

**LAPORAN AKHIR  
HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN  
SESUAI PRIORITAS NASIONAL BATCH II  
TAHUN 2009**



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1000440

- Judul** : Pengembangan Teknik Pembuatan Konsentrat PUFA dan Konsentrat Protein secara Simultan dari Kedelai Varietas Lokal
- Ketua** : Dr. Teti Estiasih, STP, MP
- Anggota** : 1. Jr. Kgs Ahmadi, MP  
2. Wenny Bekti Sunarharum, STP. MFoodSt

Dibiayai oleh **Direktorat** Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Kompetitif Sesuai Prioritas Nasional Batch II, Nomor 315/SP2H/PP/DP2M/VI/2009  
Tanggal 16 Juni 2009

Universitas Brawijaya  
Malang

## Halaman Pengesahan

1. Judul Penelitian : Pengembangan Teknik Pembuatan Konsentrat PUFA dan Konsentrat Protein secara Simultan dari Kedelai Varietas Lokal

2. Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : Dr. Teti Estiasih, STP, MP
- b. Jenis Kelamin : P
- c. NIP : 19701226 200212 2 001
- d. Jabatan Struktural : -
- e. Jabatan fungsional : Lektor
- f. Fakultas/Jurusan : Teknologi Pertanian/Teknologi Hasil Pertanian
- g. Pusat Penelitian : Lembaga Penelitian Universitas Brawijaya
- h. Alamat : Jl. Veteran \* Malang
- i. Telpon/Faks : 0341 - 569214.
- j. Alamat Rumah : Jl. Saxofon – Perum. Graha Jatimulya No, 6 - Malang
- k. Telpon/Faks/E-mail : 0341-481529/HP 08123304966/teties@yahoo.co.id

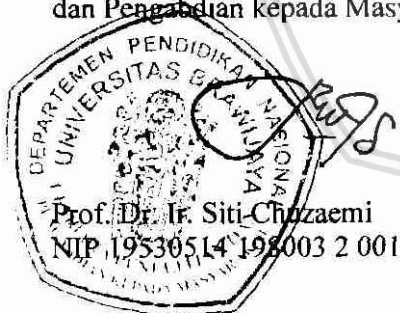
3. Jangka Waktu Penelitian : 2 (dua) tahun (seluruhnya)  
Usulkan ini adalah usulan tahun ke-1.

4. Pembiayaan

- a. Jumlah yang diajukan ke Dikti tahun ke-1: Rp 98.300.000
- b. Jumlah yang diajukan ke Dikti tahun ke-2: Rp 99.810.000

Malang, 30 Nopember 2009

Mengetahui,  
Ketua Lembaga Penelitian  
dan Pengabdian kepada Masyarakat



Ketua Peneliti,

Dr. Teti Estiasih, STP, MP  
NIP 19701226 200212 2 001

## DAFTAR ISI

Ringkasan	1
<i>Summary</i>	3
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	<b>5</b>
1.1. Latarbelakang	5
1.2. Urgensi Penelitian	7
1.3. Tujuan Khusus	7
<b>BAB II. STUDI PUSTAKA</b>	<b>9</b>
2.1. Peran Asam Linoleat bagi Kesehatan	9
2.2. Peran Asam Alfa Linolenat bagi Kesehatan	9
2.3. Kedelai Sebagai Sumber Asam Linolenat (LA) dan Asam Alfa Linolenat (ALA)	11
2.4. Teknik Pembuatan Konsentrat PUFA	12
2.5. Ekstraksi dan Saponifikasi Satu Tahap	15
2.6. Konsentrat Protein Kedelai	17
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b>	<b>19</b>
3.1. Bahan	19
3.2. Peralatan	19
3.3. Jalan Penelitian	19
3.3.1. Penentuan kedelai varietas lokal	20
3.3.2. Optimasi ekstraksi dan saponifikasi satu tahap dengan metodologi permukaan respon	21
3.3.3. Pembuatan Konsentrat Protein Kedelai	23
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>25</b>
4.1. Varietas Kedelai Lokal	25
4.2. Kadar dan Profil Asam Lemak Kedelai Varietas Lokal	25
4.3. Kadar Air	28
4.4. Penepungan	28
4.5. Proses Saponifikasi-Ekstraksi Satu Tahap	29
4.6. Optimasi Saponifikasi-Ekstraksi Satu Tahap	30
4.6.1. Pemilihan model yang sesuai	31
4.6.2. Permukaan respon dan titik optimum	34
4.6.3. Verifikasi kondisi optimum	40
4.7. Konsentrat Protein dari Hasil Samping Saponifikasi-Ekstraksi Satu Tahap	43
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	<b>49</b>
5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>57</b>
Lampiran 1. Foto Penelitian	57
Lampiran 2. Kromatogram Asam Lemak	61
Lampiran 3. Data Analisis Profil Asam Lemak dengan Kromatografi Gas	67
Lampiran 4. Biodata Peneliti	70

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	<i>Roadmap</i> penelitian saponifikasi-ekstraksi <b>satu</b> tahap <b>simultan</b> <b>dengan</b> pembuatan konsentrat protein kedelai	20
Gambar 2.	<b>Varietas</b> kedelai lokal yang dianalisis profil <b>asam</b> lemaknya	25
Gambar 3.	Reaksi yang terjadi pada proses pengasaman fase hidroalkoholik	30
Gambar 4.	<b>Grafik respon (A)</b> dan <b>kontur (B)</b> hubungan antara <b>rasio air:tepung</b> kedelai dan suhu saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal	35
Gambar 5.	<b>Grafik respon (A)</b> dan <b>kontur (B)</b> hubungan antara rasio <b>air:tepung</b> kedelai dan lama saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal	36
Gambar 6.	<b>Grafik respon (A)</b> dan <b>kontur (B)</b> hubungan antara suhu dan lama saponifikasi pada <b>saponifikasi-ekstraksi</b> satu tahap kedelai varietas lokal	37
Gambar 7.	<b>Pengaruh</b> lama pencucian dan rasio <b>air:etanol</b> yang digunakan pada proses pencucian terhadap <b>kadar</b> protein konsentrat protein kedelai	45
Gambar 8.	<b>Pengaruh</b> lama pencucian dan rasio <b>pelarut:residu padat</b> terhadap kadar protein konsentrat protein kedelai	47
Gambar 9.	<b>Pengaruh</b> rasio <b>pelarut:residu padat</b> dan rasio <b>air:etanol</b> terhadap kadar protein konsentrat protein kedelai	48



## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Profil <b>asam lemak</b> dalam minyak kedelai	12
Tabel 2.	Rancangan Komposit <b>Pusat ordo kedua</b> dengan tiga faktor	22
Tabel 3.	Profil <b>asam lemak</b> kedelai varietas lokal	25
Tabel 4.	Kadar <b>asam lemak (mg/g kedelai)</b> dari kedelai varietas lokal	27
Tabel 5.	Kadar air kedelai varietas <b>lokal</b>	28
Tabel 6.	<b>Respon kadar LA+ALA</b> pada Rancangan Komposit Pusat	31
Tabel 7.	Uraian jumlah kuadrat dari urutan model ( <i>Sequential Model Sum of Square</i> ) untuk optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal	32
Tabel 8.	Uji simpangan model ( <i>lack of fit test</i> ) untuk optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal	32
Tabel 9.	Ringkasan model secara statistik ( <i>model summary statistics</i> ) untuk optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai lokal	33
Tabel 10.	Analisis ragam untuk saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal	34
Tabel 11.	<b>Rendemen</b> minyak pada berbagai <b>kombinasi</b> rasio <b>air:tepung</b> kedelai, suhu, dan lama saponifikasi dalam Rancangan Komposit <b>Pusat</b>	39
Tabel 12.	<b>Profil asam lemak</b> kedelai varietas <b>Burangrang</b> dan minyak yang <b>diekstrak</b> dengan <b>metode</b> saponifikasi-ekstraksi satu tahap	41
Tabel 13.	<b>Karakteristik</b> minyak kedelai dari proses <b>saponifikasi-ekstraksi satu tahap</b>	43
Tabel 14.	Kadar protein <b>konsentrat</b> protein kedelai dari residu <b>padat</b> proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap	44

## RINGKASAN

Asam linoleat (LA, *linoleic acid*, C18:2 $\omega$ -6) dan  $\alpha$  linolenat (ALA, *alpha linolenic acid*, C18:3 $\omega$ -3) merupakan asam lemak jenuh (PUFA, *polyunsaturated fatty acid*) esensial yang hanya dapat dipenuhi tubuh dari asupan makanan. Eksplorasi kedelai sebagai sumber LA dan ALA penting untuk dilakukan. Sejauh ini pemenuhan kebutuhan LA dan ALA di Indonesia diperoleh dari produk-produk mengandung LA dan ALA seperti minyak kedelai dan biji rami yang masih diimpor. Indonesia mempunyai berbagai varietas kedelai lokal yang belum banyak dikaji sebagai sumber LA dan ALA.

Untuk meningkatkan jumlah LA dan ALA dalam minyak kedelai perlu diterapkan teknik-teknik konsentrasi yang selama ini banyak diaplikasikan pada minyak ikan. Efisiensi proses diperlukan pada teknik pembuatan konsentrat PUFA (LA dan ALA) dari biji kedelai lokal. Teknik yang dapat dilakukan adalah kombinasi ekstraksi dan saponifikasi simultan dan konsentrasi satu tahap. Pada proses ekstraksi dan saponifikasi, residu padat yang dihasilkan merupakan fraksi tinggi protein berupa konsentrat protein kedelai.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi berbagai varietas kedelai lokal sebagai sumber LA dan ALA, mengembangkan teknik saponifikasi-ekstraksi simultan yang menghasilkan hasil samping berupa konsentrat protein, dan menentukan kondisi pencucian yang tepat dalam pembuatan konsentrat protein kedelai dari residu padat saponifikasi-ekstraksi satu tahap.

Pada penelitian tahap pertama, berbagai varietas kedelai lokal yang sudah diintroduksi dianalisis untuk mengetahui profil asam lemak dalam biji kedelai. Varietas kedelai lokal yang dikaji meliputi varietas Anjasmoro, Burangrang, Panderman, Wilis, dan Kaba. Varietas dengan kadar LA+ALA tertinggi digunakan sebagai bahan baku pembuatan konsentrat PUFA (LA+ALA) dan konsentrat protein.

Pada penelitian tahap pertama ini dilakukan penentuan kondisi proses ekstraksi dan saponifikasi satu tahap yang optimum yang secara simultan akan menghasilkan konsentrat protein kedelai. Kondisi ekstraksi dan saponifikasi satu tahap optimum yang diperoleh digunakan lebih lanjut untuk preparasi konsentrat PUFA. Teknik optimasi yang digunakan adalah metode permukaan respon. Ekstraksi yang dilakukan adalah ekstraksi akueus dilanjutkan dengan saponifikasi secara simultan. Faktor yang dikaji pada tahap penelitian ini adalah lama reaksi saponifikasi, suhu, dan rasio tepung kedelai:air. Respon yang dianalisis adalah kadar LA dan ALA dalam minyak yang dihasilkan. Pada proses pembuatan konsentrat protein kedelai dari residu padat saponifikasi-ekstraksi satu tahap, faktor yang dikaji adalah rasio air:etanol, rasio pelarut:residu padat, dan lama pencucian.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedelai varietas lokal Burangrang, Anjasmoro, Kaba, Wilis, dan Panderman mempunyai kadar asam lemak yang berbeda dengan profil asam lemak yang berbeda pula. Asam linoleat merupakan asam lemak paling dominan. Kadar total 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 dan pembuatan konsentrat protein kedelai.

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 kuadrat dengan persamaan polinomial yang diperoleh  $Y = -51.86090 + 7.62190X_1 + 2.55370X_2 + 0.80565X_3 + 2.75000 \times 10^{-3}X_1X_2 + 8.08333 \times 10^{-3}X_1X_3 - 3.41667 \times 10^{-4}X_2X_3 - 2.10645X_1^2 - 0.021471X_2^2 - 4.31254 \times 10^{-3}X_3^2$  dengan  $X_1$  = rasio air:tepung (b:b),  $X_2$  = suhu saponifikasi, dan  $X_3$  = lama saponifikasi. Kondisi optimum diperoleh pada rasio air:tepung kedelai 2,03:1, suhu saponifikasi 58,86°C, dan lama saponifikasi 92,97 menit. 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 sebesar 68,89% dengan tingkat oksidasi yang rendah. Rendemen minyak dalam bentuk asam lemak bebas yang diperoleh adalah 5,2%. Rendahnya rendemen diduga disebabkan kondisi ekstraksi belum optimum, karena pada penelitian ini kondisi yang dioptimasi terutama adalah pada proses saponifikasi untuk mendapatkan kadar LA+ALA tertinggi. Rendemen diduga kuat dipengaruhi oleh kondisi ekstraksi bukan saponifikasi, akan tetapi kadar LA+ALA sangat dipengaruhi oleh kondisi saponifikasi,

Residu padat yang diperoleh dari hasil samping saponifikasi-ekstraksi satu tahap dibuat konsentrat melalui proses pencucian dengan pelarut hidroalkoholik (campuran air dan etanol). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rasio air:etanol, rasio pelarut:residu padat, dan lama pencucian mempengaruhi kadar protein dalam konsentrat yang dihasilkan. Semakin lama proses pencucian, kadar protein konsentrat protein kedelai semakin meningkat. Pada kondisi pelarut berlebihan semakin banyak komponen protein yang larut dalam pelarut hidroalkoholik yang digunakan sehingga kadar protein menurun. Rasio air:etanol yang terbaik dalam menghasilkan kadar protein tinggi dalam konsentrat adalah 1:3. Pada rasio 1:3, komponen non protein yang larut etanol ikut larut sehingga kadar protein meningkat. Rasio pelarut:residu padat terbaik adalah 8:1 karena jika rasio terlalu rendah, pelarutan komponen non protein belum sempurna, sebaliknya jika terlalu tinggi mengakibatkan protein ikut larut. Kadar protein tertinggi adalah 76,52%. Perlakuan terbaik diperoleh pada lama rasio air:etanol 1:3, rasio pelarut:residu padat 1:8, dan lama pencucian 3 jam.

Kata kunci: asam linoleat, asam linolenat, ekstraksi minyak, saponifikasi, kedelai varietas lokal, konsentrat protein kedelai

## SUMMARY

*Linoleic acid (LA, C18:2 $\omega$ -6) and alpha linolenic acid (ALA, C18:3 $\omega$ -3) were essential polyunsaturated fatty acid (PUFA) for human. To date, the need of LA and ALA in Indonesia is fulfilled by the oils that contain those fatty acids such as borage and soybean oil. The exploration of local varieties of soybean as the sources of LA and ALA is very important to reduce the dependence of import products. However, the local varieties of soybean in Indonesia are limited to explore.*

*To increase the LA and ALA content in soybean oil, the techniques of concentration are applied. Those techniques are mainly employed to fish oil. 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 extraction and saponification or one step concentration. In this process, the residual solid is a fraction that high in protein.*

*This research was objected to elucidate the potency of local soybean varieties as the source of LA and ALA, to develop simultaneous saponification-extraction, and to process the residual solid as by products of saponification-extraction for protein concentrate preparation.*

*Firstly, various local soybean varieties, i.e. Panderman, Wilis, Kaba, Burangrang, and Anjasmara, were assessed for fatty acid profile. The chosen 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. Finally, the optimum condition in one step saponification-extraction subsequently used for soybean concentrate protein preparation.*

*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 and protein concentrate preparation.*

*Ratio of water to soybean meal, saponification temperature, and time affected response of LA+ALA content. The response is quadratic with the polynomial equation as followed:  $Y = -51,86090 + 7,62190X_1 + 2,55370X_2 + 0,80565X_3 + 2,75000 \times 10^{-2} X_1 X_2 + 8,08333 \times 10^{-2} X_1 X_3 - 3,41667 \times 10^{-4} X_2 X_3 - 2,10645 X_1^2 - 0,021471 X_2^2 - 4,31254 \times 10^{-2} X_3^2$  with  $X_1$  = water to soybean meal ratio (w:w),  $X_2$  = saponification temperature, and  $X_3$  = saponification time. Optimum conditions 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 optimum condition was predicted 68,47%.*

*The result of verification showed that the oil contained LA+ALA as high as 68,89 and low oxidation level. The yield of extracted oil was only 5.2% based on soybean meal weight. The low yield was supposed to the extraction condition in one step saponification-extraction was not optimum. This is due to the main objected in this research is to obtain the extracted oil with high LA+ALA content. The critical factor affecting LA+ALA content was saponification. However, extraction condition was supposed to affect the yield of extracted oil.*

The residual solid as the by product of one step saponification-extraction was prepared to soybean protein concentrate by leaching with hiroulcoholic solvent (the mixture of water and ethanol) The results showed all factors affected protein content of soy protein concentrate. Increasing leaching time led to increasing protein content except. Water to ethanol ratio of 1:3 produced the hrghest protein content. Ratio of solvent to residual solid 8:1 produced the highest protein content The highest protein content of protein concentrate prepared by this method was 76.52%.

Keyword": *linoleic acid linolenic acid, oil extraction, saponification, local soybean varieties, soybean protein concentrate*





## BABI. PENDAHULUAN

### 1.1. Latarbelakang

Asam linoleat atau LA (LA, *linolenic 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 *et al.*, 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 ALA penting dan mendesak untuk dilakukan.

Salah satu sumber LA dan ALA yang potensial adalah kedelai. Kadar ALA dalam minyak kedelai mencapai 70 g/kg (Patil *et al.*, 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 0-6) dan ALA (sebagai sumber asam lemak w-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 *et al.*, 2007) yang dapat diterapkan pada pembuatan konsentrat LA+ALA. Guil-Guerrero *et al.* (2007) melakukan ekstraksi minyak dari hati ikan dan secara simultan dilanjutkan dengan teknik konsentrasi dengan kristalisasi pelarut. Adapun Chabrand *et al.* (2008) menerapkan teknik ekstraksi aqueous 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 bagi .

Teknik ekstraksi-saponifikasi satu tahap secara simultan menghasilkan hasil samping berupa residu padatan yang mengandung tinggi protein. Diduga residu padat tersebut termasuk ke dalam konsentrat protein karena proses ekstraksi dan saponifikasi satu tahap sebenarnya merupakan proses penghilangan lemak sebagai salah satu tahapan pada pembuatan konsentrat protein. Pada proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap dari kedelai dilakukan proses pencucian dengan etanol. Etanol selain menghilangkan lemak juga berperan melarutkan gula-gula sederhana, oligosakarida, dan abu, sehingga tahap ini dapat menyebabkan peningkatan kadar protein pada residu padat (Singh *et al.*, 2008).

Pengkajian penerapan teknik saponifikasi-ekstraksi satu tahap dan pembuatan konsentrat protein kedelai secara simultan dari biji kedelai lokal penting untuk dilakukan. Teknik saponifikasi-ekstraksi satu tahap telah diterapkan oleh Guil-Guerrero *et al.* (2007) adalah pada hati ikan, sehingga perlu dikaji kondisi proses yang tepat jika diterapkan pada biji kedelai. Demikian pula perlu dikaji teknik konsentrasi asam lemak bebas yang dihasilkan dari proses saponifikasi-ekstraksi

yang tepat dari berbagai metode yang telah diterapkan pada minyak ikan maupun minyak nabati.

## 1.2. Urgensi Penelitian

LA dan ALA merupakan asam lemak esensial yang mempunyai peran fisiologis penting bagi kesehatan dan harus dipenuhi dari asupan makanan. Sumber LA dan ALA sangat termasuk, salah satunya adalah kedelai. Untuk meningkatkan ketersediaan LA dan ALA yang dapat diformulasikan pada produk pangan atau dijadikan suplemen makanan, berbagai varietas kedelai lokal perlu dikaji potensinya sebagai sumber LA dan ALA. Pemanfaatan kedelai sebagai sumber LA dan ALA akan lebih efisien jika LA dan ALA dalam kedelai diubah menjadi konsentrat dengan kadar asam lemak lain yang rendah.

Teknik untuk preparasi konsentrat PUFA (LA+ALA) dari kedelai lokal penting untuk ditentukan. Penentuan teknik yang diterapkan harus mempertimbangkan efisiensi proses, sehingga teknik saponifikasi-ekstraksi satu tahap yang secara simultan menghasilkan konsentrat protein kedelai, dilanjutkan dengan teknik konsentrasi merupakan solusi yang tepat. Akan tetapi teknik saponifikasi-ekstraksi dan konsentrasi yang telah dikaji menggunakan hati ikan hiu dan minyak yang dihasilkan adalah minyak tinggi PUFA. Oleh karena itu pengkajian dan modifikasi proses pada saponifikasi-ekstraksi dan konsentrasi pada pembuatan konsentrat PUFA dari kedelai penting untuk dilakukan.

## 1.3. Tujuan Khusus

Secara khusus penelitian ini bertujuan mendapatkan teknik yang tepat dan efisien pada proses pembuatan konsentrat PUFA dengan hasil samping yang dapat dimanfaatkan sebagai konsentrat protein kedelai langsung dari biji kedelai. Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk:

- Eksplorasi potensi berbagai varietas kedelai lokal sebagai sumber LA dan ALA.
- Menentukan kondisi ekstraksi dan saponifikasi yang paling optimum untuk kedelai.
- Menentukan teknik konsentrasi yang paling sesuai pada proses pembuatan minyak tinggi ALA dari biji kedelai lokal.

- d. Menentukan proses pencucian **etanol** yang paling tepat untuk **mendapatkan** konsentrat protein kedelai dengan **kadar protein tinggi** dan sifat **fungsional** yang baik.
- e. **Melakukan karakterisasi** konsentrat protein kedelai yang **dihasilkan**.

**Manfaat** yang diharapkan dari **penelitian ini adalah:**

- a. **Meningkatkan** penggunaan kedelai lokal yang dapat berkontribusi pada promosi penggunaan sumberdaya lokal sehingga menunjang ketahanan **pangan nasional**
- b. **Diketahui profil asam lemak** dari berbagai kedelai **varietas** lokal **sebagai** bahan acuan dalam menentukan teknik **pengolahan** yang tepat bagi varietas kedelai yang dikaji, **termasuk** pemanfaatan untuk pembuatan konsentrat PUFA.
- c. Kondisi proses **saponifikasi-ekstraksi satu tahap**, dan **metode** pembuatan konsentrat yang paling tepat pada proses pembuatan konsentrat PUFA dari kedelai lokal dapat **diketahui**.
- d. **Aplikasi** dari teknik yang **dikaji** pada **penelitian ini** di **industri** diharapkan dapat mengurangi ketergantungan **terhadap fortifikan LA dan ALA impor**, konsentrat protein kedelai **impor**, atau minyak kedelai yang **ditujukan** untuk **formulasi LA+ALA** dalam produk **pangan ataupun suplemen** makanan.
- e. Pemanfaatan **hasil samping** proses **ekstraksi-saponifikasi satu tahap** untuk konsentrat protein kedelai.

## BAB II. STUDI PUSTAKA

### 2.1. Peran asam linoleat bagi kesehatan

Asam lemak  $\omega$ -6 yang diperlukan tubuh seperti ARA dan GLA diperoleh dari asam linoleat. Di dalam tubuh asam linoleat diubah menjadi ARA melalui proses desaturasi dan elongasi. Asam linoleat merupakan precursor berbagai jenis eikosanoid yang berperan seperti hormon di dalam tubuh. Akan tetapi, proses perubahan asam linoleat menjadi ARA dibatasi oleh konsumsi asam lemak jenuh dan asam lemak trans yang tinggi (Griffith dan Morse, 2006).

Salah satu fungsi minyak yang mengandung LA adalah untuk terapi penyakit eksim. Minyak tinggi LA diperoleh dari tanaman evening primrose dengan produk komersial Epogam yang mengandung LA 72% dan GLA 9%. Demikian pula dengan penyakit diabetes, gangguan syaraf pada penderita diabetes salah satunya disebabkan penghambatan enzim 6-desaturase yang mengakibatkan kekurangan GLA (Griffith dan Morse, 2006).

LA merupakan asam lemak esensial jika tidak terdapat dalam makanan akan terjadi ketidaknormalan di dalam tubuh dan penyakit degenerative seperti diabetes neuropathy, rematik, artitis, dan penyakit kardovaskular, serta terjadi gejala-gejala autoimun. Asam linoleat terkonjugasi (CLA, *conjugated linoleic acid*) merupakan turunan LA yang banyak mendapat perhatian karena bersifat antikarsinogenik. Akan tetapi, jumlahnya dalam minyak sangat terbatas, dan hanya terdapat dalam jumlah kecil dalam produk-produk ruminansia seperti daging dan susu. Konsumsi sejumlah CLA yang tepat diperlukan. CLA ini dapat dikonversi secara kiiia dari LA, sehingga penyediaan minyak tinggi LA memungkinkan proses konversi yang menghasilkan minyak tinggi CLA (Wu *et al* ,2008)

### 2.2. Peran asam alfa linolenat bagi kesehatan

Asam  $\alpha$  linolenat (ALA, *linolenic acid*, asam  $\alpha$  linolenat) termasuk ke dalam asam lemak esensial yang tidak dapat disintesis tubuh dan harus diperoleh dari makanan yang dikonsumsi (Anonimous, 1992; Sinclair, 1993). Selain ALA yang termasuk ke dalam seri asam lemak  $\omega$ -3, asam lemak esensial yang lain adalah asam linoleat yang termasuk ke dalam seri asam lemak  $\omega$ -6. Kedua sumber asam lemak esensial tersebut adalah minyak nabati. Dalam makanan yang hiasa dikonsumsi

jumlah asam linoleat berlimpah sedangkan jumlah ALA sangat terbatas (Sinclair, 1993).

Kedua asam lemak esensial tersebut di dalam tubuh mengalami serangkaian proses desaturasi dan elongasi. Asam linoleat dikonversi menjadi asam arakhidonat, sedangkan ALA dikonversi menjadi EPA dan DHA. Proses desaturasi dan elongasi tersebut menggunakan enzim yang sama, dan enzim yang digunakan mempunyai preferensi untuk menggunakan substrat asam linoleat, sehingga ALA tidak dapat berkompetisi. Ketidakmampuan ALA untuk berkompetisi tersebut diperparah dengan jumlahnya dalam diet yang biasanya rendah (Anonymous, 1992; Sinclair, 1993; Simopoulos. 1999).

Oleh karena itu asupan ALA dalam makanan harus mencukup. Anjuran konsumsi adalah ALA 1100 mg/hari (Simopoulos, 1989), tetapi menurut Vos dan Stephen (2003) kecukupan konsumsi ALA adalah 2,2 g/2000 kkal atau 1% energi. Efek menguntungkan ALA dapat diperoleh tubuh jika konsumsi ALA lebih dari 1 g/hari dengan efek optimum diperoleh jika konsumsi mencapai 2 g/hari melalui makanan tinggi ALA (Djousse *et al.*, 2001).

ALA dalam tubuh diubah menjadi EPA dan DHA (Anonymous, 1992). Hasil penelitian Abedin *et al.* (1999) menunjukkan bahwa diet tinggi ALA meningkatkan kadar DHA dalam retina dan otak. DHA diperlukan pada perkembangan otak dan retina dan merupakan komponen fosfolipid pada membran otak abu-abu dan fotoreseptor retina (Spector, 1999).

Seperti halnya EPA. ALA juga mempengaruhi metabolisme eikosanoid. Eikosanoid merupakan senyawa seperti hormon yang berperan dalam berbagai proses fisiologis dalam tubuh. Penelitian Chanmugan *et al.* (1991) menunjukkan konsumsi ALA seperti halnya EPA mengubah metabolisme prostaglandin dalam testis. Telah diketahui bahwa EPA juga berperan dalam spermatogenesis.

Keuntungan penggunaan ALA dibandingkan EPA dan DHA adalah tingkat peroksidasi dalam tubuh lebih rendah (L'abbe *et al.*, 1991). Berhubung ALA dalam tubuh dikonversi menjadi EPA dan DHA, minat untuk mengganti penggunaan EPA dan DHA dari minyak ikan dengan ALA mengalami peningkatan (Harris, 1997).

Djousse *et al.* (2001) menunjukkan bahwa setengah dari resiko penyakit jantung arteri disebabkan oleh konsumsi ALA yang rendah. Yam *et al.* (1996) dalam Vos

dan Stephen (2003) menunjukkan bahwa **prevalensi penyakit jantung arteri dan penyakit lain** di Israel disebabkan **konsumsi asam linoleat** yang tinggi. Penelitian *Ferrier et al* (1995) menunjukkan bahwa **konsumsi ALA** yang tinggi dapat mencegah **penyakit jantung koroner**. *Chan et al.* (1991) **sebelumnya** juga menunjukkan bahwa diet tinggi **ALA berperan** menurunkan kolesterol dalam plasma darah. Hal tersebut **ditunjang** oleh penelitian *Goyens dan Mensink* (2005) yang menunjukkan bahwa diet tinggi ALA menurunkan **LDL dan VLDL** kolesterol tetapi tidak mengubah **HDL** kolesterol.

*Anonymous (2008c)* melaporkan bahwa ALA dapat **digunakan** pada tetes **mata** untuk **mengobati** gejala **mata kering** (*dry eye syndrome*). **Mata yang diberi** perlakuan **ALA** menunjukkan perbaikan pada **sel epitel yang rusak** dalam kornea.

Hasil penelitian *Takatoshi et al.* (2002) menunjukkan bahwa diet **diasilgliserol** mengandung **ALA** mempunyai efek **menurunkan berat badan** pada penderita obesitas. Penurunan tersebut terjadi akibat terjadi **regulasi enzim-enzim** pada proses  **$\beta$  oksidasi lemak yaitu asil-KoA-oksidase, asil mntai medium-KoA-dehidrogenase, dan fatty acid binding protein.**

Hasil penelitian *Goyens et al.* (2006) menunjukkan bahwa peningkatan **asupan ALA menyebabkan** peningkatan EPA dalam plasma dan **fosfolipid** akan tetapi **DHA** tidak meningkat. Adapun *Ozias et al.* (2007) menunjukkan bahwa peningkatan kadar **DHA dalam fosfolipid otak lebih tinggi dengan diet campuran ALA dan DHA** dibandingkan diet yang hanya mengandung DHA saja. Hasil penelitian tersebut **ditunjang** oleh hasil penelitian *Levant et al.* (2007) yang **menganalisis** kadar **DHA** dalam berbagai bagian otak pada **tikus hamil**. Hasil penelitian *Levant et al.* (2007) menunjukkan bahwa **DHA dalam otak bisa diperoleh dari ALA dalam makanan.** **Ketersediaan DHA yang rendah** pada saat perkembangan janin menyebabkan **penurunan** kadar **DHA otak** pada ibu **hamil**. Akan tetapi **melalui diet tinggi ALA** **penurunan tersebut** dapat dicegah.

### 23. **Kedelai** sebagai sumber **asam linolenat (LA)** dan **asam alfa linolenat (ALA)**

Sumber asam lemak  $\omega$ -3 saat ini paling **banyak berasal dari ikan** dan alga. Diprediksi pada **masa yang akan datang** sumber **asam lemak tersebut** akan beralih pada sumber lain seperti kedelai. Saat ini **perusahaan-perusahaan besar dunia seperti**



Mosanto dan Solae mengembangkan dan memasarkan produk mengandung asam lemak 0-3 yang berasal dari kedelai. Penelitian yang dilakukan lebih diarahkan pada pengembangan varietas kedelai tinggi asam lemak 0-3 yang dapat digunakan sebagai komponen bahan pangan (Guzman, 2007).

Menurut Guzman (2007), pada tahun 2006 di Amerika Serikat produk pangan mengandung asam lemak 0-3 telah mencapai nilai lebih dari 2 milyar USD, padahal pada tahun 2002 pasar produk ini hanya mencapai 100 juta USD. Diprediksi pada tahun 2011, pasar produk mengandung ALA, EPA, dan DHA akan mencapai 11 milyar USD.

Djousse et al. (2001) menyebutkan bahwa sumber ALA sangat terbatas meliputi minyak *flaxseed*, minyak *canola*, walnut, dan kedelai. Oleh karena itu potensi kedelai lokal di Indonesia penting untuk dieksplorasi sebagai sumber ALA. Profil asam lemak dalam minyak kedelai dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Profil asam lemak dalam minyak kedelai

Jenis Asam Lemak	Kadar (%)
C14:0	0,07
C16:0	10,84
C16:1	0,07
C18:0	3,32
C18:1	22,62
C18:2	55,83
C18:3 (ALA)	6,67
C20:0	0,35
C22:0	0,43
C24:0	0,15

Sumber: Sanibal dan Mancini-Filho (2004)

#### 2.4. Teknik pembuatan konsentrat PUFA

Berbagai teknik telah dikaji untuk mendapatkan minyak dalam bentuk konsentrat PUFA. Teknik konsentrasi asam lemak 0-3 telah lama dikembangkan. Teknik pertama yang dipublikasikan dalam jurnal ilmiah oleh Haagsma et al. (1982) adalah teknik pembentukan kompleks dengan urea atau teknik inklusi urea (urea inclusion compound) atau kristalisasi urea, dengan minyak yang digunakan adalah minyak hati ikan kod.

Pada prinsipnya teknik konsentrasi PUFA didasarkan perbedaan antara PUFA dengan asam lemak lain yaitu asam lemak satu ikatan rangkap dan asam lemak jenuh dalam:

- a. Titik beku. Contoh yang termasuk ke dalam teknik ini adalah pemadatan cepat (Moffat *et al.*, 1993) dan kristalisasi pelarut (Ahmadi, 2006).
- b. Kemampuan membentuk kompleks dengan urea (Haagsma *et al.*, 1982; Ackman *et al.*, 1988; Ganga *et al.*, 1998; Wanasundara and Shahidi, 1999; Hwang dan Liang, 2001). Contoh aplikasi teknik ini adalah kristalisasi urea.
- c. Kelarutan pada suhu rendah. Contoh teknik ini adalah pemadatan cepat (Moffat *et al.*, 1993).
- d. Kemampuan dalam pembentukan kristal pada suhu rendah. Contoh penerapan teknik ini adalah kristalisasi pelarut (Ahmadi, 2006).
- e. Kelarutan dalam pelarut organik. Biasanya teknik ini berdasarkan pada kelarutan selektif dalam suatu pelarut yang didasarkan pada perbedaan polaritas walaupun perbedaan tersebut kecil (Tatum dan Chow, 2000).
- f. Kemampuan ikatan ester untuk dihidrolisis dalam struktur trigliserida. Teknik ini umumnya menggunakan enzim sehingga termasuk ke dalam reaksi enzimatik. Produk konsentrat yang dihasilkan biasanya merupakan campuran antara mono, di, dan trigliserida (Sridhar dan Lakshminarayana, 1992; Yamane *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 2003)
- g. Kemampuan pemisahan dalam sistem kromatografi. Biasanya digunakan untuk memproduksi konsentrat asam lemak  $\omega$ -3 untuk keperluan farmasi (*pharmaceutical grade*) dengan kemurnian tinggi (Bimbo, 1998).
- h. Kemampuan untuk diekstraksi oleh cairan superkritis dalam metode SCFE (*supercritical fluid extraction*) (Tatum dan Chow, 2000). Teknik yang telah diterapkan adalah menggunakan CO<sub>2</sub> cair sebagai cairan superkritis.

Berhubung kedelai mempunyai profil asam lemak yang terdiri dari asam oleat (18-26%), asam linoleat (50-57%), dan asam linolenat (5.5-10%) (Mabaleha *et al.*, 2007), maka teknik konsentrasi untuk meningkatkan asam linolenat yang tepat perlu dikembangkan. Asam linolenat dan linoleat mempunyai perbedaan titik leleh dengan asam oleat dan asam lemak jenuh lainnya dalam minyak kedelai, sehingga perbedaan

suhu kristalisasi dapat memisahkan asam linoleat dan linolenat dari asam-asam lemak lain.

Moffat et al. (1993) mengembangkan metode yang sederhana dan tanpa melibatkan modifikasi kimia adalah metode pemadatan cepat. Metode ini terdiri dari pemadatan cepat butiran minyak ikan dalam nitrogen cair, diikuti oleh ekstraksi dengan aseton pada suhu  $-60^{\circ}\text{C}$ . Trigliserida yang hanya mengandung asam lemak jenuh atau kombinasi dari asam lemak jenuh dan monoenoat dihilangkan secara total pada proses ini. Proses ini memperkaya minyak ikan dengan trigliserida tidak jenuh.

Hasil penelitian Penulis sebelumnya (Estiasih dkk, 2006ab) menunjukkan bahwa variabel proses pemadatan cepat yang berpengaruh terhadap pengayaan minyak ikan dengan asam lemak  $\omega$ -3 adalah lama ekstraksi dan rasio minyak:pelarut. Oleh karena itu kedua faktor tersebut akan dikaji pada penelitian ini untuk mendapatkan konsentrat PUFA dari kedelai lokal.

Prinsip konsentrasi PUFA pada proses pelarutan adalah perbedaan kelarutan asam lemak yang dipengaruhi oleh derajat ketidakjenuhan. Ketika larutan dengan asam lemak yang sudah disaponifikasi didinginkan, garam asam lemak jenuh dan asam lemak satu ikatan rangkap akan mengkristal terlebih dahulu sebelum garam asam lemak dengan jumlah ikatan rangkap tinggi. Heksana merupakan pelarut yang paling tepat digunakan pada proses winterisasi (Guil-Guerrero et al., 2007).

Berbagai faktor yang mempengaruhi proses kristalisasi pelarut telah diteliti oleh Chen dan Ju (2001) dengan jenis minyak yang digunakan adalah minyak borage. Faktor-faktor tersebut adalah suhu kristalisasi, lama kristalisasi, dan rasio pelarut:minyak. Hasil penelitian sebelumnya (Ahmadi, 2006) menunjukkan bahwa pada kristalisasi pelarut suhu rendah untuk mendapatkan minyak kaya asam lemak  $\omega$ -3 faktor penting yang berpengaruh adalah lama kristalisasi dan rasio minyak:pelarut. Kristalisasi pelarut merupakan teknik konsentrasi yang sederhana dan mudah yang didasarkan pada perbedaan asam lemak untuk membentuk kristal pada suhu rendah.

Teknik kristalisasi urea telah diaplikasikan lebih dari 50 tahun untuk menfraksinasi asam lemak bebas. Teknik ini digunakan baik skala kecil untuk keperluan analisis maupun skala besar yang dilakukan di industri (Hayes, 2002). Teknik ini banyak digunakan karena menggunakan suhu yang rendah, murah, dan

ramah lingkungan (Hayes, 2000; Guil-Guerrem and Belarbi, 2001). Biasanya teknik kristalisasi juga merupakan tahap yang dilakukan sebelum distilasi asam lemak bebas yang tidak jenuh untuk keperluan pemumian (Bimbo, 1998).

Wu *et al.* (2008) telah meneliti proses pemumian asam linoleat dari minyak biji bunga matahari dengan teknik metodologi permukaan respon yang mengoptimasi kondisi kristalisasi urea. Pada kondisi optimum, kemurnian asam linoleat yang diperoleh adalah 87,8% dengan tingkat rekovery sebesar 83,4%. Kondisi proses optimum adalah rasio urea:asam lemak (b/b) 0,94%, rasio etanol 95% terhadap urea (v/b) 5,00, suhu kristalisasi 18°C, dan lama kristalisasi 5,0 jam. Minyak tinggi LA ini dapat dikonversi menjadi CLA. Berdeaw *et al.* (1998) menunjukkan bahwa CLA dapat disintesis dari LA melalui proses isomerisasi dengan menggunakan alkali dan proses pemisahan LA dan CLA dapat dilakukan dengan kristalisasi pelarut suhu rendah menggunakan aseton.

Teknik kristalisasi didasarkan pada kemampuan urea untuk membentuk kompleks dengan asam lemak bebas yang dikenal dengan nama kompleks inklusi urea (urea *inclusion* compound) (Hayes, 2002). Hasil penelitian Penulis (Estiasih, 2007) menunjukkan bahwa faktor penting yang mempengaruhi pembentukan kompleks inklusi urea adalah rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi. Kedua faktor tersebut yang akan dikaji pada penelitian ini.

## 2.5. Ekstraksi dan saponifikasi satu tahap

Guil-Guerrero *et al.* (2007) telah mengembangkan teknik ekstraksi, saponifikasi, dan konsentrasi asam lemak 0-3 dari hati ikan. Teknik konsentrasi yang digunakan adalah teknik kristalisasi pelarut melalui proses winterisasi sehingga kadar EPA dan DHA dalam minyak hati ikan meningkat. Faktor yang dikaji pada proses saponifikasi adalah suhu dan kadar air dengan hasil paling optimum adalah suhu 12°C dan kadar air 0%. Bahan yang berbeda diduga mempunyai kondisi proses yang berbeda sehingga penerapan teknik ini pada kedelai penting untuk dikaji.

Konsentrat PUFA yang dihasilkan dari penelitian Guil-Guerrem *et al.* (2007) ada dalam bentuk garam natrium. Bentuk garam natrium dari berbagai jenis asam lemak mempunyai kelarutan yang berbeda-beda dalam etanol. Dasar kelarutan tersebut adalah semakin tinggi jumlah ikatan rangkap dan semakin pendek panjang

rantai untuk tingkat ketidakjenuhan yang sama, maka kelarutan dalam etanol akan semakin meningkat.

Penelitian Guil-Guerrero *et al.* (2007) telah mengoptimalkan suhu dan kadar air pada proses saponifikasi karena efisiensi proses bergantung pada kelarutan garam asam lemak yang berbeda dalam air. Suhu optimum proses saponifikasi adalah 12°C dan pada suhu yang lebih tinggi kadar PUFA menurun. Adapun kadar air optimum adalah 0% yang disebabkan air yang terdapat dalam hati ikan hiu telah cukup untuk digunakan pada proses saponifikasi, sehingga penambahan air tidak dibutuhkan. Pada proses winterisasi suhu -70°C menggunakan heksana tidak diperlukan lagi proses pengenceran. Akan tetapi penentuan rasio heksana:asam lemak yang tepat penting untuk dilakukan.

Berhubung biji kedelai kering mempunyai kadar air rendah, maka tingkat penambahan air merupakan faktor penting yang harus ditentukan. Chabrand *et al.* (2008) mengembangkan teknik ekstraksi minyak dari tepung kedelai dengan menggunakan metode destabilisasi emulsi pada ekstraksi minyak kedelai dengan menggunakan akuades (*aqueous extraction*). Ekstraksi minyak kedelai dengan menggunakan heksana merupakan metode yang paling banyak digunakan dan efektif karena residu minyak hanya 1%. Akan tetapi, heksana merupakan pelarut yang mudah terbakar sehingga dikembangkan metode ekstraksi dengan akuades.

Kombinasi antara metode ekstraksi akuades Chanbrand *et al.* (2008) dan ekstraksi dan konsentrasi satu tahap Guil-Guerrero *et al.* (2007) sangat tepat diterapkan pada tepung kedelai. Metode Guil-Guerrero menggunakan bahan baku minyak hati hiu mako yang mempunyai karakteristik yang sangat berbeda dengan tepung kedelai.

Watanabe *et al.* (2007) mengembangkan teknik produksi metil ester asam lemak (FAME, *fatty acid methyl ester*) secara enzimatik dari minyak asam. Minyak asam merupakan hasil samping pengolahan minyak kedelai yang mengandung asam lemak bebas, asilgliserol, dan senyawa-senyawa lipofilik. Pertama kali asilgliserol dihidrolisis menjadi asam lemak bebas menggunakan lipase *C. rugosa*; kemudian asam lemak yang dibebaskan diesterifikasi menjadi FAME dengan lipase *C. antartica*.



Haas *et al* (2007) mengembangkan **teknik** transesterifikasi *in situ* dari tepung kedelai berlemak **menghasilkan** FAME. Tepung kedelai berlemak direaksikan dengan **metanol alkalin**. FAME yang **dihasilkan** digunakan sebagai bahan **bakar**. **Metode** ini **kurang** tepat diterapkan **untuk minyak** yang akan dikonsumsi.

## 2.6. Konsentrat protein kedelai

Konsentrat protein kedelai telah digunakan **sejal** tahun 1960 **sebagai** bahan **pangan** fungsional dan nutrisi untuk meningkatkan nilai **gizi** produk **pangan** (Singh *et al.*, 2008). Protein kedelai merupakan sumber ideal **asam amino** dan **saat ini** **merupakan** sumber protein nabati utama di dunia. Konsentrat protein **merupakan** bahan **pangan fungsional** yang **penting** dalam pengolahan **pangan** selain nilai  **nutrisinya** yang tinggi. Sifat fungsional yang penting **antara** lain dalam **emulsifikasi**, **penbentukan** gel elastik, tekstur, *mouthfeel*, dan viskositas (Slaon, 2000).

Protein kedelai menyediakan 9 **jenis asam amino esensial** dan berperan penting terhadap **sifat** fungsional dan pengembangan **pangan** fungsional. Protein kedelai dapat meningkatkan **kadar** air dan **menahan** flavor, membantu **emulsifikasi**, dan membentuk tekstur yang penting dalam **berbagai** produk **olahan pangan** seperti frozen dessert, produk olahan daging, mentega kacang, **sampai** keju. Konsentrat protein dengan **mudah dicerna** tubuh dan **setara** dengan protein susu, daging dan telur dengan **keunggulan** tidak mengandung kolesterol dan **bebas laktosa** (Neven, 1996).

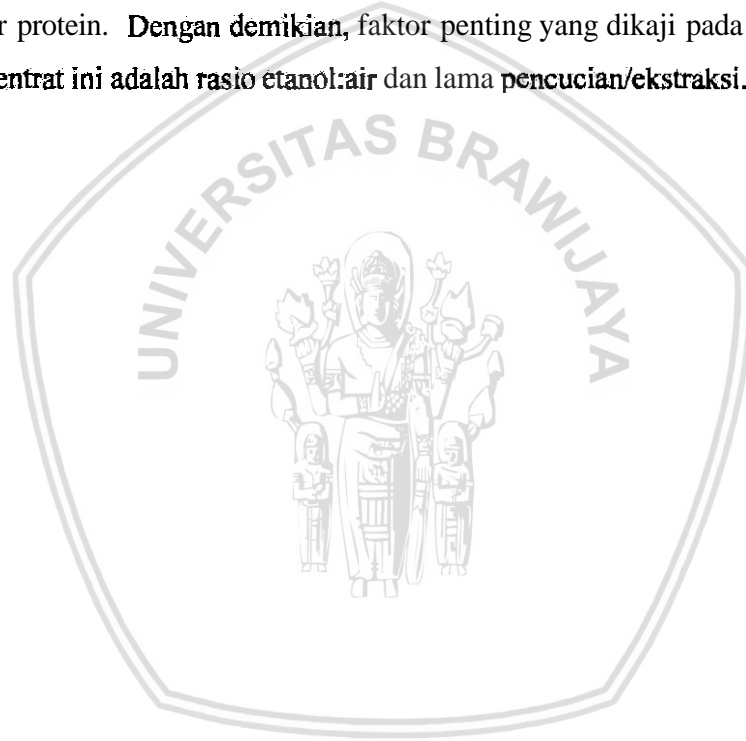
Konsentrat protein kedelai **merupakan** bentuk yang lebih **murni** dari tepung kedelai dan mengandung protein lebih dari **70%**. Konsentrat protein dibuat dari **serpihan** atau tepung kedelai yang telah **dihilangkan lemaknya** dan kemudian **dilakukan** **penghilangan** gula dan oligosakarida **serta sejumlah** komponen minor lainnya **seperti** abu (Singh *et al.*, 2008).

Lebih lanjut Singh *et al.* (2008) **menjelaskan** bahwa ada tiga **cara** dalam **pembuatan** konsentrat protein kedelai, yaitu pencucian dengan alkohol, pencucian dengan **asam**, dan **metode pemberian uap**. **Pada metode pertama**, serpihan atau tepung kedelai dicuci dengan alkohol-akueous 60-80%. Protein dan polisakarida bersifat tidak **larut** dalam alkohol, sedangkan gula dan komponen lainnya **larut** dan dibuang. **Konsentrat** kemudian **dikeringkan** pada pH **alaminya**. **Teknik kedua** adalah pencucian **asam** yaitu **pengaturan** pH sampai 4.5. **Pada** pH ini, protein kedelai



**menggumpal** karena merupakan **titik isoelektriknya**. Protein yang menggumpal kemudian **dinetralkan** dan dikeringkan. Pada **metode** ketiga, protein **didenaturasi** dengan uap air **panas dan dicuci** dengan air **untuk** menghilangkan gula dan komponen minor lainnya.

Pada **penelitian ini**, **metode pertama** yang akan **dikaji** karena setelah proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap (yang **merupakan tahap** penghilangan lemak pada proses pembuatan **konsentrat** protein). **dilakukan pencucian** dengan **etanol** untuk **merekoveri minyak** hasil saponifikasi. Pencucian tersebut juga **merupakan** proses penghilangan gula, oligosakarida, dan komponen minor **lainnya** untuk **meningkatkan** kadar protein. **Dengan demikian**, faktor penting yang dikaji pada proses pembuatan **konsentrat ini** adalah rasio etanol:air dan lama **pencucian/ekstraksi**.



## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1. Baban

Kedelai lokal varietas Anjasmoro, Burangrang, Panderman, Wilis, dan Kaba, minyak kedelai; etanol, akuades, NaOH, metilen klorida, BF<sub>3</sub>-metanol 14%, heksana, ammonium tiosianat, barium klorida, hidrogen peroksida, ferroklorida, ferriklorida, benzena, metanol, HCl, urea, p-anisidin, isooktana, xilena, kalium sulfat, ferrosulfat, asam sulfat, reagent Biuret, reagen Anthrone (p.a.), metanol, etanol, aseton, heksana, NaOH (teknis), standar campuran asam lemak C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 $\omega$ -9, C18:2 $\omega$ -6, C18:3 $\omega$ -3, standar internal C17:0, SDS, standar BSA (Sigma Co.), gas nitrogen, gas hidrogen, kertas saring kasar, dan es kering.

### 3.3. Peralatan

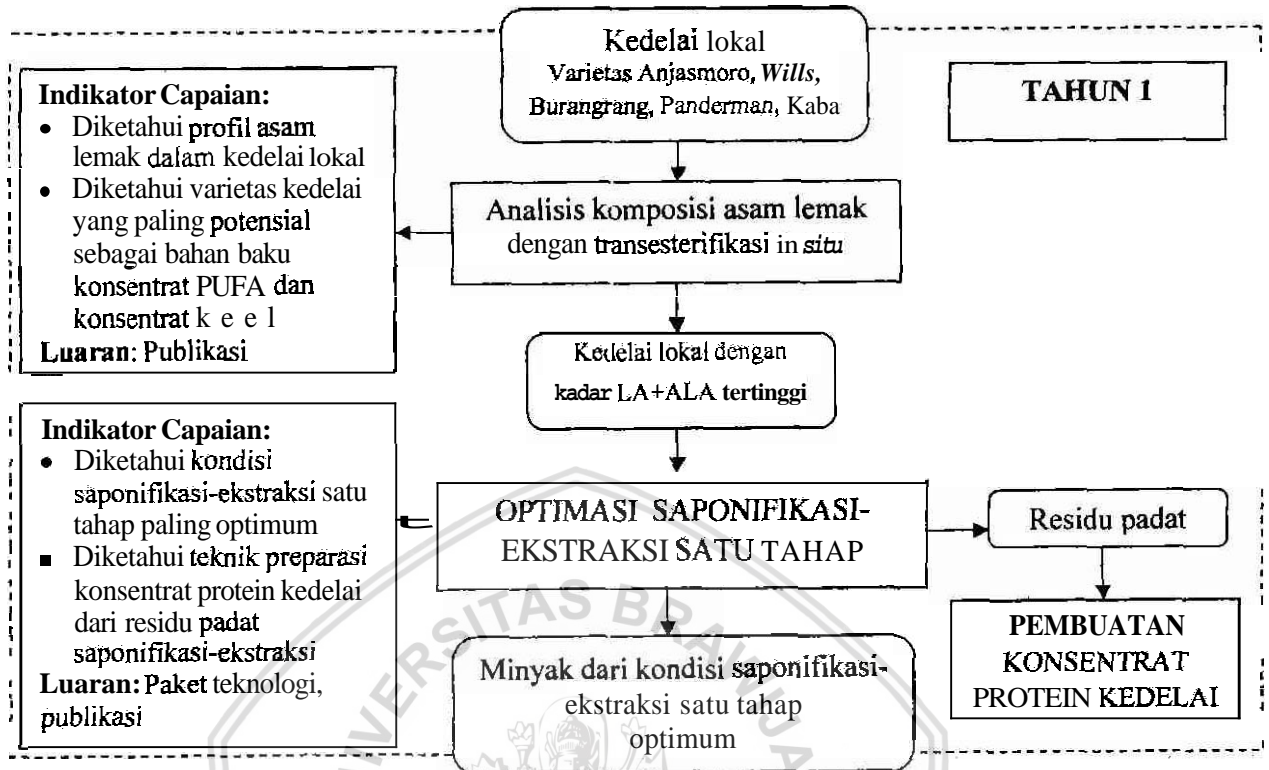
Kromatografi gas, integrator, rotavapor, freezer, peralatan gelas, spektrofotometer, homogenizer, pengering kabinet, plat pemanas, penangas air, pengaduk magnet, neraca analitik, dan kromatografi cair kinerja tinggi.

Secara garis besar rencana penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

### 3.3. Jalan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu :

1. Optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap dari kedelai varietas lokal secara simultan
2. Pengembangan teknik pembuatan konsentrat protein kedelai dari hasil samping saponifikasi-ekstraksi satu tahap paling optimum dari kedelai varietas lokal



Gambar 1. Roadmap penelitian saponifikasi-ekstraksi satu tahap simultan dengan pembuatan konsentrat protein kedelai

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, dan proses pembuatan konsentrat. Proses pembuatan konsentrat dilakukan dari kondisi saponifikasi-ekstraksi yang paling optimum.

### 33.1. Penentuan kedelai varietas lokal

Penentuan kedelai varietas lokal dilakukan pada varietas Burangrang, Anjasmoro, Wills, Kaba, dan Panderman secara langsung dari tepung kedelai dengan menggunakan metode transesterifikasi *in situ* Park dan Goïn (1994). Varietas kedelai lokal dengan kadar LA+ALA tertinggi digunakan sebagai bahan baku saponifikasi-ekstraksi satu tahap, pembuatan konsentrat kedelai, dan pembuatan konsentrat PUFA.

### 33.2. **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 **permukaan** respon 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. Selain kadar **LA+ALA**, **rendemen** juga ikut diukur tetapi tidak **dijadikan** respon.

Proses ekstraksi dan saponifikasi **satu** tahap yang **dilakukan** dengan **mengacu** pada metode Guil-Guerrero *et al.* (2007) yang **dimodifikasi** sebagai berikut: Ekstraksi dan saponifikasi minyak dari tepung kedelai **dilakukan** dalam erlenmeyer 500 ml dengan suhu **terkontrol**. Sebanyak 60 g sampel tepung kedelai dimasukkan ke dalam **erlenmeyer** 100 ml. 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:H<sub>2</sub>O** 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).

Proses optimasi dilakukan dengan menggunakan Rancangan Komposit Pusat seperti dapat dilihat pada Tabel 2. 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 et al. (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 uangan. Analisis data dilakukan dengan program Design Expert DX 6.0.10 (*trial version*).

Tabel 2. Rancangan Komposit Pusat ordo kedua dengan tiga faktor

NO.	Variabel Sebenarnya			Variabel Terkode		
	Rasio Air:Tepung Kedelai	Suhu (°C)	Lama (menit)	$X_1$	$X_2$	$X_3$
1.	1:1	50	60	-1	-1	-1
2.	1:1	50	120	-1	-1	+1
3.	1:1	70	60	-1	+1	-1
4.	1:1	70	120	-1	+1	+1
5.	3:1	50	60	+1	-1	-1
6.	3:1	50	120	+1	-1	+1
7.	3:1	70	60	+1	+1	-1
8.	3:1	70	120	+1	+1	+1
9.	2:1	60	90	0	0	0
10.	2:1	60	90	0	0	0
11.	2:1	60	90	0	0	0
12.	2:1	60	90	0	0	0
13.	2:1	60	90	0	0	0
14.	2:1	60	90	0	0	0
15.	0,318:1	60	90	-1,682	0	0
16.	3,682:1	60	90	+1,682	0	0
17.	2:1	40,18	90	0	-1,682	0
18.	2:1	76,83	90	0	+1,682	0
19.	2:1	60	39,54	0	0	-1,682
20.	2:1	60	140,46	0	0	+1,682

Kondisi proses **ekstraksi** dan saponifikasi saponifikasi satu tahap **digunakan** pada **preparasi** minyak (dalam **bentuk asam lemak bebas**) yang akan dibuat konsentrat PUFA dengan menggunakan tiga **teknik konsentrasi**. Dari kondisi optimum proses **saponifikasi-ekstraksi** satu tahap dihasilkan residu **padat** yang **diproses** lebih lanjut menjadi konsentrat protein kedelai. **Minyak dari perlakuan** paling optimum dianalisis meliputi **komposisi asam lemak**, bilangan p-anisidin, bilangan total **oksidasi**, bilangan peroksida, dan **densitas/BJ**.

### 3.3.3. Pembuatan Konsentrat Protein Kedelai

Residu **padat** yang dihasilkan dari kondisi proses **saponifikasi-ekstraksi** satu tahap **diproses** lebih lanjut menjadi konsentrat protein kedelai. Tujuan tahap ini adalah mendapatkan teknik pencucian **pelarut (hidro-alkoholik)** yang **sebenarnya merupakan** tahapan pada proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap. Pencucian dengan hidro-alkoholik (etanolair) merupakan tahapan **kritis** pada **pembuatan** konsentrat protein kedelai, karena pada tahap ini **dilakukan penghilangan** komponen **pengotor** seperti gula, oligosakarida, dan abu. Oleh karena itu, pada tahap ini dikaji rasio **antara air:etanol**, rasio **pelarut:residu padat**, dan lama **pencampuran**, dengan taraf **faktor** sebagai berikut:

P = rasio air:etanol yaitu

$$P1 = 1:1$$

$$P2 = 1:2$$

$$P3 = 1:3$$

R = rasio **pelarut:residu padat**

$$R1 = 10:1$$

$$R2 = 8:1$$

$$R3 = 6:1$$

L = lama **pencampuran** untuk setiap 100 g residu **padat**

$$L1 = 1 \text{ jam}$$

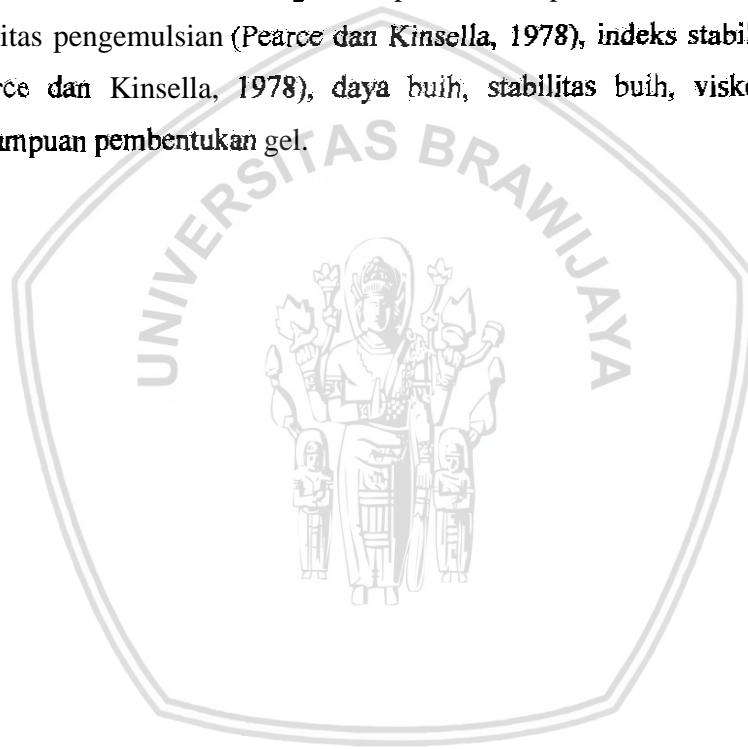
$$L2 = 2 \text{ jam}$$

$$L3 = 3 \text{ jam}$$

**Setelah** proses pencucian **dilakukan**, residu **padat** disaring dengan **kertas saring kasar** dan dikeringkan dengan **pengering kabinet** selama 4 jam.



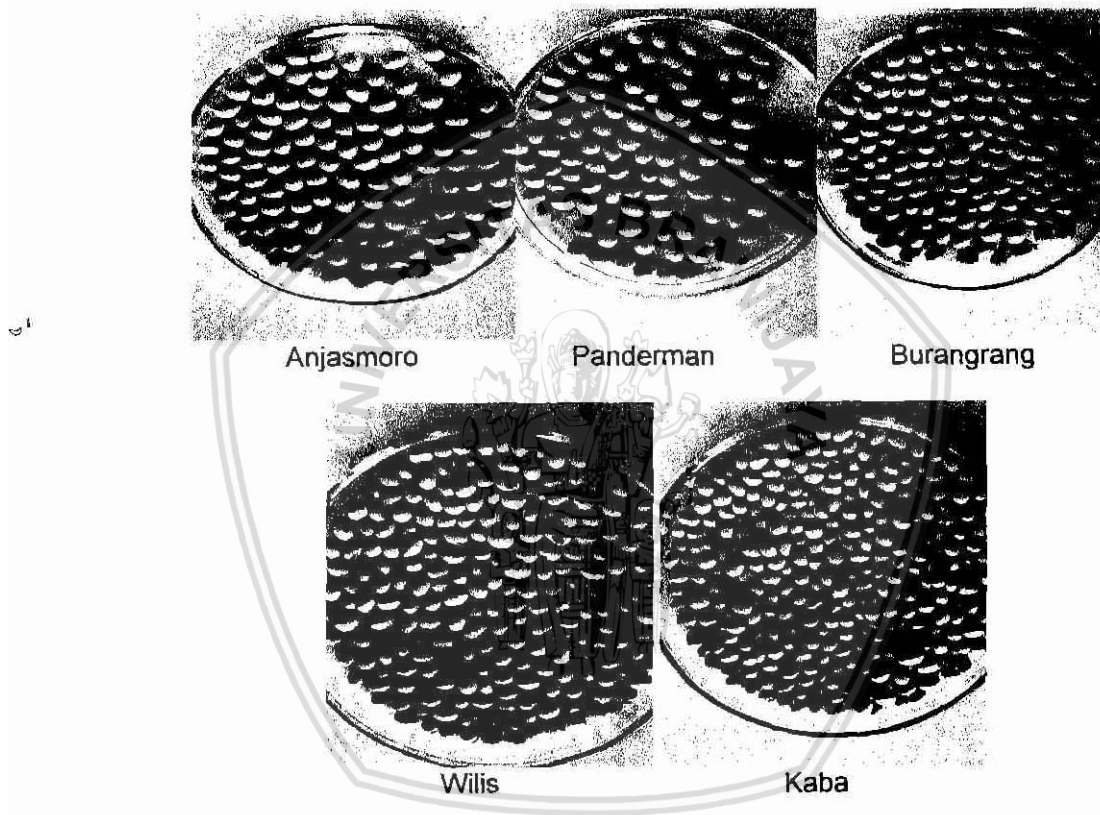
Percobaan yang dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua kali ulangan. Setiap perlakuan dianalisis meliputi kadar protein dengan metode Kjeldahl (AOAC, 1990), tingkat hidrolisis protein dengan titrasi formol (AOAC, 1990), dan kadar protein dengan metode biuret (AOAC, 1990). Konsentrat dengan kadar protein berdasarkan metode biuret tertinggi dikarakterisasi untuk mengetahui mutu konsentrat. Parameter mutu konsentrat yang dianalisis meliputi: kadar protein dengan metode biuret (AOAC, 1990). Konsentrat protein terbaik dianalisis meliputi kadar gula dengan metode Anthrone (AOAC, 1990), kadar air (AOAC, 1990), kadar oligosakarida, dan sifat fungsional protein meliputi kelarutan, daya larut, indeks aktivitas pengemulsian (Pearce dan Kinsella, 1978), indeks stabilitas pengemulsian (Pearce dan Kinsella, 1978), daya buih, stabilitas buih, viskositas larutan, dan kemampuan pembentukan gel.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Varietas Kedelai Lokal

Varietas kedelai yang diuji kadar dan profil asam lemaknya pada penelitian ini adalah variets burangrang, panderman, anjasmoro, wilis, dan kaba. Bentuk morfologi biji kedelai dari berbagai varietas lokal tersebut dapat dilihat pada Gambar



Gambar 2 Vanefas kedelai lokal yang dianalisis profil asam lemaknya

### 4.2. Kadar dan Profil Asam Lemak Kedelai Varietas Lokal

Profil asam lemak kedelai varietas lokal dapat dilihat pada Tabel 2. Dari Tabel 3 terlihat bahwa asam lemak yang mendominasi minyak dalam kedelai adalah asam linoleat untuk semua varietas.

Tabel 3. Profil asam lemak kedelai varietas lokal

Jenis asam lemak	Burangrang	Wilis	Kaba	Panderman	Anjasmara
C14:0 (miristat)		0.29	-	0.60	
C16:0 (palmitat)	11.73	12.01	12.44	12.95	11.51
C18:0 (stearat)	3.14		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

Tabel 3 menunjukkan bahwa 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 gang diinginkan untuk mendapatkan minyak tinggi asam linolenat. Perbedaan komposisi asam lemak pada berbagai varietas kedelai kemungkinan disebabkan oleh faktor genetik dan lingkungan pertumbuhan.

Hasil penelitian Mancino-Filho (2004) menunjukkan bahwa asam lemak dominan dalam kedelai adalah asam linolenat, diikuti oleh asam oleat. Adapun asam linolenat kadarnya hanya mencapai 6,67%. Kucuk et al. (2004) menunjukkan bahwa komposisi asam lemak minyak kedelai adalah asam palmitat 14,5%, asam stearat 2,41%, asam oleat 22,2%, asam linoleat 45,6%, asam linolenat 7,68% dan tidak diketahui 7,48%. Penelitian lain seperti Wang et al. (2009) menunjukkan komposisi asam lemak dalam kedelai yang mirip dengan penelitian ini yaitu asam palmitat 11,75%, asam stearat tidak terdeteksi, asam oleat 28,37%, asam linoleat 55,40%, dan asam linolenat 4,48%.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa asam lemak monoenoat dan asam polienoat yang merupakan komponen asam lemak tidak jenuh merupakan asam lemak penyusun terbesar minyak kedelai. Pada beberapa kasus, keberadaan asam lemak yang tidak jenuh ini tidak diinginkan karena menurunkan stabilitas minyak terhadap oksidasi (Patil et al., 2007). Akan tetapi, pada penelitian ini, karena tujuan akhir adalah diperoleh konsentrat PUFA dengan kadar LA+ALA terutama ALA yang tinggi, keberadaan asam lemak tidak jenuh diinginkan.

Berat jenis-jenis asam lemak dalam kedelai yang dinyatakan dalam mg asam lemak per g kedelai dapat dilihat pada Tabel 4. Berat total asam lemak yang ada dalam biji kedelai untuk berbagai varietas kedelai yang diteliti adalah berkisar 139,04-213,80 mg/g kedelai. Kisaran ini menunjukkan persentase 13,90-21,38%. Menurut Patil *et al.* (2007) biji kedelai mengandung minyak 20%. Pada penelitian ini, yang diukur adalah asam lemak bukan dalam bentuk trigliserida tetapi nilai yang diperoleh setara dengan yang dilaporkan Patil *et al.* (2007).

Tabel 4. Kadm asam lemak (mg/g kedelai) dari kedelai varietas lokal

Jenis Asam Lemak	Burangrang	Wilis	Kaba	Panderman	Anjasmara
C14:0 (miristat)	-	0.59	0	1.12	0
C16:0 (palmitat)	22.85	24.01	29.05	24.38	16.01
C18:0 (stearat)	6.12		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	194,88	199,87	213,80	186,77	139,04

Varietas kedelai yang berbeda mempunyai kadar total asam lemak yang berbeda. Kadar total asam lemak mencerminkan kadar minyak dalam kedelai. Faktor genetik dan faktor fenotip mempengaruhi kandungan minyak yang ada dalam kedelai.

Seperti halnya profil asam lemak (yang menunjukkan persentase relatif asam lemak terhadap total asam lemak), 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 *et al.* (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 *et al.* (2007) disebabkan nilai yang diukur pada penelitian ini adalah berat asam lemak per berat kedelai bukan berat minyak.

Dari Tabel 4 terlihat bahwa **berat asam** linolenat 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** linolenat dan linolenat sebesar **117,77 mg**. Berdasarkan persentase **berat maka** **berat asam** linoleat dan linolenat dalam kedelai adalah **11,78%**. Dari Tabel 3 terlihat bahwa **berat total 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 dapat **disimpulkan** bahwa varietas kedelai **terpilih** yang akan **digunakan** pada proses optimasi **saponifikasi-ekstraksi** satu tahap adalah kedelai **varietas** Burangrang.

#### 4.3. Kadar Air

**Analisis** kadar **air** dilakukan pada kedelai varietas lokal. Hasil **analisis** kadar air dapat **dilihat** pada Tabel 5. Kadar air **perlu** dianalisis **karena** dapat mengganggu proses **penepungan** untuk persiapan **saponifikasi-ekstraksi** satu tahap.

Tabel 5. Kadar air kedelai varietas lokal

Varietas Kedelai	% Kadar Air
Burangrang	8,73
Kaba	8,15
Wilis	9,66
Panderman	8,68
Anjasmoro	12,91

Terdapat perbedaan kadar air pada kedelai varietas lokal yang dianalisis. Perbedaan tersebut terutama disebabkan oleh perbedaan **penanganan pasca panen**, umur panen, dan kondisi penyimpanan

#### 4.4. Penepungan

**Penepungan** kedelai **dilakukan** sebagai persiapan proses **saponifikasi-ekstraksi** satu tahap. Tepung kedelai yang dibuat adalah tepung kedelai **tanpa** kulit **dengan pertimbangan** bahwa kulit mengandung serat dalam **jumlah** tinggi yang akan



mempersulit pembuatan konsentrat karena konsentrat protein harus mengandung komponen non protein dalam jumlah serendah-rendahnya.

Proses pengulitan kedelai dilakukan **setelah** kedelai direndam kemudian dilanjutkan dengan **pengulitan**. Kedelai **tanpa kulit tersebut** kemudian dikeringkan dalam **pengering** kabinet suhu 50°C selama 6 jam untuk **menurunkan** kadar air. Kadar air yang tepat penting dalam **proses penepungan**, karena **jika** kadar air **tinggi** penepungan akan sulit. Tepung yang diperoleh **digunakan** untuk proses **saponifikasi-ekstraksi** satu tahap.

#### 4.5. Proses Saponifikasi-Ekstraksi Satu Tahap

Saponifikasi dan ekstraksi minyak dari tepung kedelai **dilakukan** dalam erlenmeyer 500 ml dengan suhu **terkontrol**. Sebanyak 60 g **sampel** tepung kedelai **dimasukkan** ke dalam erlenmeyer 100 ml. 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**. NaOH **berperan** **menghidrolisis** **trigliserida** menjadi garam-asam lemak (Na-COO-R) atau **sabun**. Etanol **diperlukan** untuk **melarutkan** garam-asam lemak yang **terbentuk**.

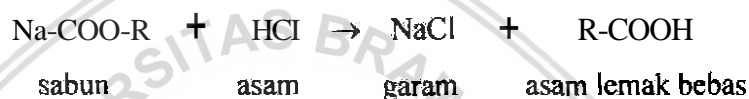
**Lebih lanjut**, larutan yang sudah **disaponifikasi** **didinginkan** pada suhu **ruang** **selama semalam (12 jam)** sehingga diperoleh fraksi **padat** dan fraksi **cair**. **Fraksi padat** yang diperoleh dipisahkan, kemudian **disaring** dan dicuci dengan etanol. **Fraksi padat** ini merupakan **ampas kedelai** yang sudah diambil minyaknya. **Dari ampas** ini akan dibuat konsentrat protein kedelai. Diduga **ampas terdiri** dari protein, **serat, pati**, mineral, dan **gula-gula** sederhana. **Pada** proses pembuatan **konsentrat** protein kedelai, pencucian yang tepat **diperlukan** untuk **menghilangkan** komponen-komponen non protein dari **ampas**. Dengan demikian, diharapkan kadar protein mengalami **peningkatan**.

**Hasil** pencucian ini (etanol yang **melarutkan** **garam-asam** lemak) digabungkan dengan fraksi **cair** yang sudah dipisahkan dan **dipekatkan** dengan rotavapor suhu 35°C. Kemudian dilakukan **penambahan** 25 ml **akuades** dan 100 ml **heksana** untuk



memisahkan fraksi tidak tersabunkan. **Fraksi** tidak tersabunkan akan **larut di** dalam heksana **dan ada di bagian atas**.

Fase **hidroalkoholik (campuran etanol dan air)** yang mengandung sabun **diasamkan sampai pH 1** dengan menggunakan **HCl:H<sub>2</sub>O 1:1 (v/v)**. Tujuannya adalah **mengubah garam-asam lemak atau sabun menjadi asam lemak bebas**. Pada tahap ini terjadi **reaksi asam-basa** seperti dapat dilihat pada Gambar 3. **Asam lemak bebas** yang **terbentuk kemudian diekstrak** menggunakan heksana. **Lapisan** heksana yang mengandung PUFA dievaporasi pada suhu 35°C kondisi vakum. Minyak yang diperoleh **merupakan** minyak dalam bentuk **asam lemak bebas**.



Gambar 3. **Reaksi** yang terjadi pada proses pengasaman fase hidroalkoholik

Dari **hasil saponifikasi-ekstraksi satu tahap ini** diperoleh minyak dalam bentuk **asam lemak bebas**. Optimasi yang dilakukan **ditujukan untuk mendapatkan** minyak **dnegan kadar asam linoleat dan linolenat yang tertinggi**. Hal ini penting karena pada penelitian **tahun berikutnya** direncanakan untuk membuat konsentrat PUFA dalam **bentuk asam lemak bebas** dengan berbagai **metode**.

#### 4.6. Optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap

Optirnasi dilakukan dengan menggunakan Rancangan Komposit **Pusat** pada Metodologi **Permukaan Respon**. **Faktor** yang dikaji adalah **rasio air:tepung kedelai**, suhu, **dan lama saponifikasi**, dan **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 et al., 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 menggel 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 6.

Tabel 6. Respon kadar LA+ALA pada Rancangan Komposit Pusat

Rasio Air:Tepung Kedelai	Variabel Sebenarnya		Variabel Terkode			Kadar LA+ALA (%)
	Suhu (°C)	Lama (menit)	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	
1:1	50	60	-1	-1	-1	62.78
1:1	50	120	-1	-1	+1	61.97
1:1	70	60	-1	+1	-1	61.98
1:1	70	120	-1	+1	+1	61.83
3:1	50	60	+1	-1	-1	61.38
3:1	50	120	+1	-1	+1	62.61
3:1	70	60	+1	+1	-1	61.76
3:1	70	120	+1	+1	+1	61.84
2:1	60	90	0	0	0	67.90
2:1	60	90	0	0	0	66.47
2:1	60	90	0	0	0	67.02
2:1	60	90	0	0	0	70.21
2:1	60	90	0	0	0	70.78
2:1	60	90	0	0	0	68.89
0,318:1	60	90	-1,682	0	0	59.47
3,682:1	60	90	+1,682	0	0	60.57
2:1	40,18	90	0	-1,682	0	61.56
2:1	76,83	90	0	+1,682	0	58.25
2:1	60	39,54	0	0	-1,682	52.15
2:1	60	140,46	0	0	+1,682	57.85

#### 4.6.1 Pemilihan model yang sesuai

Metode permukaan respon digunakan untuk menentukan model yang sesuai untuk memprediksi respon. Menurut Chen *et al.* (2005), 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), kuadratik, 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*).

Pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square* (Tabel 7) 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.

Tabel 7. Uraian jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Square*) untuk optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal

Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	Fhit	Prob>F	Keterangan
Rata-rata	78989.88	1	78989.88			
Linear	10.98	3	3.66	0.15	0.9266	
2FI	0.56	3	0.19	$6.332 \times 10^{-3}$	0.9993	
Kuadratik	298.07	3	99.36	11.62	0.0013	<i>Suggested</i>
Kubik	11.85	4	2.96	0.24		<i>Aliased</i>
Residu	73.68	6	12.28			

Pemilihan model yang kedua adalah berdasarkan uji simpangan model (Tabel 8). Model dianggap tepat jika nilai  $P > 0,05$  ( $P > 5\%$ ) yang berarti ketidaktepatan model berpengaruh nyata. Dari uji ini kuadratik dan kubik tepat dijadikan model karena nilai  $P > 5\%$ , akan tetapi model kubik tidak dianjurkan.

Tabel 8. Uji simpangan model (*lock of fit test*) untuk optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal

Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	Fhit	Prob>F	Keterangan
Linear	369.26	1	33.57	11.26	0.0076	
2FI	368.69	8	46.09	15.46	0.0040	
Kuadratik	70.62	5	14.12	4.74	0.0565	<i>Suggested</i>
Kubik	58.77	1	58.77	19.71	0.0068	<i>Aliased</i>
Galat	14.91	5	2.98			

Dilihat dari Tabel 8, 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*) (Tabel 9). Parameter yang digunakan untuk memilih model yang tepat adalah standar deviasi terendah, *R-square* tertinggi, *Adjusted R-square* tertinggi, *Predicted R-square* tertinggi, dan PRESS (*Prediction Error Sum of Square*) terendah. Diantara model yang memenuhi kriteria adalah model kuadratik

Tabel 9. Ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*) untuk optimasi saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai lokal

Sumber	Standar deviasi	R-Squared	Adjusted R Squared	Predicted R-Squared	PRESS	Keterangan
Linear	4.90	0.0278	-0.1545	-0.3904	549.42	
2FI	5.43	0.0292	-0.4188	-0.5575	615.42	
Kuadratik	<u>2.92</u>	<u>0.7835</u>	<u>0.5887</u>	<u>-0.4057</u>	<u>555.45</u>	<i>Suggested</i>
Kubik	3.50	0.8135	0.4096	-31.8396	12976.41	<i>Aliased</i>

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. R<sup>2</sup>* 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 10) 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 (rasio air:tepung kedelai vs suhu, suhu vs lama, rasio air tepung kedelai vs lama) yang dikaji tidak mempengaruhi respon.

Tabel 10. 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
B <sup>2</sup>	63.94	1	63.94	7.48	0.0210	Signifikan
C <sup>2</sup>	66.44	1	66.44	7.77	0.0192	Signifikan
Residual	217.10	10	21.71	25.38	0.0005	Signifikan
Lack of Fit	85.53	5	17.11	4.74	0.0565	Tidak signifikan
Galat	70.62	5	14.12			
	14.91	5	2.98			

Penelitian Guil-Guerrero *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa dua faktor mempengaruhi proses konsentrasi asam lemak  $\omega$ -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 mengandung air dalam kadar tinggi. Akan tetapi pada penelitian ini, air penting untuk ditambahkan karena kedelai mempunyai kadar air yang rendah.

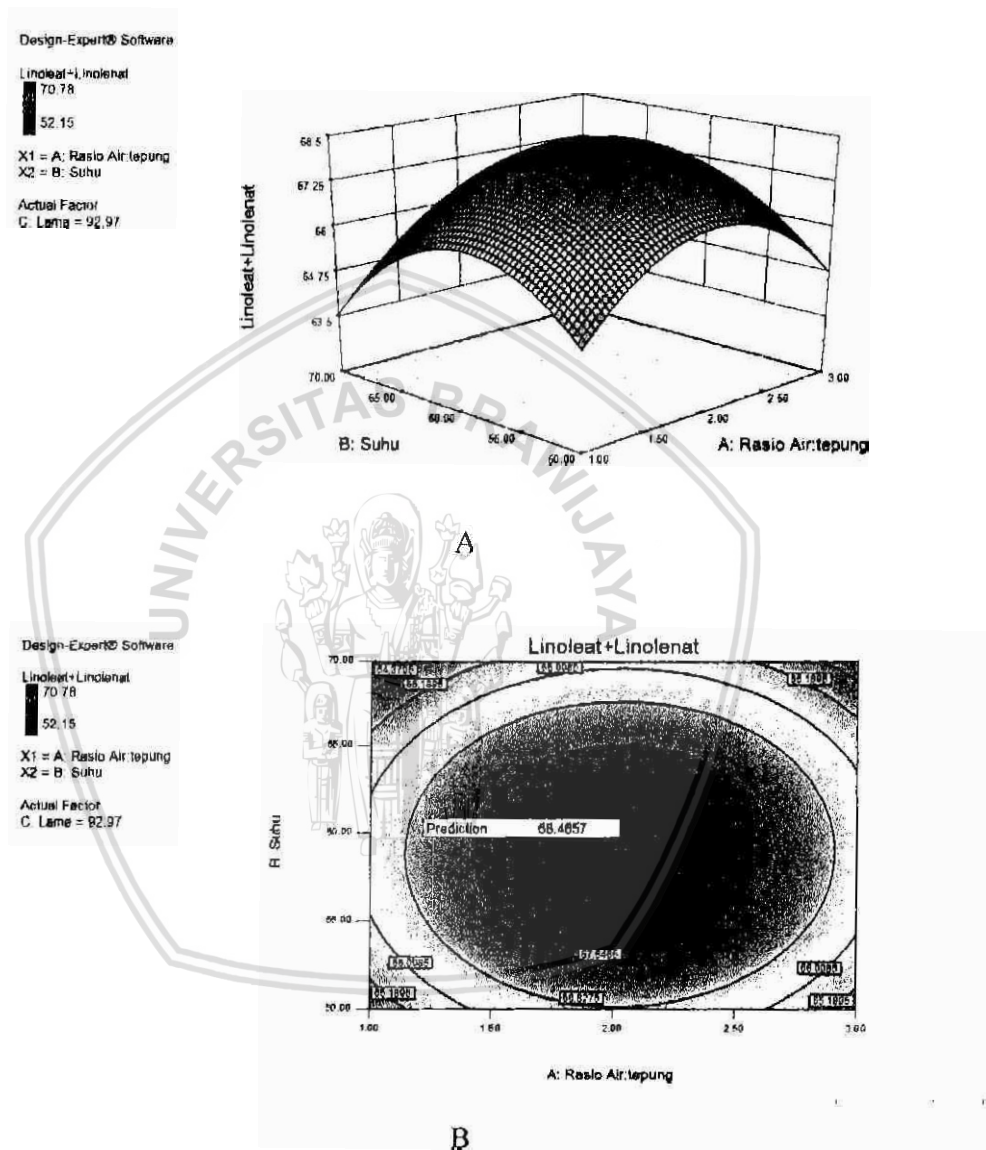
Menurut Guil-Guerrero *et al.* (2007), faktor lain yang mempengaruhi proses saponifikasi adalah jenis basa. Disamping natrium, litium, magnesium, dan kalium dapat digunakan, akan tetapi hasil terbaik diperoleh dengan menggunakan NaOH sehingga NaOH digunakan pada penelitian ini.

#### 4.6.2. Permukaan respon dan titik optimum

Persamaan kuadratik dapat digunakan untuk memprediksi respon dari berbagai taraf rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi. Persamaan kuadratik yang diperoleh adalah:  $Y = -51.86090 + 7.62190X_1 + 2.55370X_2 + 0.80565X_3 +$



$2.75000 \times 10^{-3} X_1 X_2 + 8.08333 \times 10^{-3} X_1 X_3 - 3.41667 \times 10^{-4} X_2 X_3 - 2.10645 X_1^2 - 0.021471 X_2^2 - 4.31254 \times 10^{-3} X_3^2$  dengan  $X_1 =$  rasio air:tepung (b:b),  $X_2 =$  suhu saponifikasi, dan  $X_3 =$  lama saponifikasi



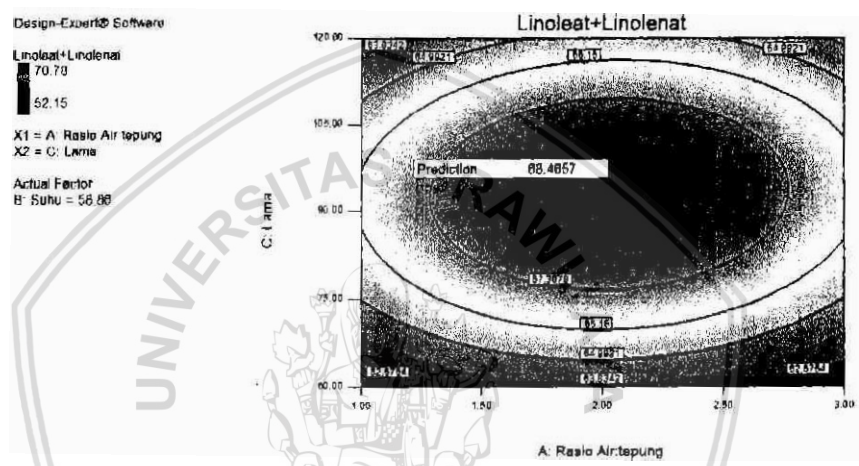
Gambar 4. Grafik respon (A) dan kontur (B) hubungan antara rasio air:tepung kedelai dan suhu saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal

Berhubung pada penelitian ini ada 3 faktor yang dikaji, maka terdapat tiga grafik respon yang menggambarkan hubungan antara rasio air:tepung kedelai, suhu

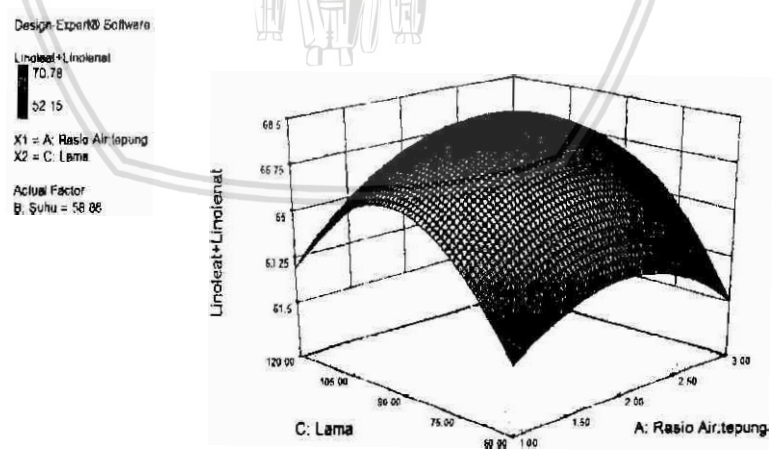


saponifikasi, dan lama saponifikasi. Gambar 4 menunjukkan hubungan antara rasio air:tepung dan suhu ekstraksi. Dari Gambar 4 diketahui bahwa pengaruh rasio air:tepung kedelai dan suhu ekstraksi bersifat kuadratik terhadap respon kadar LA+ALA.

Gambar 5 menunjukkan hubungan antara rasio air:tepung dan lama ekstraksi. Dari Gambar 5 terlihat bahwa pengaruh rasio air:tepung dan lama ekstraksi bersifat kuadratik terhadap respon kadar LA+ALA.



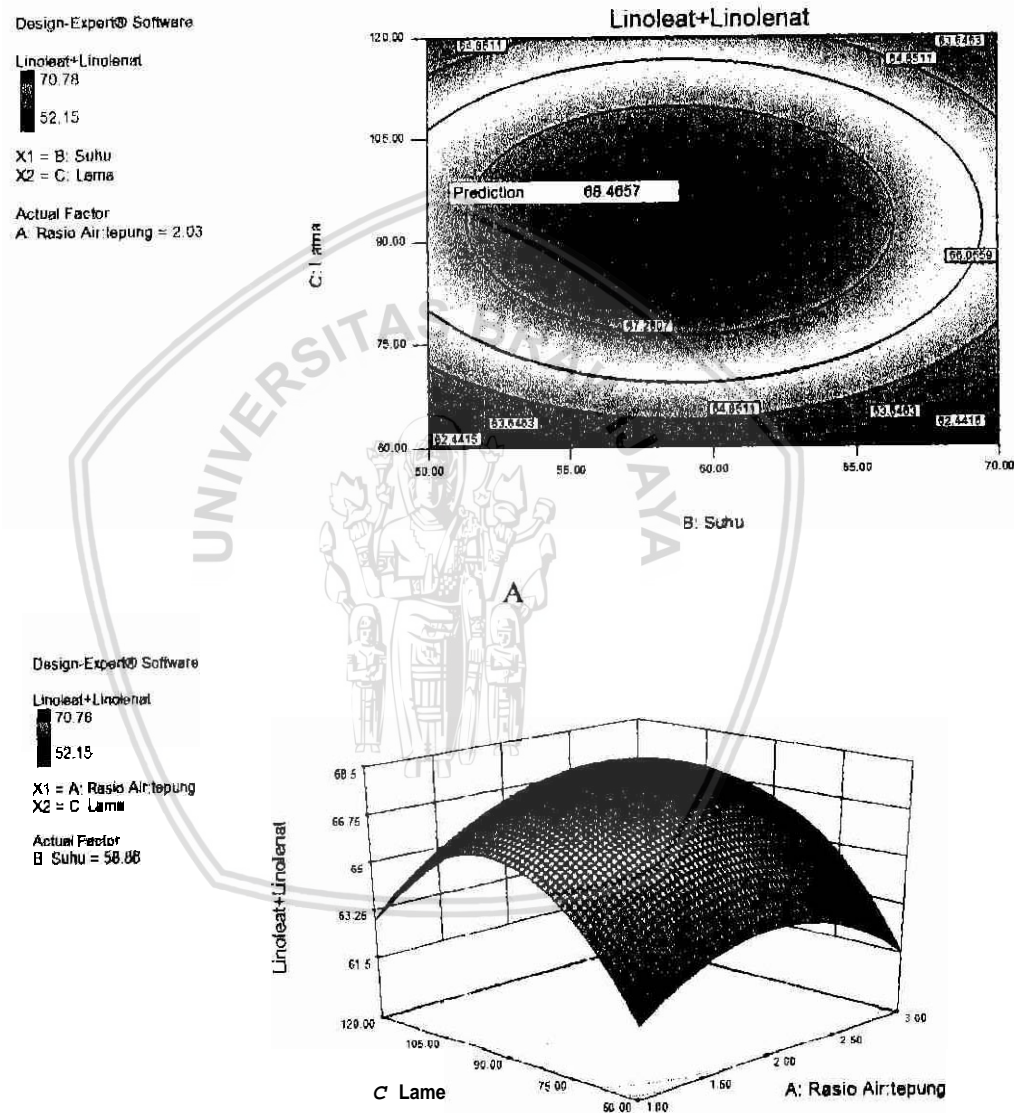
A



B

Gambar 5. Grafik respon (A) dan kontur (B) hubungan antara rasio air:tepung kedelai dan lama saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal

Gambar 6 menunjukkan pengaruh suhu dan lama saponifikasi terhadap kadar LA+ALA dalam minyak kedelai yang dihasilkan. Pengaruh kedua variabel tersebut terhadap respon bersifat kuadratik.



B

Gambar 6. Grafik respon (A) dan kontur (B) hubungan antara suhu dan lama saponifikasi pada saponifikasi-ekstraksi satu tahap kedelai varietas lokal



Pengaruh variabel rasio air:tepung kedelai terhadap respon dapat dilihat dengan mengikuti garis horizontal putus-putus sejajar sumbu X (Gambar 4 dan 5). Respon akan terus meningkat dengan meningkatnya rasio aicteping 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 trogliserida pertama kali dihidrolisis dengan adanya basa sebagai katalis dan air. Hidrolisis menghasilkan asam lemak bebas yang dengan adanya basa NaOH menyebabkan terbentuk sabun. Akibatnya jumlah air yang ada dalam bahan hams cukup untuk memfasilitasi hidrolisis. Akibatnya asam lemak mudah terhidrolisis dari struktur trigliserida dan diekstrak. Asam lemak yang terekstrak termasuk 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 yang ditunjukkan oleh rendemen minyak yang tinggi pada rasio air:tepung kedelai yang tinggi (Tabel 11). Dengan demikian jumlah minyak yang terekstrak banyak sehingga proporsi (kadar) LA+ALA mengalami penurunan. Hal ini dapat dilihat dari Tabel 10, yaitu pada rasio air:tepung kedelai tertinggi (3,682:1) rendemen yang diperoleh adalah yang tertinggi. Pada penelitian ini, rendemen tidak dijadikan respon karena tujuan utamanya adalah mendapatkan kadar PUFA tertinggi. Penelitian sebelumnya (Estiasih, 2006) menunjukkan bahwa kadar EPA+DHA yang terekstrak pada proses pemadatan cepat berbanding terbalik dengan rendemen.

Pengaruh suhu terhadap respon bersifat kuadratik (Gambar 4 dan 6). 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.

Tabel 11. Rendemen minyak pada berbagai kombinasi rasio air:tepung kedelai, suhu, dan lama saponifikasi dalam Rancangan Komposit Pusat

Rasio Air:Tepung Kedelai	Variabel Sebenarnya		Variabel Terkode			Rendemen (%)
	Suhu (°C)	Lama (menit)	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	
1:1	50	60	-1	-1	-1	1.34
1:1	50	120	-1	-1	+1	3.71
1:1	70	60	-1	+1	-1	3.14
1:1	70	120	-1	+1	+1	2.25
3:1	50	60	+1	-1	-1	5.03
3:1	50	120	+1	-1	+1	3.04
3:1	70	60	+1	+1	-1	4.84
3:1	70	120	+1	+1	+1	5.85
2:1	60	90	0	0	0	1.87
2:1	60	90	0	0	0	1.05
2:1	60	90	0	0	0	3.04
2:1	60	90	0	0	0	2.11
2:1	60	90	0	0	0	4.20
2:1	60	90	0	0	0	5.03
0,318:1	60	90	-1,682	0	0	2.38
3,682:1	60	90	+1,682	0	0	13.29
2:1	40,18	90	0	-1,682	0	1.26
2:1	76,83	90	0	+1,682	0	1.79
2:1	60	39,54	0	0	-1,682	2.31
2:1	60	140,46	0	0	+1,682	1.42

Akan tetapi peningkatan suhu lebih lanjut menyebabkan kadar LA+ALA menurun. Hal ini disebabkan 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 5 dan 6 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 dan 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 kuadratik digunakan untuk menentukan bentuk dan kurva permukaan respon, serta letak titik stasioner atau titik optimum (Wanasundara dan Shahidi, 1999). Menurut Mason et al. (1989) (cit 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.

#### 4.6.3. Verifikasi kondisi optimum

Verifikasi kondisi optimum dilakukan dengan melakukan saponifikasi-ekstraksi satu tahap untuk mengekstrak minyak kedelai dalam bentuk asam lemak bebas pada variabel yang dikaji optimum yaitu rasio air:tepung kedelai 2,03:1, suhu saponifikasi 58,86°C, dan lama saponifikasi 92,97 menit. Tujuan verifikasi ini adalah untuk mengetahui ketepatan prediksi menggunakan model persamaan kuadratik yang telah diperoleh. Komposisi asam lemak dalam konsentrat yang dihasilkan pada kondisi saponifikasi-ekstraksi optimum dapat dilihat pada Tabel 12.

Dari Tabel 12 terlihat bahwa saponifikasi dan ekstraksi satu tahap berhasil mendapatkan minyak kedelai dalam bentuk asam lemak bebas dan terjadi peningkatan kadar LA+ALA. Proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap pada kondisi yang tepat dapat meningkatkan kadar LA+ALA dari 60,43 menjadi 68,89%. Peningkatan tersebut terjadi diduga ada preferensi asam lemak untuk laurat dalam pelarut etanol yang digunakan pada proses ekstraksi sabun yang diperoleh dari hasil

saponifikasi. Menurut Guil-Guerrero *et al.* (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.

Tabel 12. Profil 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)	-	
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

Dari Tabel 12 terlihat bahwa asam lemak yang mengalami penurunan jika dibandingkan komposisi asam lemak kedelai dan asam lemak dari minyak yang terekstrak adalah asam palmitat dan asam stearat. 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.

Rendemen minyak yang diperoleh dari proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap adalah 5,2%. Rendemen yang rendah ini diduga disebabkan banyak faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi yang tidak dioptimasi. Pada penelitian ini faktor yang dikaji pada proses optimasi adalah faktor-faktor yang mempengaruhi saponifikasi. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi sabun yang diperoleh dan asam lemak bebas setelah pengasaman sabun belum diteliti.



Proses penting lain yang **berperan** pada proses saponifikasi-ekstraksi **satu** tahap adalah proses ekstraksi sabun dan ekstraksi **asam lemak bebas setelah** proses **pengasaman**. Ekstraksi sabun **dilakukan** dengan **cara menambahkan** etanol dalam kedelai yang sudah disaponifikasi. **Etanol** akan melarutkan fraksi tersabunkan dan fraksi tidak **tersabunkan**. Etanol yang ditambahkan harus cukup **menjamin** bahwa semua sabun dan fraksi tidak tersabunkan terekstrak dan tidak terbawa residu **padat**.

**Langkah** selanjutnya adalah memisahkan **fraksi** tersabunkan dengan fraksi tidak tersabunkan yang **larut** dalam etanol. Pada tahap ini air ditambahkan untuk melarutkan sabun **dan** akan bergabung dengan fase etanol yang sudah **digunakan** sebelumnya. Selanjutnya ditambahkan heksana untuk **melarutkan** fraksi tidak **tersabunkan** yang akan **berada** di bagian atas, **Jumlah** heksana yang ada **harus** cukup untuk memisahkan fraksi tidak **tersabunkan**. Pada penelitian ini **jumlah** heksana yang ditambahkan cukup banyak (100 ml) sehingga diduga **kuat semua fraksi** tidak tersabunkan terekstrak.

Tahap **berikutnya setelah** pemisahan **fraksi** tidak **tersabunkan** adalah **mengubah** sabun dalam **larutan hidroalkoholik** menjadi **asam lemak bebas** dengan **cara pengasaman**. Selanjutnya **asam lemak bebas** yang **terbentuk diekstraksi** dengan heksana. Tahapan ekstraksi ini adalah titik **kritis** pengambilan **asam lemak** yang akan **mempengaruhi rendemen**. Ekstraksi **asam lemak** tidak **dikaji** pada penelitian ini. Dengan demikian, untuk mendapatkan **rendemen** yang optimum perlu **dokaji lebih lanjut** tahapan ekstraksi **setelah** saponifikasi.

Pada penelitian ini, **tahapan** saponifikasi yang dioptimasi dengan **pertimbangan** bahwa pada proses saponifikasi diperlukan suhu tinggi dan lama saponifikasi yang **akan** mempengaruhi kadar LA+ALA. Suhu dan lama saponifikasi yang tepat diperlukan untuk mendapatkan kadar LA+ALA yang tinggi karena jika **berlebihan** akan menyebabkan LA+ALA teroksidasi dan rusak.

**Karakteristik** minyak kedelai yang **diperoleh dari kondisi** saponifikasi-ekstraksi **satu** tahap optimum **dapat** dilihat pada **Tabel 13**. Dari **Tabel 13** terlihat 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.

Tabel 13. 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

Metode saponifikasi-ekstraksi satu tahap yang dilakukan pada penelitian ini adalah modifikasi dari penelitian Guil-Guerrero *et al.* (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 terdapat perbedaan hasil yang diperoleh. Kadar minyak 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 12 terlihat bahwa bilangan anisidin kedelai lebih tinggi dibandingkan bilangan peroksida yang menunjukkan bahwa sebagian produk oksidasi ada dalam bentuk produk oksidasi sekunder.

#### 4.7. Konsentrat Protein dari Hasil Saponifikasi-Ekstraksi Satu Tahap

Konsentrat protein kedelai dibuat dari kondisi saponifikasi-ekstraksi satu tahap optimum yaitu rasio air:tepung kedelai 2,03:1, suhu saponifikasi 58,86°C, dan lama saponifikasi 92,97 menit. Variabel yang dikaji pada proses pembuatan konsentrat

protein adalah proses pencucian yaitu rasio air:etanol, rasio pelarut:residu padat, dan lama pencucian.

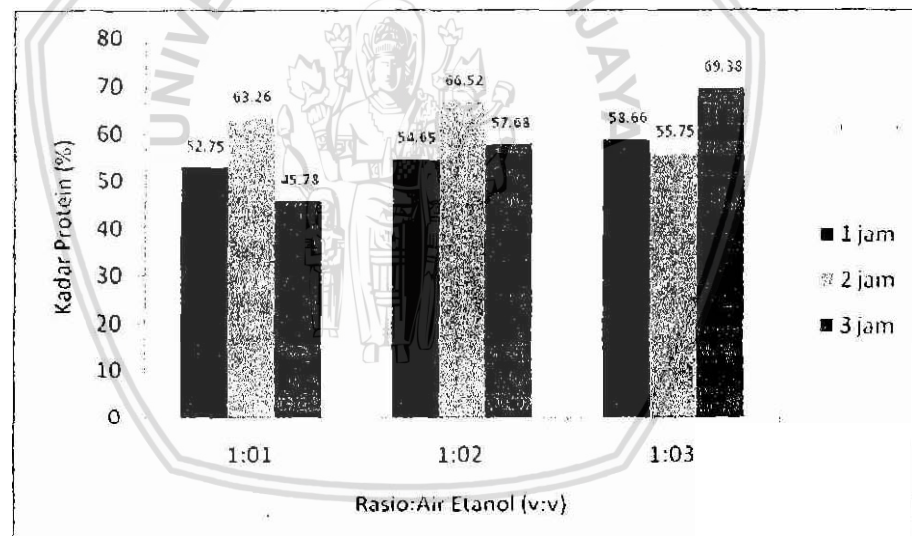
**Prinsip** yang digunakan pada proses **pembuatan** konsentrat protein kedelai adalah residu **padat** dari proses **saponifikasi-ekstraksi satu tahap** merupakan kedelai yang telah dihilangkan lemaknya. **Komponen** yang ada dalam residu **padat** adalah komponen non lemak yang terdiri dari protein, **karbohidrat** (**pati**, gula sederhana), dan mineral. Proses pencucian ditujukan untuk menghilangkan **komponen** non protein dari residu **padat** yaitu gula sederhana dan mineral. Serat dalam kedelai sudah dihilangkan pada saat penyosohan, dan sisa **serat** yang masih ada **kemungkinan** terhidrolisis pada saat saponifikasi. **Demikian** pula untuk **pati**, **pati** ada **kemungkinan** terhidrolisis pada saat **saponifikasi** sehingga **berubah** menjadi gula sederhana. Gula **seederhana** bersifat **larut** dalam **etanol** sehingga diharapkan pencucian dengan **etanol** dapat **melarutkan** gula. Adapun air ditujukan untuk menghilangkan mineral-mineral yang ada dalam **ampas** atau residu **padat**.

Tabel 14. **Kadar** protein konsentrat protein kedelai dari residu **padat** proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap

Rasio Air:Etanol (v/v)	Rasio Pelarut Residu Padat (b/v)	Lama Pencucian (jam)	Kadar Protein (%)
1:1	10:1	1	55.11
		2	47.39
		3	55.75
	8:1	1	50.33
		2	53.28
		3	60.34
	6:1	1	46.63
		2	75.91
		3	60.69
1:2	10:1	1	64.90
		2	66.59
		3	58.29
	8:1	1	60.88
		2	76.52
		3	62.15
	6:1	1	58.58
		2	58.15
		3	50.51
1:3	10:1	1	35.20
		2	51.49
		3	50.65
	8:1	1	55.74
		2	61.18
		3	56.13
	6:1	1	72.68
		2	64.99
		3	70.46

Data hasil analisis protein terhadap konsentrat protein yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 14. Kadar protein tepung kedelai varietas Burangrang adalah 32,14%. Konsentrat protein kedelai yang dibuat dari residu padat hasil saponifikasi dan ekstraksi satu tahap mempunyai kadar protein antara 35,86-76,52%. Peningkatan kadar protein bergantung pada rasio air:etanol, rasio pelarut:residu padat, dan lama pencucian. Tujuan penelitian ini adalah menentukan ketiga faktor yang menghasilkan kadar protein dalam konsentrat tertinggi. Menurut Mune *et al.* (2008), faktor yang mempengaruhi kemampuan protein untuk diekstrak pada proses pembuatan konsentrat protein adalah lama ekstraksi, ukuran partikel, dan rasio pelarut:padatan.

Pengaruh lama pencucian dan rasio air etanol terhadap kadar protein konsentrat protein kedelai dapat dilihat pada Gambar 7. Kadar protein terendah diperoleh pada lama pencucian 1 jam dan rasio air:etanol 1:3.



Gambar 7. Pengaruh lama pencucian dan rasio air:etanol yang digunakan pada proses pencucian terhadap kadar protein konsentrat protein kedelai

Semakin lama proses pencucian ada kecenderungan kadar protein semakin meningkat sampai lama pencucian 2 jam, kemudian menurun dengan meningkatnya lama pencucian lebih lanjut. Pengecualian terjadi pada rasio air:etanol, kadar protein cenderung terus meningkat dengan bertambahnya lama pencucian. Menurut de Moura *et al.* (2009), penggunaan air sebagai pengekstrak untuk memisahkan minyak

dan komponen non minyak dalam biji kedelai telah banyak dilakukan. Prinsipnya berdasarkan ketidaklarutan minyak dalam air. Karki *et al* (2009) melakukan pembuatan konsentrat protein kedelai dengan menggunakan ultrasonikasi. Pada proses ultrasonikasi, kedelai yang telah dihilangkan lemaknya dilarutkan dalam air dengan rasio air:padatan 10:1 kemudian diberi gelombang ultrasonik. Tujuannya adalah mengekstrak komponen non protein dari padatan sehingga residu padatan setelah diekstrak mengandung protein dalam kadar tinggi. Prinsip yang digunakan Karki *et al* (2009) digunakan pada penelitian ini, yaitu penghilangan komponen non protein dengan cara pencucian tepung kedelai tanpa lemak menggunakan air dengan dibantu gelombang ultrasonik.

Komposisi cairan pengekstrak yaitu air-etanol mempengaruhi kadar protein dalam konsentrat protein kedelai. Kadar protein tertinggi diperoleh pada rasio air:etanol 1:3. Pencucian ditujukan terutama untuk menghilangkan komponen non protein yang larut dalam air dan etanol. Pada proses pencucian ini, gula-gula dan mineral akan larut. Ada sebagian protein yang bersifat larut dalam air dan etanol akan ikut larut pula. Pada rasio air:etanol 1:3, sebagian besar komponen non portien terutama gula akan larut.

Peningkatan etanol lebih lanjut ada kemungkinan menyebabkan protein larut etanol ikut larut sehingga kadar protein menurun. Penggunaan air harus secukupnya untuk melarutkan komponen non protein dan mencegah pelarutan protein larut air, demikian pula dengan etanol. Oleh karena itu, faktor penting yang mempengaruhi kadar protein dalam konsentrat adalah lama pencucian.

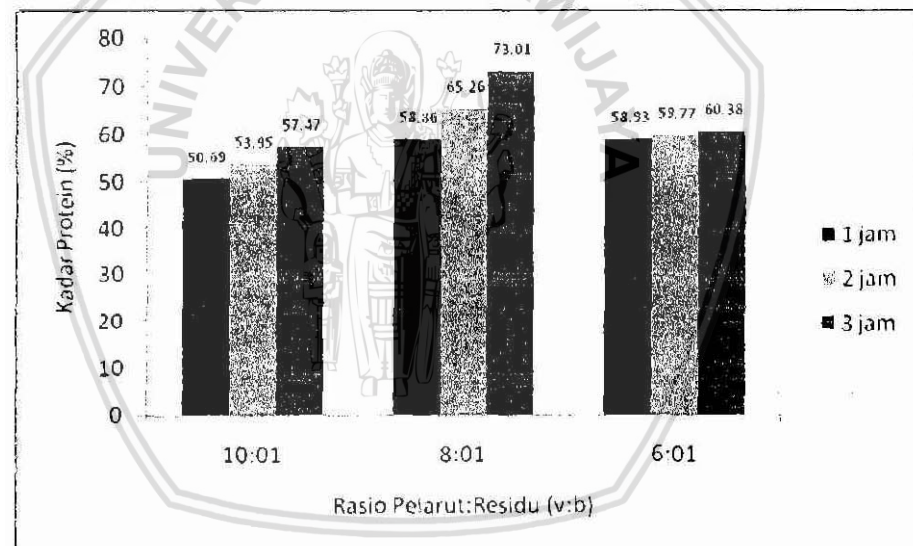
Pada proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap digunakan NaOH dalam konsentrasi tinggi untuk menyabunkan lemak. Adanya NaOH dapat mengakibatkan kelarutan protein meningkat. Oleh karena itu rasio air:etanol yang tepat diperlukan. Pada penelitian ini rasio air:etanol 1:3 menghasilkan kadar protein tertinggi dengan lama pencucian 3 jam. Ada dugaan, pencucian yang terlalu lama mengakibatkan pelarutan protein pada rasio air:etanol 1:1 dan 1:2 sehingga kadarnya mengalami penurunan.

Pandjaitan *et al.* (2000) meneliti pengaruh 3 metode preparasi konsentrat protein kedelai terhadap kadar genistin dan genistein. Metode yang diuji adalah pelarutan etanol, pelarutan air panas, dan pengaturan pH. Pelarutan etanol dilakukan



pada rasio tepung kedelai rendah lemak:etanol 60% 1:10 dan pelarutan dilakukan selama 1 jam. Residu yang diperoleh adalah konsentrat protein dengan kadar protein 67,2%. Pelarutan dengan air panas dilakukan pada rasio tepung kedelai tanpa lemak:air 1:10 kemudian dilakukan pemanasan selama 1 jam. Protein yang menggumpalkan kemudian dipisahkan dari cairan. Kadar protein dari metode ini adalah 70,9%.

Gambar 8 terlihat bahwa kadar protein konsentrat protein kedelai dipengaruhi oleh lama pencucian dan rasio pelarut:residu padat. Kadar protein terendah terdapat pada perlakuan rasio pelarut:residu padat 10:1 dengan lama pencucian 1 jam, dan tertinggi diperoleh pada rasio pelarut:residu 8:1 dengan lama pencucian 3 jam. Ada kecenderungan semakin lama pencucian untuk semua rasio pelarut:residu kadar protein konsentrat semakin meningkat.

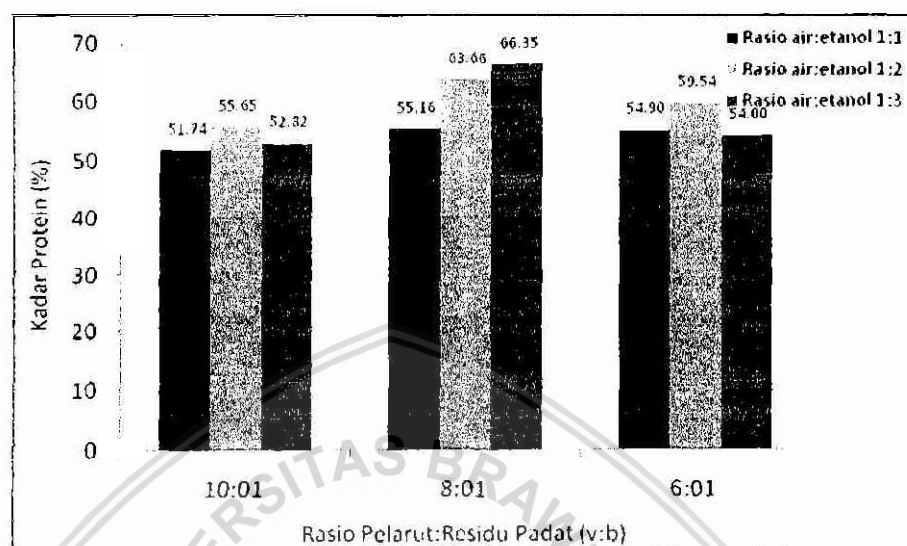


Gambar 8. Pengaruh lama pencucian dan rasio pelarut:residu padat terhadap kadar protein konsentrat protein kedelai

Peningkatan lama pencucian menyebabkan kadar protein meningkat. Hal ini disebabkan pada kondisi pelarut hidroalkoholik berlebihan, peningkatan lama pencucian menyebabkan semakin banyak komponen non protein yang larut dalam pelarut. Akibatnya kadar protein meningkat. Kadar protein tertinggi diperoleh pada lama pencucian 3 jam. Pandjaitan *et al.* (2000) menggunakan lama ekstraksi 1 jam



pada proses pembuatan konsentrat protein kedelai dengan metode pelarutan etanol dan air panas.



Gambar 9. Pengaruh rasio pelarut:residu padat dan rasio air:etanol terhadap kadar protein konsentrat protein kedelai

Gambar 9 menunjukkan bahwa rasio air:etanol 1:2 menghasilkan kadar protein tertinggi untuk rasio pelarut:residu padat 10:1 dan 6:1. Akan tetapi untuk rasio pelarut:residu padat 8:1, kadar protein tertinggi diperoleh pada rasio air:etanol 1:3. Rasio air:etanol 1:3 merupakan rasio yang tepat untuk proses pencucian residu padat dalam menghilangkan komponen non protein. Etanol berfungsi menghilangkan komponen non protein terutama gula. Diduga kelarutan protein kedelai dalam air lebih tinggi dibandingkan dalam etanol. Hal ini ditunjukkan oleh hasil penelitian Pandjaitan *et al.* (2000) yang menunjukkan bahwa kadar protein dari konsentrat protein yang dibuat dengan pencucian etanol lebih rendah dibandingkan metode pencucian air panas.

## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kedelai varietas lokasi Burangrang, Anjasmoro, Kaba, Wilis, dan Panderman mempunyai kadar asam lemak yang berbeda dengan profil asam lemak yang berbeda pula. Asam linoleat merupakan asam lemak paling dominan. Kadar total 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 dan pembuatan konsentrat protein kedelai.

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 kuadrat dengan persamaan polinomial yang diperoleh  $Y = -51.86090 + 7.62190X_1 + 2.55370X_2 + 0.80565X_3 + 2.75000 \times 10^{-3}X_1X_2 + 8.08333 \times 10^{-3}X_1X_3 - 3.41667 \times 10^{-4}X_2X_3 - 2.10645X_1^2 - 0.021471X_2^2 - 4.31254 \times 10^{-3}X_3^2$  dengan  $X_1 =$  rasio air:tepung (b:b),  $X_2 =$  suhu saponifikasi, dan  $X_3 =$  lama saponifikasi. 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 komposisi asam lemak kadar LA+ALA yang diperoleh 68,89%. Rendemen minyak dalam bentuk asam lemak bebas yang diperoleh adalah 5,2%. Rendahnya rendemen diduga disebabkan kondisi ekstraksi belum optimum, karena pada penelitian ini kondisi yang dioptimasi terutama adalah pada proses saponifikasi untuk mendapatkan kadar LA+ALA tertinggi. Rendemen diduga kuat dipengaruhi oleh kondisi ekstraksi bukan saponifikasi, akan tetapi kadar LA+ALA sangat dipengaruhi oleh kondisi saponifikasi.

Residu padat yang diperoleh dari hasil samping saponifikasi-ekstraksi satu tahap dibuat konsentrat melalui proses pencucian dengan pelarut hidroalkoholik (campuran air dan etanol). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rasio air:etanol, rasio pelarut:residu padat, dan lama pencucian mempengaruhi kadar protein kadar

protein dalam konsentrat yang dihasilkan. Semakin lama proses pencucian, kadar protein konsentrat protein kedelai semakin meningkat. Pada kondisi pelarut berlebihan semakin banyak komponen protein yang larut dalam pelarut hidroalkoholik yang digunakan sehingga kadar protein menurun. Rasio air:etanol yang terbaik dalam menghasilkan kadar protein tinggi dalam konsentrat adalah 1:3. Pada rasio 1:3, komponen non protein yang larut etanol ikut larut sehingga kadar protein meningkat. Rasio pelarut:residu padat terbaik adalah 8:1 karena jika rasio terlalu rendah, pelarutan komponen non protein belum sempurna, sebaliknya jika terlalu tinggi mengakibatkan protein ikut larut. Kadar protein tertinggi adalah 76,52%. Perlakuan terbaik diperoleh pada lama rasio air:etanol 1:3, rasio pelarut:residu padat 1:8, dan lama pencucian 3 jam.

## 5.2. Saran

Perlu dikaji lebih lanjut kondisi ekstraksi terbaik setelah proses saponifikasi untuk mendapatkan rendemen minyak kedelai dalam bentuk asam lemak yang tinggi. Demikian pula, minyak yang telah diperoleh perlu dilanjutkan dibuat konsentrat asam lemak melalui teknik pembautan konsentrat yang telah diaplikasikan pada minyak ikan yaitu pemadatan cepat, kristalisasi urea, dan kristalisasi pelarut suhu rendah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abedin, L., E.L. Lien, A.J. Vingrys, and A.J. Sinclair. 1999. The effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid compared with docosahexaenoic acid on brain, retina, liver, and heart in the Guinea pig. *Lipids* 34: 475-482.
- Ackman, R.G., W.M.N. Ratnayake, and B. Olsson. 1988. The "basic": fatty acid composition of Atlantic fish oils; potential similarities useful for enrichment of polyunsaturated fatty acids by urea complexation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65(1): 136-138.
- Ahmadi, K. 2006. Optimasi kristalisasi pelarut suhu rendah pada pembuatan minyak kaya asam lemak  $\omega$ -3 dari hasil samping pengalengan ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). *Agritek*, 14(3): 580-593.
- 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>. Tanggal publikasi 16 Januari 2008 pukul 08:06.
- Anonim. 2008b. Kedelai lokal lebih baik daripada kedelai impor. *Kompas*, Kamis, 17 Januari 2008.
- Anonymous. 2008. ALA and dryeye syndrome. *INFORM* March 19(3).
- Berdeaux, O, L. Voinot, E. Angioni, P. Juantda, and S.L. Sébédio. 1998. A simple method of preparation of methyl *trans*-10,*cis*-12- and *cis*-9,*trans*-11-octadecadienoates from methyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75:1749-1755
- Bimbo, A.P. 1998. Guidelines for characterizing food-grade fish oil. *INFORM*, 9(5): 473-483.
- Chabrand, R.M., H-J Kim, C. Zhang, C.E. Glatz, S. Jung. 2007. Destabilization the emulsion formed during aqueous extraction of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85: 383-390.
- Chan, J.K., V.M. Bruce, and B.E. McDonald. 1991. Dietary  $\alpha$ -linolenic acid is as effective as oleic acid and linoleic acid in lowering blood cholesterol in normolipidemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 1230-1234.
- Chanmugan, P.S., M.D. Boudreau, and D.H. Hwang. 1991. Dietary (n-3) fatty acids alter fatty acid composition and prostaglandin synthesis in rat testis. *J. Nutrition* 121: 1173-1178

- Chen, T.C. and Y-H. Ju. 2001. Polyunsaturated fatty acids concentrates from borage and linseed oil fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **78(5)**: 485-488.
- de Moura, J. M. L. N., N. M. de Almeida, and L. A. Johnson. 2009. Scale-up of The Enzyme Assisted Aqueous Extraction Processing of Soybean. *JAOCS* **86**: 809-815.
- Djousse, L, J.S. Pankow, and H.J. Eckfeldt. 2001. Relation between dietary linolenic acid and coronary artery disease in the National Heart, Lung, Blood Institute Family Heart Study. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**: 612-619.
- Estiasih, T., K. Ahmadi, dan F.C. Nisa. 2006a. Optimasi pemadatan cepat pada pengayaan minyak ikan hasil samping pengalengan lemuru dengan asam lemak  $\omega$ -3 menggunakan metode permukaan respon. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan XVI(3)*: 222-229.
- Estiasih, T., K. Ahmadi, dan F.C. Nisa. 2006b. Optimasi pemadatan cepat pada pembuatan minyak kaya asam lemak 0-3 dari minyak hasil samping penepungan ikan lemuru. *Agritek* **14(3)**: 681-694.
- Estiasih, T. 2007. Karakteristik konsentrat asam lemak 0-3 dari hasil samping pengalengan ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). *Agritek* **15(4)**: 974-980.
- Ferrier, L.K. L.J. Custom, S. Leeson, J. Squires, B.J. Weaver, and B.J. Holub. 1995. Alfa linolenic acid and docosahexaenoic acid enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *J. Am. Clin. Nutr.* **62**: 81-86.
- Gasperz, V. 1995. Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan 2. Penerbit Tarsito, Bandung.
- Goyens, P.L.L. and R.P. Mensink. 2005. The dietary a linolenic acid to linoleic acid ratio does not affect the serum lipoprotein profile in human. *J. Nutrition* **135**: 2799-2804.
- Goyens, P.L.L., M.E. Spilker, P.L. Zock, M.B. Katan, and R.P. Mensink. 2006. Conversion of a linolenic acid in human is influenced by the absolute of amounts of a linolenic acid and linoleic acid in diet hut not by their ratio. *Am. J. Clin. Nutr.* **84**: 44-53.
- Griffith, G. and N. Morse. 2006. Clinical applications of C18 and C20 chain length polyunsaturated fatty acids and their biotechnological production in plants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **83( 3)**: 171-185.
- Guil-Guerrero, J.L. and E-H. Belarbi. 2001. Purification process for cod liver oil polyunsaturated fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **78(5)**: 472-484.



- Guil-Guerrero, J.L., J.C. Lopez-Martinez, M.A. Rincon-Cervera, and P. Campra-Madrid. 2007. One-step extraction and concentration of polyunsaturated fatty acids from fish liver. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 357-361.
- Guzman, D.D. 2007. Omega-3 coming to a bean near you. *ICIS Chemical Business Americas* Mar 19-Mar 25, 271 : 11.
- Haagsma, N., C.M. van Gent, J.B. Luten, R.W. de Jong, and E. van Doom. 1982. Preparation of an n-3 fatty acids concentrate from cod liver oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59(3): 117-118.
- Haas, M.J., K.M. Scott, T.A. Foglia, and F.N. Marmer. 2007. The general applicability of in situ transesterification for the production of fatty acid ethyl esters from a variety of feedstocks. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 963-970.
- Harris, W.S. 1997. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 65(suppl.): 1645s-54s.
- Hayes, D.G., S.M. van Alstine, and F. Setterwall. 2000. Urea-based fractionation of seed oil samples containing fatty acids and acylglycerols of polyunsaturated and hydroxy fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77(2): 207-213
- Hayes, D.G. 2002. Urea inclusion compound formation. *INFORM*, 13: 781-783.
- Hwang, L.S. and J-H. Liang. 2001. Fractionation of urea-pretreated squid visceral oil ethyl esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78(5): 473-476.
- IUPAC. 1979. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats, and Derivatives. 6<sup>th</sup> ed. Pergamon Press, British.
- Karki, B., B.P. Lamsal, D. Grewell, A.L.P. III, J. van Leuwen, S.K. Khanal, and S. Jung. 2009. Functional properties of SPI produced from ultrasonicated defatted soybean. *JAOC* 86: 1021-1028.
- Kim, O.S. 2005. Radical scavenging capacity and antioxidant activity of the E vitamers fraction in rice bran. *J. Food Sci.* 70(3): 208-213.
- Kucuk, O., B.W. Hess, and D.C. Rule. 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 fed lamb. *Journal of Animal* 82(10): 2985.
- L'abbe, M.R., K.D. Trick, and J.L. Beare-Rogers. 1991. Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver, and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J. Nutrition* 121: 1331-1340.

- Lee, H., Kizito, S.A., Weeseem S.J., Craig-Schmidt, M.C., Lee, Y, Wei, C.I., and H.An. 2003. Analysis of headspace volatile and oxidized volatile compounds in DHA-enriched fish oil on accelerated oxidative storage. *J. Food Sci.* **68(7)**: 2169-2177.
- Levant, B., M.K. Ozias, and S.E. Carlson. 2007. Specific brain region of female rats are differentially depleted of docosahexaenoic acid by reproductive activity and an (n-3) fatty acid-deficient diet. *J. Nutrition* 137: 130-134.
- Mabaleha, M.B., Y.C. Mitei, and S.O. Yeboah. 2007. A comparative study of the properties of selected melon seed oils as potential candidates for development into commercial edible vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 31-36.
- Moffat, C.F., McGill, A.S., Hardy, R., and R.S. Anderson. 1993. The production of fish oils enriched in polyunsaturated fatty acid-containing triglycerides. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **70(2)**: 133-138.
- Montgomery, D.C. 2001. Design and Analysis of Experiments. 5<sup>th</sup> edition. John Wiley & Sons, Singapore.
- Mune, M.A.M., S.R. Minka, and I.L. Mbome. 2008. Response surface methodology for optimization of protein concentrate preparation from cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Food Chemistry* 110: 735-741.
- Neven, L. 1996. Isoflavones—an overview of benefits for health and market. SoyLife Nederland BV Burgstraat 12 4283 GG Giessen, The Netherlands Aro-food-Industry Hi-Tech-November/December.
- Ozias, M.K., S.E. Carlson, and B. Levant. 2007. Maternal parity and diet (n-3) polyunsaturated fatty acid concentration influenced accretion of brain phospholipid docosahexaenoic acid in developing rats. *J. Nutrition.* 137: 125-129.
- Pandjaitan, N., N. Hettiarachchy, Z.Y. Ju, P. Crandall, C. Sneller, and D. Dombek. 2000. Evaluation of genistin and genistein contents in soybean varieties and soy protein concentrate prepared with 3 basic methods. *J. of Food Science* **65(3)**: 399-407.
- Park, P.W. and R.E. Goins. 1994. In situ preparation of fatty acids methyl ester for analysis of fatty acids composition in foods. *J. Food Sci.* **59**: 1262-1266.
- Patil, A., S.P. Taware, M.D. Oak, S.A. Tamhankar, and V.S. Rao. 2007. Improvement of oil quality in soybean (*Glycine max* (L) Merrill) by mutation breeding. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 1117-1124.
- Sanibal, E.A.A. and J. Mancini-Filho. 2004. Frying oil and fat quality measured by chemical, physical, and test kit analyses. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **81**: 847-852.

- Simopoulos, A.P. 1989. Summary of the NATO advanced research workshop on dietary n-3 and n-6 fatty acids: biological effects and **nutritional** essentiality. *J. Nutrition* 119: 521-528.
- Simopoulos, A.P. 1999. New products from the agri-food industry: the return of  $\omega$ -3 fatty acids into the food supply. *Lipids* 34: S297-S301.
- Sinclair, J. 1993. The nutritional **significance** of omega-3 polyunsaturated fatty acids for human. *ASEAN Food Journal* 8(1): 3-13.
- Singh, P., R. Kumar, S. N. Sabapathy, and A. S. Bawa.** 2008. Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety* 7: 14-28.
- Slaon, A.E.** 2000. The top ten functional trends. *Food Technol* 54(4):33-62.
- Spector, A.A.** 1999. Essentiality of fatty acids. *Lipids* 34: S1-S3.
- Sridhar, R. and G. Lakshminarayana.** 1992. Incorporation of eicosapentaenoic and **docosahexaenoic** acid into **groundnut** oil by **lipase-catalyzed** ester interchange. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69(10): 1041-1042.
- Takatoshi, M. **A. Nagasawa, J. Suzuki, T. Wakisaka, T. Hase, and I. Tokimitsu.** 2002. Dietary a linolenic acid-rich diacylglycerols reduce body weight gain accompanying the stimulation of intestinal  $\beta$  oxidation and related gene expression in **C57BL/KsJ-db/db-mice**. *J. Nutrition.* 132: 3018-3022.
- Tatum and C.K Chow.** 2000. *Fat in Food and Their Health Implication* 2<sup>nd</sup> Edition. **Marcell Dekker Inc.** New York
- Vos, E. and S.C. Cunnane. 2003. **A linolenic** acid, **linoleic** acid, coronary artery disease, and overall mortality. *Letters to the Editor. Am. J. Clin. Nutr.* 77: 521-523.
- Wanasundara, U.N. and F. Shahidi. 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., M. **Zhao, S. Ou, and K. Song.** 2009. Partial hydrolysis of soybean oil by phospholipase **A1** to produce diacylglycerol-enriched oil. *Journal of Food Lipids* 16 113-132.
- Watanabe, Y., T. **Nagao, Y. Nishida, Y. Takagi, and Y. Shimada.** 2007. Enzymatic production of fatty acid methyl ester by hydrolysis of acid oil followed by **esterification**. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 1015-1021.

Wu, M., Ding, H., S. Wang, and S. Xu. 2008. Optimizing conditions for the purification of linoleic acid from sunflower oil by urea complex fractionation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85:677–684.

Yamane, T., T. Suzuki, Sahashi, L. Vikersveen, and T. Hoshino. 1992. Production of n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched fish oil by lipase-catalyzed acydolysis without solvent. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69(11): 1104-1107.





LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Penelitian

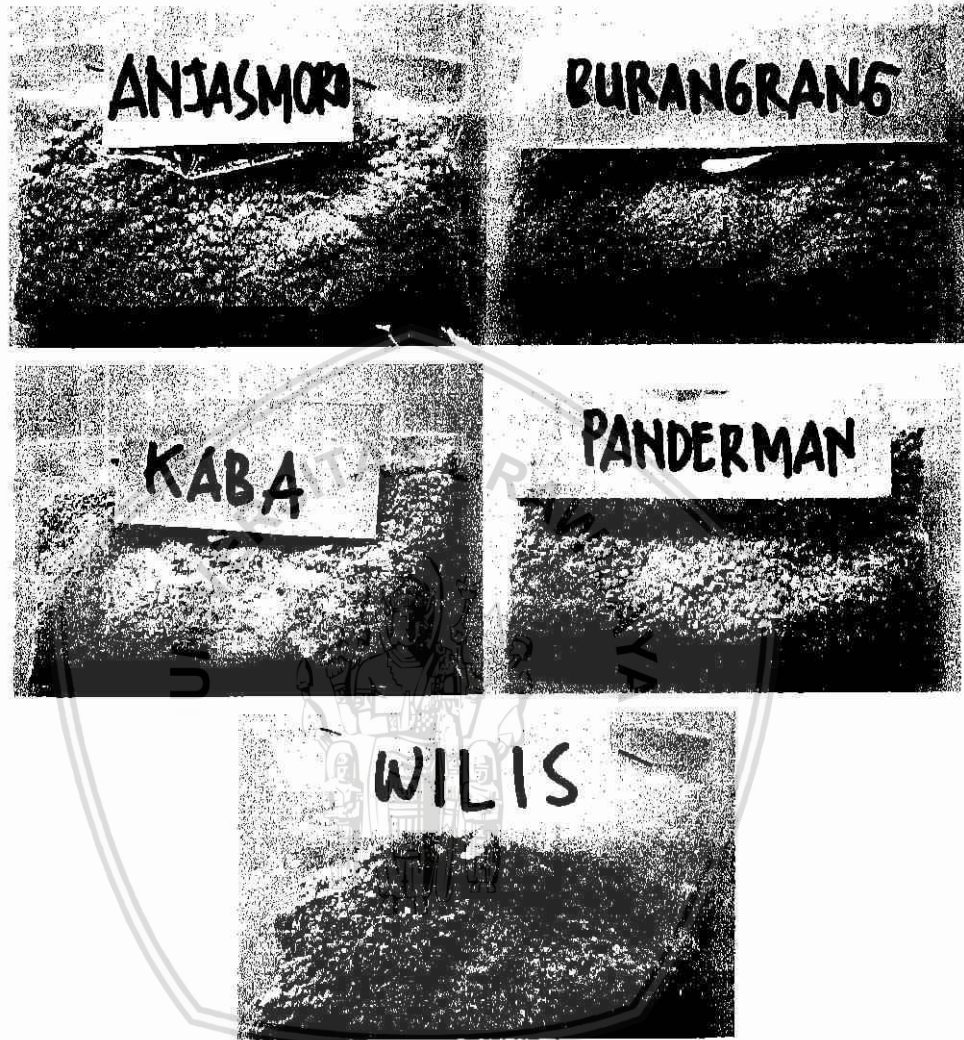
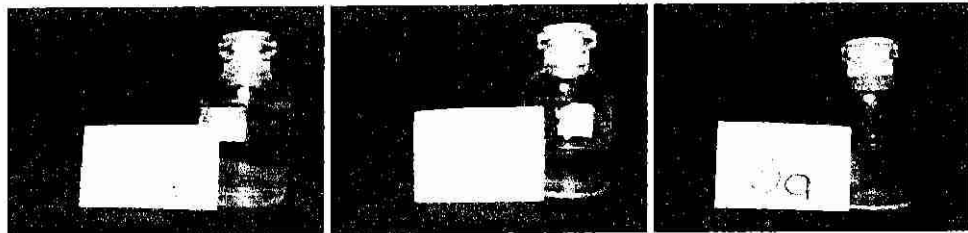


Foto 1. Berbagai tepung kedelai varietas lokal





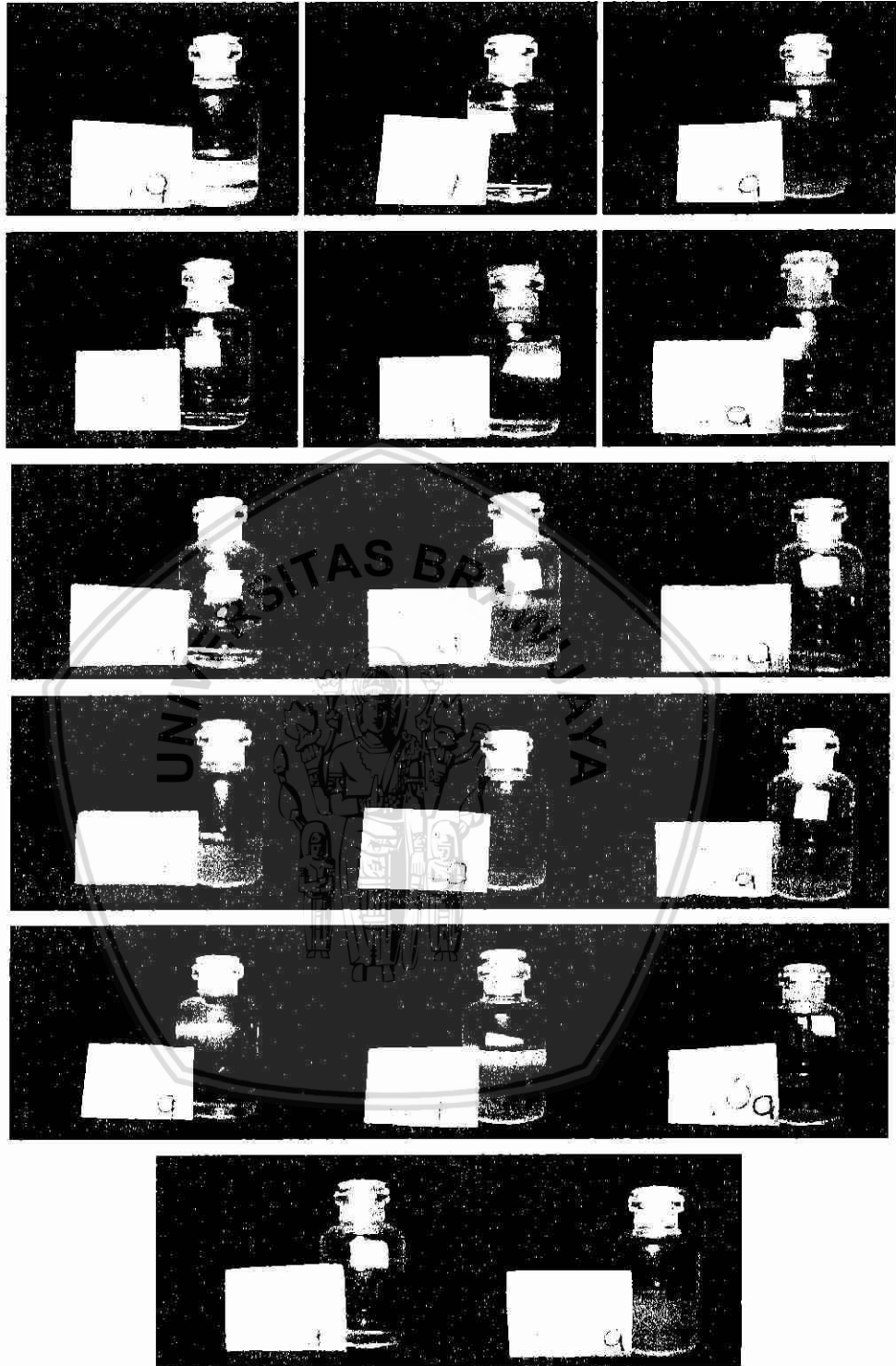


Foto 2. Minyak kedelai hasil saponifikasi-ekstraksi satu tahap pada berbagai kombinasi perlakuan sesuai Rancangan Komposit Pusat

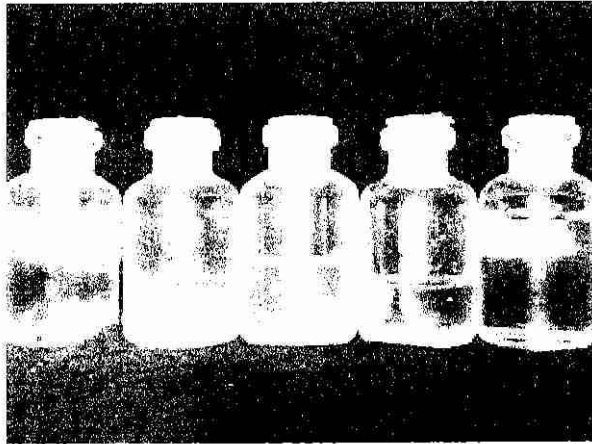


Foto 3. Minyak kedelai hasil saponifikasi-ekstraksi satu tahap

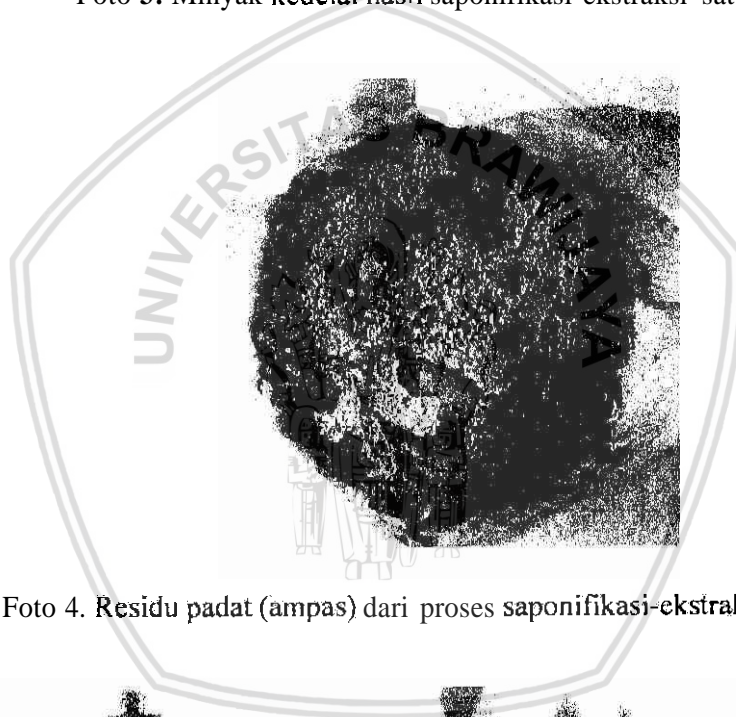


Foto 4. Residu padat (ampas) dari proses saponifikasi-ekstraksi satu tahap



Foto 5. Saponifikasi dan evaporasi

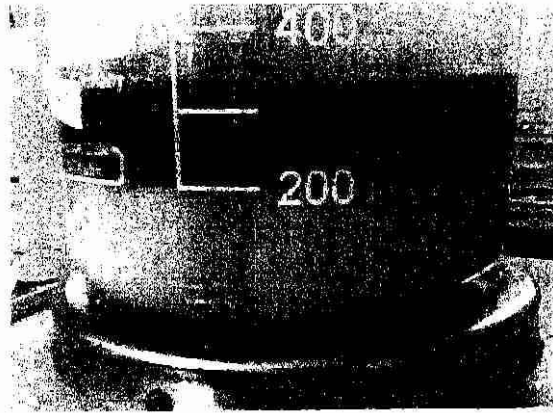
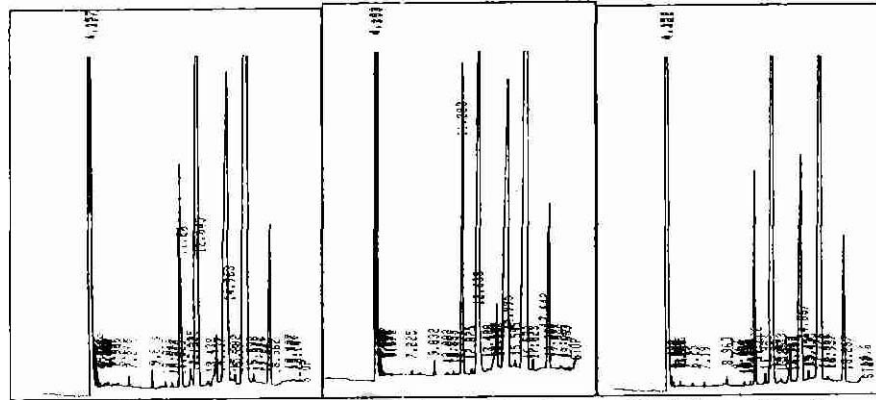


Foto 6. Proses pencucian dengan larutan hidroalkoholik



Foto 7. Konsentrat protein kedelai

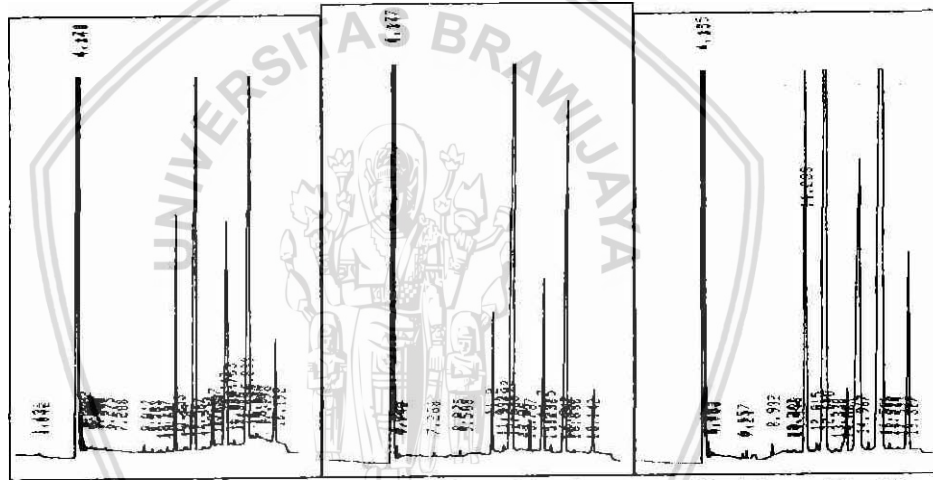
### Lampiran 2. Kromatogram Asam Lemak



Perlakuan No. 1

Perlakuan No. 2

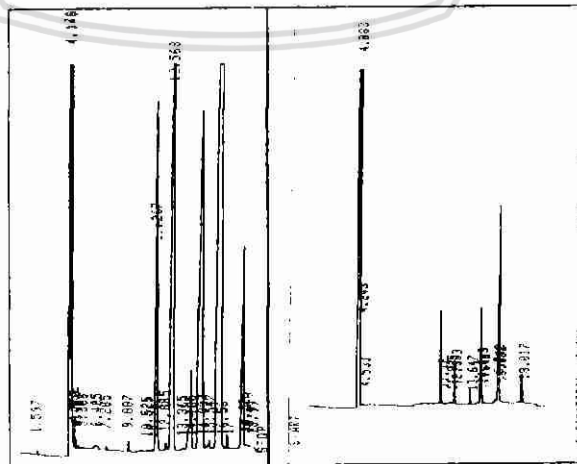
Perlakuan No. 3



Perlakuan No. 4

Perlakuan No. 5

Perlakuan No. 12



Perlakuan No. 15

Perlakuan No. 16









## Lampiran 3. Data Analisis Profil Asam Lemak dengan Kromatografi Gas

No. 1

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0		-		169	0.27	0.57
C16:0	17	0.07	0.76	6633	10.66	22.47
C17:0	1808			20668		70.00
C18:0	6924	27.70	307.65	1131	1.82	3.83
C18:1	2364	9.46	105.04	12038	19.35	40.77
C18:2	13481	53.92	599.00	36042	57.93	122.07
C18:3	2214	8.86	98.37	6203	9.97	21.01
LA+ALA		62.78	697.37		67.90	143.08
Berat sampel (mg)	155.6			180		
Berat asam margarat (mg)	12.5			12.6		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	25000			62216		

No. 2

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	206	0.28	1.85	144	0.40	0.45
C16:0	8355	11.34	75.00	4021	11.22	12.61
C17:0	18617	25.27		18212	50.83	
C18:0	2400	3.26	21.54	991	2.77	3.11
C18:1	17178	23.31	154.20	8416	23.49	26.40
C18:2	40341	54.75	362.11	19751	55.13	61.96
C18:3	5201	7.06	46.69	2506	6.99	7.86
LA+ALA		61.81	408.80		62.12	69.82
Berat sampel (mg)	74.8			260.8		
Berat asam margarat (mg)	12.5			14.9		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	73681			35829		

No. 3

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0		-	-	178	0.34	0.61
C16:0	3190	7.57	14.26	5738	10.98	19.73
C17:0	20903	49.58		22108	42.31	76.03
C18:0	107	0.25	0.48	1104	2.11	3.80
C18:1	9264	21.97	41.40	10498	20.09	36.10
C18:2	25733	61.03	115.01	30258	57.91	104.06
C18:3	3870	9.18	17.30	4472	8.56	15.38
LA+ALA		70.21	132.31		66.47	119.44
Berat sampel (mg)	133.8			181.5		
Berat asam margarat (mg)	12.5			13.8		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	42164			52248		

No.4

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0		-	-	166	0.41	0.54
C16:0	3152	12.74	12.24	4581	11.20	14.85
C17:0	11228	45.37		5838	14.27	18.92
C18:0	272	1.10	1.06	1172	2.86	3.80
C18:1	5870	23.72	22.79	9787	23.92	31.73
C18:2	13628	55.07	52.90	22426	54.81	72.70
C18:3	1825	7.37	7.08	2785	6.81	9.03
LA+ALA		62.44	59.98		61.61	81.73
Berat sampel (mg)	286.8			180		
Berat asam margarat (mg)	12.5			12.9		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	24747			40917		

No. 5

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0		-	-	111	0.17	0.64
C16:0	1789	13.12	8.15	7302	11.02	42.23
C17:0	16315	119.68	74.32	10065		
C18:0	437	3.21	1.99	1816	2.74	10.50
C18:1	3129	22.95	14.25	15921	24.03	92.07
C18:2	7386	54.18	33.64	36127	54.54	208.91
C18:3	891	6.54	4.06	4967	7.50	28.72
LA+ALA		60.72	37.70		62.03	237.64
Berat sampel (mg)	168.2			256		
Berat asam margarat (mg)	12.5			14.9		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	13632					

No. 6

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	184	0.13	2.22	168	0.14	0.50
C16:0	14568	10.43	175.90	12912	11.14	38.22
C17:0	9081			20428		
C18:0	3730	2.67	45.04	3204	2.77	9.48
C18:1	33354	23.89	402.74	27351	23.60	80.97
C18:2	78071	55.91	942.67	64100	55.32	189.76
C18:3	9719	6.96	117.35	8138	7.02	24.09
LA+ALA		62.88	1,060.03		62.34	213.85
Berat sampel (mg)	114			206.7		
Berat asam margarat (mg)	12.5			12.5		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	139626			115873		



**No.7**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	122	0.17	0.98	-	-	-
C16:0	7767	10.63	62.39	1069	12.59	33.30
C17:0	13650			2062		
C18:0	2073	2.84	16.65	261	3.07	8.13
C18:1	17921	24.54	143.96	1921	22.63	59.84
C18:2	40145	54.97	322.48	4685	55.19	145.94
C18:3	5009	6.86	40.24	553	6.51	17.23
LA+ALA		61.82	362.72		61.70	163.17
Berat sampel (mg)	114			227.3		
Berat asam margarat (mg)	12.5			14.6		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	73037			8489		

**No. 8**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	142	0.08	0.80	108	0.12	0.80
C16:0	18113	10.76	102.46	9630	11.03	71.46
C17:0	18727			7860		
C18:0	150	0.09	0.85	2626	3.01	19.49
C18:1	45947	27.30	259.91	20904	23.94	155.11
C18:2	91819	54.56	519.39	47572	54.47	353.00
C18:3	12117	7.20	68.54	6490	7.43	48.16
LA+ALA		61.76	587.93		61.91	401.16
Berat sampel (mg)	118			176.6		
Berat asam margarat (mg)	12.5			10.3		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	168288			87330		

**No. 9**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	156	0.18	0.88	253	1.51	3.48
C16:0	9431	10.85	53.35	2241	13.37	30.85
C17:0	12972			4945		
C18:0	2531	2.91	14.32	399	2.38	5.49
C18:1	20903	24.06	118.24	3325	19.84	45.78
C18:2	47697	54.89	269.81	9356	55.82	128.81
C18:3	6176	7.11	34.94	1187	7.08	16.34
LA+ALA		62.00	304.74		62.90	145.15
Berat sampel (mg)	64.6			155.7		
Berat asam margarat (mg)	12.5			10.6		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	86894			16761		



**No. 10**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	109	0.18	0.85	131	1.79	4.00
C16:0	6912	11.15	54.14	976	13.34	29.84
C17:0	19677			2121		
C18:0	1782	2.87	13.96	171	2.34	5.23
C18:1	14930	24.07	116.95	1485	20.30	45.40
C18:2	33800	54.50	264.76	4059	55.50	124.09
C18:3	4482	7.23	35.11	492	6.73	15.04
LA+ALA		61.73	299.86		62.22	139.13
Berat sampel (mg)	81.1			178.9		
Berat asam margarat (mg)	12.5			11.6		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	62015			7314		

**No. 11**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	257	0.25	0.61	-	-	-
C16:0	10218	9.98	24.43	3262	8.40	39.22
C17:0	11117	10.86	26.58	4284		51.51
C18:0	3033	2.96	7.25	709	1.83	8.52
C18:1	26239	25.63	62.73	8839	22.76	106.27
C18:2	55677	54.38	133.11	23103	59.48	277.76
C18:3	6958	6.80	16.64	2929	7.54	35.21
LA+ALA		61.18	149.75		67.02	312.98
Berat sampel (mg)	380			229.1		
Berat asam margarat (mg)	10.1			11.8		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	102382			38842		

**No. 12**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	185	0.28	0.83	-	-	-
C16:0	9090	13.78	40.56	692	12.51	10.33
C17:0	21045	-		5486		
C18:0	1381	2.09	6.16	156	2.82	2.33
C18:1	13662	20.71	60.97	1199	21.68	17.90
C18:2	36590	55.47	163.28	3060	55.32	45.70
C18:3	5052	7.66	22.54	424	7.67	6.33
LA+ALA		63.13	185.83		62.99	52.03
Berat sampel (mg)	133.1			147.7		
Berat asam margarat (mg)	12.5			12.1		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	65960			5531		



No. 13

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0		-	-		-	-
C16:0	661	1.53	5.07	789	12.48	10.32
C17:0	23291			5525		
C18:0	1427	3.31	10.94	169	2.67	2.21
C18:1	10525	24.38	80.69	1285	20.33	16.80
C18:2	26720	61.90	204.86	3621	57.29	47.35
C18:3	3831	8.88	29.37	457	7.23	5.98
LA+ALA		70.78	234.23		64.52	53.32
Berat sampel (mg)	70			157.8		
Berat asam margarat (mg)	12.5			11.4		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	43164			6321		

No. 14

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0		-	-		-	-
C16:0	770	16.68	123.08	1542	6.45	23.33
C17:0	798	17.29		3952	16.53	59.79
C18:0	720	15.60	115.08	360	1.51	5.45
C18:1	143	3.10	22.86	5537	23.15	83.76
C18:2	2602	56.38	415.90	14617	61.12	221.12
C18:3	302	6.54	48.27	1858	7.77	28.11
LA+ALA		62.93	464.17		68.89	249.23
Berat sampel (mg)	98			195.7		
Berat asam margarat (mg)	12.5			11.7		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	4615			23914		

No. 15

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	157	0.18	0.74		-	-
C16:0	7779	9.07	36.51	1525	7.57	31.62
C17:0	16783			3396		
C18:0	2134	2.49	10.02	371	1.84	7.69
C18:1	16221	18.92	76.13	4858	24.10	100.71
C18:2	39122	45.62	183.61	11900	59.05	246.70
C18:3	5846	6.82	27.44	1500	7.44	31.10
LA+ALA		52.44	211.04		66.49	277.80
Berat sampel (mg)	158.7			153.4		
Berat asam margarat (mg)	12.5			10.8		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	85751			20154		





**No. 16**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0		-	-		-	-
C16:0	947	13.58	120.43	692	12.51	6.29
C17:0	519	7.44	66.00	5486		
C18:0	180	2.58	22.89	156	2.82	1.42
C18:1	1452	20.83	184.65	1199	21.68	10.90
C18:2	3639	52.19	462.77	3060	55.32	27.81
C18:3	415	5.95	52.78	424	7.67	3.85
LA+ALA		58.15	515.54		62.99	31.66
Berat sampel (mg)	230.3			212.5		
Berat asam margarat (mg)	15.2			10.6		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	6972			5531		

**No. 17**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	254	0.11	0.92		-	-
C16:0	26834	11.84	97.17	2118	11.77	35.58
C17:0	18786			4424		
C18:0	1186	0.52	4.29	433	2.41	7.27
C18:1	46201	20.38	167.31	3996	22.20	67.13
C18:2	119231	52.59	431.78	10146	56.38	170.46
C18:3	15661	6.91	56.71	1304	7.25	21.91
LA+ALA		59.50	488.49		63.62	192.36
Berat sampel (mg)	210.2			162.8		
Berat asam margarat (mg)	14.3			12.1		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	226713			17997		

**No. 18**

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	121	0.10	0.43		-	-
C16:0	9576	7.75	33.72	361	14.83	44.27
C17:0	19576			569		
C18:0	2310	1.87	8.13	428	17.58	52.49
C18:1	25190	20.38	88.70	173	7.11	21.22
C18:2	61415	49.70	216.26	1334	54.81	163.60
C18:3	7816	6.33	27.52	138	5.67	16.92
LA+ALA		56.02	243.78		60.48	180.52
Berat sampel (mg)	206			169.1		
Berat asam margarat (mg)	14.2			11.8		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	123573			2434		

No. 19

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	161	0.18			-	-
C16:0	6896	7.79	19.40	1658	11.93	20.88
C17:0	30926			4630	33.33	58.30
C18:0	2161	2.44	6.08	399	2.87	5.02
C18:1	14044	15.86	39.50	3100	22.31	39.03
C18:2	32307	36.49	90.87	7788	56.06	98.07
C18:3	4356	4.92	12.25	948	6.82	11.94
LA+ALA		41.41	103.12		62.88	110.00
Berat sampel (mg)	146			202.4		
Berat asam margarat (mg)	12.7			11.8		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	88529			13893		

No. 20

Jenis asam lemak	Ulangan 1			Ulangan 2		
	Luas area	%	mg/g	Luas area	%	mg/g
C14:0	148	0.15	0.66		-	-
C16:0	7790	8.01	34.49	1075	10.18	37.58
C17:0	21643			2125		74.28
C18:0	2139	2.20	9.47	245	2.32	8.56
C18:1	18189	18.70	80.54	2414	22.85	84.38
C18:2	44080	45.32	195.18	6062	57.38	211.89
C18:3	5559	5.72	24.61	769	7.28	26.88
LA+ALA		51.04	219.79		64.66	238.77
Berat sampel (mg)	160.7			145.5		
Berat asam margarat (mg)	15.4			10.8		
Volume injeksi (ul)	0.5			0.5		
Total area	97261			10565		

## Lampiran 4. Biodata Peneliti

**PENELITI UTAMA**

Nama : Dr. Teti Estiasih, STP, MP  
 Tempat/tanggal lahir : Cianjur, 26 Desember 1970  
 Jenis Kelamin : Perempuan  
 Gol./Pangkat/NIP : IIIc/Penata/19701226 200212 2 001  
 Jabatan Fungsional : Lektor  
 Unit Kerja : Fakultas Teknologi Pertanian – Universitas Brawijaya  
 Alamat Kantor : Jl. Veteran – Malang 65145 Telp/Fax: 0341-569214  
 Alamat Rumah : Jl. Saxofon – Perum Graha Jatimulya Kav. 6 – Malang  
 Telp/HP/email : 0341-481529108123304966 /teties@yahoo.co.id

**Riwayat Pendidikan**

Tingkat Pendidikan	Jurusan	Perguruan Tinggi	Tahun
Strata 1	Teknologi Pangan	Institut Pertanian Bogor	1989-1993
Strata 2	Ilmu dan Teknologi Pangan	Universitas Gadjah Mada	1994-1996
Strata 3	Teknologi Pangan	Universitas Gadjah Mada	1998-2003

## Pengalaman Penelitian sebagai Ketua Peneliti

No.	Judul Riset	Tahun
1.	Pembuatan Konsentrat Asam Lemak Omega-3 dari Limbah Cair Pengalengan Ikan Lemuru dengan Metode Kristalisasi Urea	1996
2.	Mikroenkapsulasi Konsentrat Asam Lemak Omega-3 dari Limbah Cair Pengalengan Ikan Lemuru	1996
3.	Sifat-sifat Emulsi Trigliserida Kaya Asam Lemak Omega-3 yang Distabilisasi Natrium Kaseinat sebagai Pengaruh Penambahan Fosfolipida	2003
4.	Sifat-sifat Mikrokapsul Trigliserida Kaya asam Lemak Omega-3 dengan Enkapsulan Natrium Kaseinat sebagai Pengaruh Penambahan Fosfolipida pada Saat Emulsifikasi	2003
5.	Pembuatan Trigliserida Kaya Asam Lemak Omega-3 dari Minyak Hasil Samping Pengalengan Ikan Lemuru	2003
6.	Optimasi Pemadatan Cepat pada Pembuatan Minyak Kaya Asam Lemak w-3 dari Minyak Hasil Samping Pengolahan Ikan Lemuru serta Stabilisasi dan Aplikasinya pada Makanan. PHB XII(1/2)/2005-2006	2005-2006
7.	Optimasi Sintesis Pengemulsi Alami Mengandung Asam Lemak 0-3 dari Hasil Samping Pengolahan Ikan dan Kelapa Sawit. Insentif Riset Dasar – Kementerian Negara Riset dan Teknologi.	2008

**Publikasi sebagai Penulis Pertama**

No.	Judul Publikasi	Tahun
1.	Hubungan antara Natrium Kaseinat dan Fosfolipida dalam Emulsifikasi dan Implikasinya terhadap Perubahan Sifat-sifat Emulsi. Jurnal Teknologi Pertanian 4(3): 141-154	2003

2.	Hubungan antara Sifat-sifat Emulsifikasi dengan Stabilitas Oksidasi Mikrokapsul yang Dihasilkan dengan Metode Pengeringan Semprot. <i>Jurnal Teknologi Pertanian</i> 5(1): 35-47.	2004
3.	Pembuatan Trigliserida Kaya Asam Lemak Omega-3 dari Minyak Hasil Samping Pengalengan Ikan Lemuru. <i>Jurnal Teknologi Pertanian</i> 5(3): 116-128.	2004
4.	Perubahan Komposisi Kasein pada Permukaan Globula Minyak sebagai Pengaruh Peningkatan Konsentrasi Fosfolipida selama Emulsifikasi. <i>Agritech</i> 25(1): 32-35	2005
5.	Pengaruh Komposisi Lapisan pada Permukaan Globula Minyak Emulsi sebelum Pengeringan Semprot terhadap Sifat-sifat Mikrokapsul Trigliserida Kaya Asam Lemak Omega-3. <i>Jurnal Teknologi dan Industri Pangan</i> XVI(1): 13-23	2005
6.	Pembuatan Trigliserida Kaya Asam Lemak Omega-3 dari Minyak Hasil Samping Pengalengan Ikan Lemuru. <i>Prosiding Seminar Nasional Pangan Fungsional. Universitas Surabaya.</i>	2005
7.	Optimasi Pemadatan Cepat pada Pengayaan Minyak Ikan Hasil Samping Pengalengan Lemuru dengan Asam Lemak 0-3 Menggunakan Metode Permukaan Respon. <i>Jurnal Teknologi dan Industri Pangan</i> XVI(3): 222-229.	2005
8.	Optimasi Pemadatan Cepat pada Pembuatan Minyak Kaya Asam Lemak $\omega$ -3 dari Minyak Hasil Samping Penepungan Ikan Lemuru. <i>Agritek</i> 14(3): 681-694.	2006
9.	Sifat-sifat Emulsi Susu Rekonstitusi yang Diformulasi Mikrokapsul Minyak Kaya Asam Lemak 0-3. <i>Jurnal Agritech</i> XXVI(3): 186-193.	2006
10.	Kristalisasi Urea pada Pembuatan Konsentrat Asam Lemak 0-3: <i>Kajian Pustaka.</i> <i>Jurnal Teknologi Pertanian</i> 7(1): 61-70.	2006
11.	Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Umbi Akar Ginseng Jawa. <i>Jurnal Teknologi dan Industri Pangan</i> XVII(3): 166-174.	2006
12.	Formulasi Mikrokapsul Minyak Kaya Asam Lemak 0-3 dari Hasil Samping Penepungan Ikan Lemuru pada Beberapa Produk Pangan. <i>Agritek</i> 15(3)	2007
13.	Karakteristik Konsentrat Asam Lemak 0-3 dari Hasil Samping Pengalengan Ikan Lemuru ( <i>Sardinella longiceps</i> ). <i>Agritek</i> 15(4): 974-980.	2007
14.	Karakteristik Mikrokapsul Minyak Kaya Asam Lemak $\omega$ -3 dari Hasil Samping Penepungan Lemuru. <i>Jurnal Teknol. dan Industri Pangan</i> XIX(2): 97-106.	2008

Malang, 30 Nopember 2009



Dr. Teti Estiasih, STP, MP  
NIP 19701226 200212 2 001



**PENELITI ANGGOTA 1**

Nama : Ir. Kgs Ahmadi, MP  
 Tempat/tanggal lahir : Kepahiang, 27 Desember 1965  
 Jenis Kelamin : Laki-laki  
 Gol./Pangkat/NIP : IIIId/Penata Tk. I/19651227 199103 1 004  
 Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
 Jabatan Struktural  
 Fakultas/Jurusan : Pertanian/Teknologi Industri Pertanian  
 Perguruan Tinggi : Universitas Tribhuwana Tunggaladewi – Malang  
 Kontribusi thd Penelitian : Analisis profil asam lemak, kristalisasi pelarut suhu rendah, dan analisis data statistik

## Pendidikan:

Tingkat Pendidikan	Jurusan	Perguruan Tinggi	Tahun Lulus
Strata 1	Budidaya Pertanian	Universitas Bengkulu	1990
Strata 2	Teknologi Hasil Perkebunan	Universitas Gadjah Mada	1997

## Penelitian:

- Ahmadi, K., P. Hastuti, dan Tranggono. 1997. Aktivasi Zeolit Alam dan Penggunaannya untuk Pemurnian Tokoferol dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit. *Berkala Penelitian Pascasarjana – UGM* 10(2B):247-258
- Ahmadi, K. 1999. Pengujian Sifat Antioksidan Tokoferol yang Dipisahkan dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit. *Jurnal Akademika. Kopwil X Padang*.
- Ahmadi, K. dan T. Estiasih. 2004. Hubungan antara Sifat-sifat Emulsifikasi dengan Stabilitas Oksidasi Mikrokapsul yang Dihasilkan dengan Metode Pengeringan Semprot. *Jurnal Teknologi Pertanian* 5(1):35-47.
- Anggota Peneliti pada Penelitian Hibah Bersaing Perguruan Tinggi XIII Tahun 2005 dengan judul penelitian: Optimasi Proses Pematangan Cepat pada Pembuatan Minyak Kaya Asam Lemak 0-3 dari Hasil Samping Pengolahan Ikan Lemuru serta Stabilisasi dan Aplikasinya pada Makanan.
- Aktivasi Kimiawi Zeolit Alam untuk Pemurnian Minyak Ikan dari Hasil Samping Penepungan Ikan Lemuru. PDM. 2006.
- Optimasi Kristalisasi Pelarut Suhu Rendah Pada Pembuatan Minyak Kaya Asam Lemak  $\omega$ -3 dari Hasil Samping Pengalengan Ikan Lemuru (*Sardine110 Longiceps*). PDM 2006.
- Aktivasi Asam Zeolit Alam untuk Pemurnian Minyak Ikan dari Hasil Samping Penepungan Ikan Lemuru. Pembimbing PKMP. 2007.

Malang, 30 Nopember 2009



Ir. Kgs. Ahmadi, MP  
 NIP 19651227 199103 1 004



**PENELITI ANGGOTA 2**

Nama : Wenny Bekti Sunarharum, STP, MFoodSt.  
 Jenis kelamin : Perempuan  
 Tempat, tanggal lahir : Malang, 12 Desember 1980  
 Fakultas/ Program Studi : Teknologi Pertanian/ Teknologi Hasil Pertanian  
 Pangkat/ Golongan/ NIP : -119820405 200801 2 015  
 Bidang Keahlian : Teknologi Pengolahan Pangan  
 Alamat Kantor : Jl. Veteran Malang (0341) 569214  
 Alamat rumah : Jl. Candi Panggung Permai No.32 Malang.  
 Telp (0341) 9058537

Kontribusi terhadap penelitian: Preparasi bahan dan proses, pemadatan cepat, pembuatan dan analisis konsentrat protein kedelai

**Pendidikan**

1000410

Tingkat Pendidikan	Jurusan	Perguruan Tinggi	Tahun Lulus
Strata 1	Teknologi Hasil Pertanian	Universitas Brawijaya	2003
Strata 2	School of Land Crop and Food Science –Faculty of Natural Resources of Queensland Veterinary	University of Queensland	2007

**Penelitian**

1. Studi karakterisasi tahu yang diproduksi oleh beberapa industri tahu di Kecamatan Turen Kabupaten Malang (2003)
2. Identifikasi senyawa volatil yang berperan penting pada keunikan aroma dan flavour beberapa varietas mangga (2007)

Malang, 30 Nopember 2009



Wenny Bekti Sunarharum STP, MFoodSt.  
 NIP 19820405 200801 2 015