LA+ALA per berat kedelai). Pendekatan yang digunakan untuk mendapatkan kondisi optimum adalah metodologi respon permukaan dengan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Komposit Pusat. Tiga variabel yang dikaji pada penelitian ini adalah lama reaksi, suhu, dan rasio tepung kedelai:air. Respon yang dianalisis adalah kadar LA+ALA dalam minyak (bentuk kimia asam lemak bebas) yang dihasilkan.

Proses ekstraksi dan saponifikasi satu tahap yang dilakukan dengan mengacu pada metode Guil-Guerrero dkk (2007) yang dimodifikasi sebagai berikut: Ekstraksi dan saponifikasi minyak dari tepung kedelai dilakukan dalam erlenmeyer 500 ml dengan suhu terkontrol sesuai perlakuan (Tabel 1). Sebanyak 60 g sampel tepung kedelai dimasukkan ke dalam

Tabel 1. Rancangan Komposit Pusat ordo kedua dengan tiga faktor

NO.	Variabel Sebenarnya			Variabel Terkode			Kadar LA+ALA (%)
	Rasio Air:Tepung Kedelai	Suhu (°C)	Lama (menit)	X ₁	X ₂	X ₃	
1.	1:1	50	60	-1	-1	-1	62,78
2.	1:1	50	120	-1	-1	+1	61,97
3.	1:1	70	60	-1	+1	-1	61,98
4.	1:1	70	120	-1	+1	+1	61,83
5.	3:1	50	60	+1	-1	-1	61,38
6.	3:1	50	120	+1	-1	+1	62,61
7.	3:1	70	60	+1	+1	-1	61,76
8.	3:1	70	120	+1	+1	+1	61,84
9.	2:1	60	90	0	0	0	6,90
10.	2:1	60	90	0	0	0	66,47
11.	2:1	60	90	0	0	0	67,02
12.	2:1	60	90	0	0	0	70,21
13.	2:1	60	90	0	0	0	70,78
14.	2:1	60	90	0	0	0	68,89
15.	0,318:1	60	90	-1,682	0	0	59,47
16.	3,682:1	60	90	+1,682	0	0	60,57
17.	2:1	40,18	90	0	-1,682	0	61,56
18.	2:1	76,83	90	0	+1,682	0	58,25
19.	2:1	60	39,54	0	0	-1,682	52,15
20.	2:1	60	140,46	0	0	+1,682	57,85

erlenmeyer. Rasio air:tepung kedelai yang digunakan sesuai perlakuan pada Rancangan Komposit Pusat, kemudian ditambah etanol sebanyak 100 ml dan ditambah NaOH 5 g untuk ekstraksi dan saponifikasi satu tahap. Suhu dan lama reaksi bergantung pada perlakuan yang diberikan sesuai Rancangan Komposit Pusat. Lebih lanjut, larutan yang sudah disaponifikasi didinginkan pada suhu ruang sehingga diperoleh fraksi padat dan fraksi cair. Fraksi padat yang diperoleh dipisahkan, kemudian disaring dan dicuci dengan etanol. Hasil pencucian ini digabungkan dengan fraksi cair yang sudah dipisahkan dan dipekatkan dengan rotavapor suhu 35 °C. Lapisan atas yang mengandung fraksi tidak tersabunkan dipisahkan setelah ditambah 25 ml akuades dan 100 ml heksana. Fase hidroalkoholik yang mengandung sabun diasamkan sampai pH 2 dengan menggunakan HCl:H₂O 1:1 (v/v) dan asam lemak diekstrak menggunakan heksana. Lapisan heksana yang mengandung PUFA dievaporasi pada suhu 35 °C kondisi vakum. Variabel yang dianalisis pada minyak yang terekstrak (berupa asam lemak bebas) adalah kadar LA+ALA, rendemen, dan profil asam lemak. Respon yang dimasukkan Rancangan Komposit Pusat adalah kadar LA+ALA yang dianalisis dengan kromatografi gas dan metilasi dengan transesterifikasi *in situ* (Park dan Goin, 1994).

Rancangan percobaan. Proses optimasi dilakukan dengan menggunakan Rancangan Komposit Pusat seperti dapat dilihat pada Tabel 1. Faktor yang diteliti pada penelitian ini adalah rasio tepung kedelai:air (X_1), suhu reaksi (X_2), dan lama reaksi (X_3). Respon yang dioptimasi adalah kadar LA+ALA dalam minyak yang sudah terekstrak dan tersaponifikasi. Tiga taraf faktor yang digunakan untuk Rancangan Komposit Pusat didasarkan pada hasil penelitian Guil-Guerrero dkk (2007). Kombinasi dari perlakuan (X_1, X_2, X_3) dapat dilihat pada Tabel 1 sesuai dengan Rancangan Komposit Pusat (Montgomery 2001; Gasperz, 1995) ordo kedua untuk tiga faktor dan dilakukan dua kali ulangan. Analisis data dilakukan dengan program *Design Expert DX 6.0.10 (trial version)*.

Minyak dari perlakuan paling optimum dianalisis meliputi komposisi asam lemak dengan kromatografi gas (metilasi metode Park dan Goin, 1994), bilangan p-anisidin, bilangan total oksidasi dan bilangan peroksida (IUPAC, 1979), dan kadar asam lemak bebas (AOCS, 1989).

Analisis pemilihan model. Metode permukaan respon digunakan untuk menentukan model yang sesuai untuk memprediksi respon. Analisis model digunakan untuk menentukan model yang sesuai dalam metode permukaan respon. Model yang diperoleh dapat digunakan untuk memprediksi respon (kadar LA+ALA, %) untuk rasio air:tepung kedelai, suhu, dan lama saponifikasi tertentu. Model yang dievaluasi mencakup linear, 2FI (interaksi), kuadrat, atau kubik. Proses pemilihan model dilakukan berdasarkan: uraian jumlah kuadrat (JK) dari urutan model (*sequential model sum of square*), uji simpangan model (*lack of fit test*), dan ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi dan Kadar Asam Lemak Kedelai Varietas Lokal

Asam lemak yang mendominasi minyak dalam kedelai adalah asam linoleat untuk semua varietas (Tabel 2). Perbedaan varietas kedelai menyebabkan perbedaan komposisi asam lemak penyusun kedelai. Akan tetapi, asam lemak paling dominan pada semua varietas adalah asam linoleat. Asam lemak kedua terbesar adalah asam oleat. Adapun asam linolenat jumlahnya tidak terlalu tinggi hanya berkisar 4-9 %. Asam linolenat ini yang diinginkan untuk mendapatkan minyak tinggi asam linolenat. Perbedaan komposisi asam lemak pada berbagai varietas kedelai kemungkinan disebabkan oleh faktor genetik dan fenotip.

Hasil penelitian Kucuk dkk (2004) menunjukkan bahwa komposisi asam lemak minyak kedelai adalah asam palmitat

Tabel 2. Komposisi asam lemak (%) kedelai varietas lokal

Jenis asam lemak	Burangrang	Wilis	Kaba	Panderman	Anjasmara
C14:0 (miristat)	td	0,29	td	0,60	td
C16:0 (palmitat)	11,73	12,01	12,44	12,95	11,51
C18:0 (stearat)	3,14	td	4,60	3,33	2,74
C18:1 (oleat)	24,70	28,82	26,41	24,91	32,27
C18:2 (linoleat/LA)	52,48	50,15	43,22	51,61	48,06
C18:3 (linolenat/ALA)	7,96	8,72	4,89	5,81	5,42
Kadar LA+ALA	60,43	58,87	48,11	57,42	53,48

Keterangan: td = tidak terdeteksi

14,5 %, stearat 2,41 %, oleat 22,2 %, linoleat 45,6 %, linolenat 7,68 % dan tidak diketahui 7,48 %. Penelitian lain seperti Wang dkk (2009) menunjukkan komposisi asam lemak dalam kedelai yang mirip dengan penelitian ini yaitu asam palmitat 11,75 %, stearat tidak terdeteksi, oleat 28,37 %, linoleat 55,40 %, dan linolenat 4,48 %.

Kadar jenis-jenis asam lemak dalam kedelai yang dinyatakan dalam mg asam lemak per g kedelai dapat dilihat pada Tabel 3. Kadar asam lemak yang ada dalam biji kedelai untuk berbagai varietas kedelai yang diteliti adalah berkisar 139,04-213,80 mg/g kedelai atau 13,90-21,38 %. Menurut Patil dkk (2007) biji kedelai mengandung minyak 20 %. Pada penelitian ini, yang diukur adalah asam lemak bukan dalam bentuk trigliserida tetapi nilai yang diperoleh mendekati nilai yang dilaporkan Patil dkk (2007) yaitu 20 %. Varietas kedelai yang berbeda mempunyai kadar asam lemak yang berbeda. Kadar asam lemak mencerminkan kadar minyak dalam kedelai. Faktor genetik dan faktor fenotip mempengaruhi kandungan minyak yang ada dalam kedelai.

Seperti halnya komposisi asam lemak (yang menunjukkan persentase relatif asam lemak terhadap total asam lemak) (Tabel 2), asam lemak dalam kedelai didominasi oleh asam linoleat dengan jumlah berkisar 66,82-102,27 mg/g kedelai. Perbedaan varietas menyebabkan perbedaan jumlah asam lemak dalam kedelai. Asam lemak kedua terbesar adalah asam oleat dengan jumlah berkisar 46,90-61,67 mg/g kedelai. Patil dkk (2007) menyatakan bahwa minyak kedelai mengandung asam palmitat rata-rata 110 g/kg, asam stearat 30 g/kg, asam oleat 240 g/kg, asam linoleat 550 g/kg dan asam linolenat 70 g/kg. Perbedaan nilai yang diperoleh dengan penelitian Patil dkk (2007) disebabkan nilai yang diukur pada penelitian ini adalah berat asam lemak per berat kedelai bukan berat minyak.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa berat asam linoleat dan linolenat untuk berbagai varietas kedelai berbeda-beda. Nilai terbesar diperoleh dari kedelai lokal varietas Burangrang

yaitu 117,77 mg/g kedelai yang berarti dalam setiap g kedelai terdapat asam linoleat dan linolenat sebesar 117,77 mg atau 11,78 %. Dari Tabel 3 terlihat bahwa kadar asam lemak untuk varietas Burangrang adalah 194,88 mg/g kedelai. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa kadar minyak yang tinggi tidak selalu menunjukkan kadar asam linoleat dan linolenat yang tinggi. Dari hasil analisis ini (Tabel 2 dan 3) dapat disimpulkan bahwa varietas kedelai terpilih yang digunakan pada proses optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap adalah kedelai varietas Burangrang.

Optimasi Saponifikasi-Ekstraksi Satu Tahap

Optimasi dilakukan dengan menggunakan Rancangan Komposit Pusat pada Metodologi Respon Permukaan. Faktor yang dikaji adalah rasio air:tepung kedelai, suhu, dan lama saponifikasi, serta respon yang dioptimasi adalah kadar LA+ALA. Rasio air:tepung penting dikaji karena metode saponifikasi-ekstraksi satu tahap diadopsi dari proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap dari hati ikan hiu (Guil-Guerrero dkk, 2007) yang mengandung air dalam jumlah tinggi, sedangkan kadar air tepung kedelai cukup rendah. Air berperan pada proses hidrolisis, sehingga jumlah air yang cukup diperlukan untuk menghidrolisis asam lemak pada proses saponifikasi. Akan tetapi dikhawatirkan jika jumlah air terlalu berlebihan, menyebabkan komponen non protein dalam kedelai seperti pati dan protein akan membentuk gel sehingga menghambat proses saponifikasi dan ekstraksi.

Suhu dan lama proses saponifikasi diduga berpengaruh terhadap respon yang diperoleh yaitu kadar LA+ALA. LA dan ALA merupakan asam lemak tidak jenuh yang rentan terhadap oksidasi. Oksidasi dipicu oleh suhu tinggi sehingga suhu dan lama pemanasan pada proses saponifikasi diduga akan berpengaruh terhadap respon. Respon yang diperoleh dari berbagai kombinasi rasio air:tepung kedelai, suhu, dan lama saponifikasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 3. Kadar asam lemak (mg/g kedelai) dari kedelai varietas lokal

Jenis Asam Lemak	Burangrang	Wilis	Kaba	Panderman	Anjasmara
C14:0 (miristat)	td	0,59	td	1,12	td
C16:0 (palmitat)	22,85	24,01	29,05	24,38	16,01
C18:0 (stearat)	6,12	td	10,74	6,27	3,80
C18:1 (oleat)	48,14	57,61	61,67	46,90	44,87
C18:2 (linoleat/LA)	102,27	100,23	100,92	97,17	66,82
C18:3 (linolenat/ALA)	15,51	17,44	11,41	10,93	7,54
Kadar LA+ALA	117,77	117,67	112,33	108,10	74,36
Total asam lemak	194,88	199,87	213,80	186,77	139,04

Keterangan: td = tidak terdeteksi

Pemilihan model yang sesuai. Pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square* menunjukkan bahwa model yang signifikan adalah kuadratik, sedangkan model 2FI (interaksi), linear, dan kubik tidak signifikan karena $P > 0,05$. Model ordo yang dianjurkan (*suggested*) berdasarkan *sequential model sum of square* ini adalah kuadratik sehingga model tersebut yang terpilih. Berdasarkan uji simpangan model, model dianggap tepat jika nilai $P > 0,05$ ($P > 5\%$) yang berarti ketidak-tepatan model berpengaruh nyata. Dari uji ini kuadratik dan kubik tepat dijadikan model karena nilai $P > 5\%$, akan tetapi model kubik tidak dianjurkan. Model kuadratik merupakan model yang nyata yang disarankan. Berdasarkan alasan ini maka model yang terpilih adalah kuadratik yang oleh program dinyatakan disarankan (*suggested*), sesuai dengan pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square*. Proses pemilihan model berikutnya berdasarkan ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*) menunjukkan bahwa model yang memenuhi kriteria adalah model kuadratik

Berdasarkan tiga proses pemilihan model tersebut model yang sesuai untuk saponifikasi-ekstraksi satu tahap adalah model kuadratik. Hasil analisis ragam dari permukaan respon

kuadratik menunjukkan model kuadratik mempunyai pengaruh yang nyata terhadap respon.

Berdasarkan ringkasan statistik, model kuadratik mempunyai standar deviasi terkecil dibandingkan model lain dengan nilai *Adj.R²* sebesar 0,5887. Hal ini berarti variabel rasio air:tepung kedelai, suhu, dan lama saponifikasi berpengaruh terhadap keragaman respon sebesar 58,87 % sedangkan sisanya sebesar 41,13 % dipengaruhi faktor lain yang tidak dijadikan variabel yang diteliti.

Hasil analisis ragam (Tabel 4) menunjukkan bahwa lama saponifikasi (linear), rasio air:tepung kedelai (kuadrat), suhu saponifikasi (kuadrat), dan lama saponifikasi (kuadrat) berpengaruh nyata terhadap respon. Faktor lain yaitu interaksi dua diantara tiga faktor (raso air:tepung kedelai vs suhu, suhu vs lama, rasio air tepung kedelai vs lama) yang dikaji tidak mempengaruhi respon.

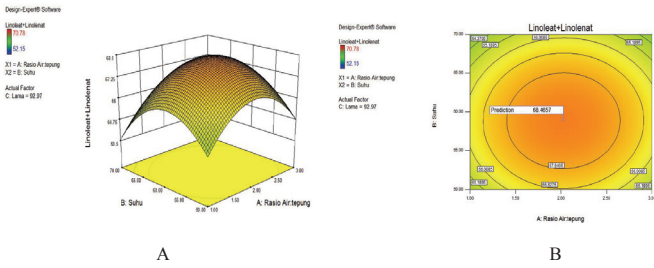
Penelitian Guil-Guerrero dkk, (2007) menunjukkan bahwa dua faktor mempengaruhi proses konsentrasi asam lemak ω-3 secara langsung dari hati ikan hiu yaitu suhu kristalisasi dan kadar air pada proses saponifikasi. Kondisi terbaik diperoleh pada kadar air 0 % karena hati ikan hiu mengan-

Tabel 4. Analisis ragam untuk saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal

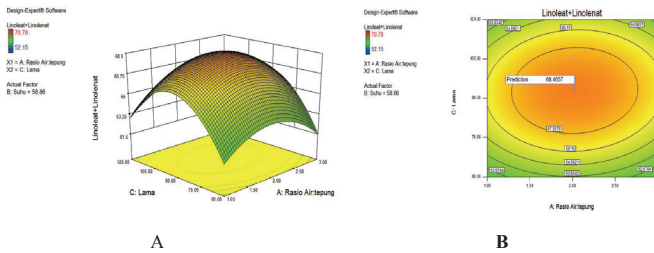
Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	Nilai F	p-value Prob > F	Keterangan
Model	309,61	9	34,40	4,02	0,0204	Signifikan
A-Rasio	0,11	1	0,11	0,013	0,9131	Tidak signifikan
B-Suhu	3,16	1	3,16	0,37	0,5570	Tidak signifikan
C-Lama	7,72	1	7,72	0,90	0,3646	Signifikan
AB	$6,05 \times 10^{-3}$	1	$6,05 \times 10^{-3}$	$7,073 \times 10^{-4}$	0,9793	Tidak signifikan
AC	0,47	1	0,47	0,055	0,8193	Tidak signifikan
BC	0,084	1	0,084	$9,827 \times 10^{-3}$	0,9230	Tidak signifikan
A ²	63,94	1	63,94	7,48	0,0210	Signifikan
B ²	66,44	1	66,44	7,77	0,0192	Signifikan
C ²	217,10	1	217,10	25,38	0,0005	Signifikan
Residual	85,53	10	8,55			
Lack of Fit	70,62	5	14,12	4,74	0,0565	Tidak signifikan
Galat	14,91	5	2,98			

andung air dalam kadar tinggi. Akan tetapi pada penelitian ini, air penting untuk ditambahkan karena kedelai mempunyai kadar air yang rendah. Menurut Guil-Guerrero dkk (2007), faktor lain yang mempengaruhi proses saponifikasi adalah jenis basa. Disamping natrium, litium, magnesium, dan kalium dapat digunakan, akan tetapi hasil terbaik diperoleh dengan menggunakan NaOH sehingga NaOH digunakan pada penelitian ini.

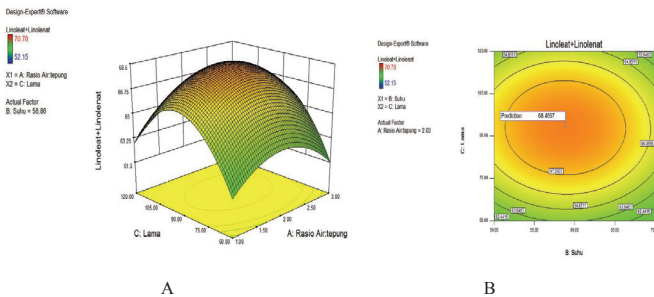
Respon permukaan respon dan titik optimum. Persamaan kuadratik dapat digunakan untuk memprediksi respon dari berbagai taraf rasio air:tepung kedelai, suhu, dan lama saponifikasi. Persamaan kuadratik yang diperoleh adalah: $Y = -51,86090 + 7,62190X_1 + 2,55370X_2 + 0,80565X_3 + 2,75000 \times 10^{-3}X_1X_2 + 8,08333 \times 10^{-3}X_1X_3 - 3,41667 \times 10^{-4}X_2X_3 - 2,10645X_1^2 - 0,021471X_2^2 - 4,31254 \times 10^{-3}X_3^2$ dengan X_1 = rasio air:tepung (b:b), X_2 = suhu saponifikasi, dan X_3 = lama saponifikasi



Gambar 1. Grafik respon (A) dan kontur (B) hubungan antara rasio air:tepung kedelai dan suhu saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal



Gambar 2. Grafik respon (A) dan kontur (B) hubungan antara rasio air:tepung kedelai dan lama saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal



Gambar 3. Grafik respon (A) dan kontur (B) hubungan antara suhu dan lama saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal

Berhubung pada penelitian ini ada 3 faktor yang dikaji, maka terdapat tiga grafik respon yang menggambarkan hubungan antara rasio air:tepung kedelai, suhu saponifikasi, dan lama saponifikasi. Gambar 1 menunjukkan hubungan antara rasio air:tepung dan suhu ekstraksi. Dari Gambar 1 diketahui bahwa pengaruh rasio air:tepung kedelai dan suhu ekstraksi bersifat kuadratik terhadap respon kadar LA+ALA.

Gambar 2 menunjukkan hubungan antara rasio air:tepung dan lama ekstraksi. Dari Gambar 2 terlihat bahwa pengaruh rasio air:tepung dan lama ekstraksi bersifat kuadratik terhadap respon kadar LA+ALA.

Gambar 3 menunjukkan pengaruh suhu dan lama saponifikasi terhadap kadar LA+ALA dalam minyak kedelai yang dihasilkan. Pengaruh kedua variabel tersebut terhadap respon bersifat kuadratik.

Pengaruh variabel rasio air:tepung kedelai terhadap respon dapat dilihat dengan mengikuti garis horizontal putus-putus sejajar sumbu X (Gambar 1 dan 2). Respon akan terus meningkat dengan meningkatnya rasio air:tepung kedelai sampai diperoleh respon tertinggi. Jika rasio air:tepung kedelai terus ditingkatkan, respon akan mengalami penurunan. Pada rasio yang lebih tinggi terjadi penurunan respon.

Peningkatan rasio air:tepung kedelai menyebabkan peningkatan ketersediaan air untuk proses hidrolisis. Pada proses saponifikasi, asam lemak dari struktur trigliserida pertama kali dihidrolisis dengan adanya basa sebagai katalis dan air. Hidrolisis menghasilkan asam lemak bebas yang dengan adanya basa NaOH menyebabkan terbentuk sabun sehingga jumlah air yang ada dalam bahan harus cukup untuk memfasilitasi hidrolisis. Kecukupan air menyebabkan asam lemak mudah terhidrolisis dari struktur trigliserida dan diekstrak. Asam lemak yang terekstrak mengandung asam linoleat dan linolenat, sehingga kadar LA+ALA meningkat.

Akan tetapi peningkatan air lebih lanjut dengan meningkatnya rasio air:tepung kedelai menyebabkan penurunan respon. Hal ini diduga berkaitan dengan peningkatan kadar air. Kadar air yang cukup dalam tepung menyebabkan komponen-komponen non lemak seperti pati dan protein terhidrasi sehingga kekuatan interaksi dengan lemak menjadi menurun. Akibatnya minyak lebih mudah terekstrak. Dengan demikian jumlah minyak yang terekstrak banyak sehingga proporsi (kadar) LA+ALA mengalami penurunan. Penelitian sebelumnya (Estiasih, 2006) menunjukkan bahwa kadar EPA+DHA yang terekstrak pada proses pemadatan cepat berbanding terbalik dengan jumlah minyak yang terekstrak.

Pengaruh suhu terhadap respon bersifat kuadratik (Gambar 1 dan 3). Semakin tinggi suhu, kadar LA+ALA meningkat sampai suhu tertentu. Peningkatan suhu lebih lanjut menyebabkan penurunan respon kadar LA+ALA. Peningkatan suhu menyebabkan proses hidrolisis dan saponifikasi lebih sempurna dan sabun yang terbentuk lebih mudah terekstrak. Akibatnya jumlah asam lemak yang dapat diekstrak dari kedelai mengalami peningkatan, termasuk LA+ALA.

Akan tetapi peningkatan suhu lebih lanjut menyebabkan kadar LA+ALA menurun. Hal ini disebabkan LA+ALA merupakan asam lemak golongan PUFA yang mudah mengalami oksidasi terutama pada suhu tinggi. Dengan demikian diperlukan suhu yang tepat untuk saponifikasi-ekstraksi satu tahap jika tujuan utamanya adalah mendapatkan minyak dengan kadar LA+ALA yang tinggi.

Gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa pengaruh lama saponifikasi terhadap respon kadar LA+ALA bersifat kuadratik. Semakin lama proses saponifikasi, kadar LA+ALA meningkat sampai lama saponifikasi tertentu. Peningkatan lama saponifikasi lebih lanjut tidak menyebabkan peningkatan kadar LA+ALA dalam minyak yang terekstrak.

Peningkatan kadar LA+ALA sampai lama saponifikasi tertentu disebabkan semakin lama saponifikasi, reaksi hidrolisis trigliserida dan penyabunan semakin banyak terjadi. Akibatnya minyak banyak yang terhidrolisis dan tersabunkan serta terekstrak, termasuk LA+ALA. Hal ini mengakibatkan kadar LA+ALA meningkat. Akan tetapi, peningkatan lama saponifikasi lebih lanjut, LA+ALA yang ada dalam kedelai dapat mengalami oksidasi sehingga kadarnya mengalami penurunan dan jumlahnya yang dapat diekstrak menjadi menurun. Hal ini yang menyebabkan respon kadar LA+ALA menurun dengan bertambahnya lama saponifikasi.

Analisis kanonik terhadap model polinomial kuadrat digunakan untuk menentukan bentuk dan kurva permukaan respon, serta letak titik stasioner atau titik optimum (Wanasundara dan Shahidi, 1999). Menurut Mason dkk (1989) (dalam Wanasundara dan Shahidi, 1999), analisis kanonik merupakan pendekatan matematik yang digunakan untuk menentukan letak titik stasioner dari permukaan respon dan untuk mengetahui apakah respon bersifat minimum atau maksimum.

Nilai sebenarnya untuk titik stasioner yang diperoleh dari hasil analisis kanonik adalah rasio air:tepung kedelai 2,03:1, suhu saponifikasi 58,86°C, dan lama saponifikasi 92,97 menit. Respon kadar LA+ALA (%) pada kondisi optimum ini diprediksi sebesar 68,47 %. Kondisi ini merupakan kondisi terbaik untuk mendapatkan kadar LA+ALA tertinggi dalam minyak kedelai yang terekstrak. Optimasi yang dilakukan adalah untuk mendapatkan kadar LA+ALA yang tertinggi dalam minyak yang terekstrak dan kadar minyak yang terekstrak dari kedelai tidak dioptimasi pada penelitian ini.

Karakteristik minyak kedelai hasil saponifikasi-ekstraksi satu tahap pada kondisi optimum

Proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap pada kondisi yang tepat dapat meningkatkan kadar LA+ALA dari 60,43 menjadi 68,89 % (Tabel 5). Peningkatan tersebut terjadi didu-

ga ada preferensi asam lemak untuk larut dalam pelarut etanol yang digunakan pada proses ekstraksi sabun yang diperoleh dari hasil saponifikasi. Menurut Guil-Guerrero dkk (2007) ada preferensi PUFA untuk larut dalam etanol. Etanol merupakan pelarut yang bersifat polar dan peningkatan jumlah ikatan rangkap dalam asam lemak menyebabkan asam lemak lebih polar dibandingkan asam lemak yang jenuh. Hal ini diduga yang menyebabkan peningkatan kadar LA+ALA.

Asam lemak yang mengalami penurunan jika dibandingkan komposisi asam lemak kedelai dan asam lemak dari minyak yang terekstrak adalah asam palmitat dan asam stearat (Tabel 5). Kedua asam lemak ini adalah asam lemak jenuh yang mempunyai kelarutan dalam etanol yang lebih rendah jika dibandingkan LA+ALA. Demikian pula asam oleat mengalami sedikit penurunan tetapi tidak tajam. Asam oleat merupakan monoenoat dengan satu ikatan rangkap sehingga dibandingkan asam linoleat dan linolenat yang mempunyai panjang rantai asam lemak yang sama, asam oleat cenderung lebih non polar sehingga kelarutan linoleat dan linolenat lebih tinggi dalam etanol.

Dari Tabel 6 dapat dilihat bahwa proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap menghasilkan minyak yang sebagian besar dalam bentuk asam lemak bebas (60,89 %). Ada kemungkinan masih terdapat minyak dalam bentuk trigliserida atau gliserida yang lain (mono- dan di-gliserida). Faktor yang mempengaruhi kadar asam lemak bebas adalah tingkat hidrolisis. Pada penelitian ini, faktor yang mempengaruhi tingkat hidrolisis minyak dalam kedelai adalah jumlah NaOH yang ditambahkan. Hal tersebut tidak dikaji pada penelitian ini.

Metode saponifikasi-ekstraksi satu tahap yang dilakukan pada penelitian ini adalah modifikasi dari penelitian Guil-Guerrero dkk (2007). Pada penelitian tersebut digunakan hati ikan hiu sebagai bahan baku. Perbedaan karakteristik antara kedelai dan hati ikan hiu, seperti kadar minyak dan kadar air, menyebabkan perbedaan hasil yang diperoleh. Kadar minyak

Tabel 5. Komposisi asam lemak (%) kedelai varietas Burangrang dan minyak yang diekstrak dengan metode saponifikasi-ekstraksi satu tahap

Jenis asam lemak	Komposisi dalam kedelai	Komposisi dalam minyak hasil saponifikasi-ekstraksi optimum
C14:0 (miristat)	td	td
C16:0 (palmitat)	11,73	6,45
C18:0 (stearat)	3,14	1,51
C18:1 (oleat)	24,70	23,15
C18:2 (linoleat/LA)	52,48	61,12
C18:3 (linolenat/ALA)	7,96	7,77
Kadar LA+ALA	60,43	68,89

Tabel 6. Karakteristik minyak kedelai dari proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap

Karakteristik	Besaran
Tingkat oksidasi	
- Bilangan peroksida (mek/kg)	0,0389
- Bilangan p-anisidin	1,9545
- Bilangan total oksidasi	2,032
Kadar asam lemak bebas (%)	60,89

Keterangan: bilangan p-anisidin dan total oksidasi tanpa satuan

dalam hati ikan hiu lebih rendah dibandingkan kedelai sehingga kebutuhan NaOH lebih rendah. Ada kemungkinan jumlah NaOH yang digunakan dalam penelitian ini belum optimum sehingga ada sebagian trigliserida yang tidak terhidrolisis menyebabkan kadar asam lemak bebas yang rendah.

Tingkat oksidasi yang dinyatakan bilangan peroksida untuk menunjukkan tingkat oksidasi primer sangat rendah yaitu 0,0389 mek/kg. Hal ini menunjukkan proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap pada suhu 60°C yang digunakan tidak mengakibatkan proses oksidasi yang berlebihan pada minyak kedelai. Sebagian produk peroksida berubah menjadi produk oksidasi sekunder yang dinyatakan dalam bilangan anisidin. Dari Tabel 6 terlihat bahwa bilangan anisidin kedelai lebih tinggi dibandingkan bilangan peroksida yang menunjukkan bahwa sebagian produk oksidasi ada dalam bentuk produk oksidasi sekunder.

KESIMPULAN

Kedelai varietas lokal Burangrang, Anjasmoro, Kaba, Wilis, dan Panderman mempunyai kadar dan komposisi asam lemak yang berbeda. Asam linoleat merupakan asam lemak paling dominan. Kadar asam linoleat dan linolenat bervariasi tergantung dari varietas, dengan kadar LA+ALA tertinggi yaitu 60,43 % terdapat pada varietas Burangrang sehingga varietas ini yang digunakan sebagai bahan baku ekstraksi minyak tinggi LA+ALA.

Optimasi saponifikasi – ekstraksi satu tahap pada ekstraksi minyak kedelai dalam bentuk asam lemak bebas menunjukkan bahwa rasio air:tepung kedelai, suhu saponifikasi, dan lama saponifikasi berpengaruh terhadap respon kadar LA+ALA. Respon yang diperoleh bersifat kuadratik. Pada kondisi optimum respon kadar LA+ALA diprediksi sebesar 68,47 %. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa minyak kedelai dalam bentuk asam lemak bebas yang diekstrak dengan metode saponifikasi – ekstraksi satu tahap mempunyai kadar LA+ALA 68,89 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. (1992). *The role of polyunsaturated fatty acids in the Australian diet*. Report of NHMRC Working Party. Australia Government Publishing Service, Canberra.
- Anonim. (2008a). Keunggulan kedelai varietas lokal. <http://www.ristek.go.id>. [16 Januari 2008 pukul 08:06].
- Anonim. (2008b). Kedelai lokal lebih baik daripada kedelai impor. Kompas, Kamis, 17 Januari 2008.
- AOCS. (1989). *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society*. 4th ed. Broad-maker Drive, Champaign, Illinois.
- Chabrand, R.M., Kim, H-J, Zhang, C., Glatz, C.E., dan Jung, S. (2007). Destabilization of the emulsion formed during aqueous extraction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **85**: 383-390.
- Estiasih, T., Ahmadi, K. dan Nisa, F.C.. (2006a). Optimasi pemadatan cepat pada pengayaan minyak ikan hasil samping pengalengan lemuru dengan asam lemak ω-3 menggunakan metode permukaan respon. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan XVI*: 222-229.
- Estiasih, T., Ahmadi, K. dan Nisa, F.C.. (2006b). Optimasi pemadatan cepat pada pembuatan minyak kaya asam lemak ω-3 dari minyak hasil samping penepungan ikan lemuru. *Agritek* **14**: 681-694.
- Gasperz, V. (1995). *Teknik Analisis dalam Penelitian Perco-baan 2*. Penerbit Tarsito, Bandung.
- Goyens, P.L.L. dan Mensink, R.P. (2005). The dietary α linolenic acid to linoleic acid ratio does not affect the serum lipoprotein profile in human. *Journal of Nutrition* **135**: 2799-2804.
- Goyens, P.L.L., Spilker, M.E., Zock, P.L., Katan, M.B. dan Mensink, R.P. (2006). Conversion of α linolenic acid in human is influenced by the absolute of amounts of α linolenic acid and linoleic acid in diet but not by their ratio. *The American Journal of Clinical Nutrition* **84**: 44-53.
- Griffith, G. dan Morse, N. (2006). Clinical applications of C18 and C20 chain length polyunsaturated fatty acids and their biotechnological production in plants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **83**: 171-185.
- Guil-Guerrero, J.L., Lopez-Martinez, J.C., Rincon-Cervera, M.A. dan Campra-Madrid, P. (2007). One-step extraction and concentration of polyunsaturated fatty acids from fish liver. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **84**: 357-361.
- IUPAC. (1979). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats, and Derivatives*. 6th ed. Pergamon Press, British.

- Kucuk, O., Hess, B.W. dan Rule, D.C. (2004). Soybean oil supplementation at a high concentrate diet dose not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acid in limited feds lamb. *Journal of Animal* **82**: 2985.
- Montgomery, D.C. (2001). *Design and Analysis of Experiments*. 5th edition. John Wiley & Sons, Singapore.
- Park, P.W. dan Goin, R.E. (1994). In situ preparation of fatty acids methyl ester for analysis of fatty acids composition in foods. *Journal of Food Science* **59**: 1262-1266.
- Patil, A., Taware, S.P., Oak, M.D. Tamhankar, S.A. dan Rao, V.S.. (2007). Improvement of oil quality in soybean (*Glycine max* (L) Merrill) by mutation breeding. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **84**: 1117-1124.
- Sanibal, E.A.A. dan Mancini-Filho, J.. (2004). Frying oil and fat quality measured by chemical, physical, and test kit analyses. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **81**: 847-852.
- Sinclair, J. (1993). The nutritional significance of omega-3 polyunsaturated fatty acids for human. *ASEAN Food Journal* **8**: 3-13.
- Wanasundara, U.N. dan Shahidi, F. (1999). Concentration of omega-3 polyunsaturated fatty acids of seal bubbler oil by urea complexation: optimization of reactions conditions. *Food Chemistry* **65**: 41-49.
- Wang, Y., Zhao, M., Ou, S. dan Song, K.. (2009). Partial hydrolysis of soybean oil by phospholipase A1 to produce diacylglycerol-enriched oil. *Journal of Food Lipids* **16**: 113-132.