

EKSTRAKSIMINYAK NABATISECARA FERMENTASI¹ [Extraction of Vegetable Oil by Fermentation]

Yati Sudaryati Soeka

Bidang Mikrobiologi Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Center-LIPI
Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46 - Cibinong 16911
Tel 021 -8765066, Fax 8765062
e-mail: ceuceulipi@yahoo.com

ABSTRACT

Method of extracting vegetable oil from peanut and soybean cream through enzymatic fermentation was studied. Creams were incubated with respective strains of *Bacillus subtilis*, *Candida rugosa* and *Pseudomonas aerogenes* separately under mild condition that allowed for production of oil at pH 4.5-6.5 and room temperature overnight. A considerably amount of oil could be extracted from media containing coconut and peanut cream, however, none from soybean cream. The oil recovery was about 10 to 30% from approximately 46 to 52% total fat contained in the respective substrates. Those oil were extracted by application of culture filtrate of *B. subtilis* and *C. rugosa* exhibited higher linoleic and linolenic acid (0.50 to 0.61 % and 0.31 to 0.32% respectively), compared to those were of *P. aerogenes* lipase (0.20% and 0.13%, respectively). Further investigation was aimed to study the capacity of microbial strains on enzymatic reaction of fatty acid to fatty acid ester by incubating extracted oil in the present of organic solvents.

Kata kunci: Ekstraksi, minyak nabati, fermentasi enzim, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aerogenes*.

PENDAHULUAN

Tanaman kacang-kacangan merupakan salah satu sumber minyak nabati yang kandungannya cukup tinggi. Penggunaan minyak nabati cukup luas, disamping sebagai minyak makan, juga digunakan untuk bahan industri (Padley, 1984). Industri minyak nabati telah dikenal di Indonesia sejak dahulu. Sebagai minyak makan, minyak nabati dari kacang-kacangan digunakan sebagai bahan pengganti minyak kelapa jika produksi minyak kelapa tidak mencukupi.

Pada umumnya minyak nabati merupakan sumber asam lemak tidak jenuh. Beberapa diantaranya merupakan asam lemak esensial, antara lain asam oleat, linoleat, linolenat dan arakhidonat (Ketaren, 1986). Oleh karena itu penelitian terhadap minyak nabati perlu ditingkatkan, khususnya terhadap minyak nabati dari kacang-kacangan yang tinggi kandungan asam lemak tidak jenuhnya. Ada beberapa cara ekstraksi untuk mendapatkan minyak nabati dari kacang-kacangan, antara lain dengan cara pengepresan mekanik, ekstraksi dengan pelarut dan cara rendering. Akan tetapi secara komersial proses produksinya menjadi tidak ekonomis karena efisiensi pembuatannya yang rendah, sehingga harga minyak menjadi mahal (Ketaren, 1986).

Dibanding cara ekstraksi konvensional, pengolahan minyak nabati secara enzimatik

menggunakan biakan mikroba, memiliki beberapa keuntungan komparatif antara lain mudah cara membuatnya, hemat energi bahan bakar, tingkat ketengikan rendah dengan daya simpan lebih lama, rendemen minyak lebih tinggi, aroma lebih harum dan warna lebih jernih, serta bebas kolesterol (Sulistyo et al, 1999; 2000).

Pada saat ini, persaingan produk minyak nabati berkualitas di tingkat perkotaan juga terlihat lebih tajam mengikuti kecenderungan konsumen terhadap produk-produk minyak nabati berkadar kolesterol rendah. Kecenderungan konsumen terhadap produk-produk pangan yang menyehatkan menjadi semakin beralasan, mengingat beberapa hasil riset yang mengungkapkan bahwa adanya hubungan erat antara tingginya kadar kolesterol dalam darah penderita gejala penyakit jantung, tekanan darah tinggi, obesiti dan penuaan, dengan pola makan pasien penderita yang cenderung mengkonsumsi makanan berkolesterol tinggi (Purwastyastuti, 2007).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan enzim dari biakan mikroba yang bermanfaat untuk mengekstraksi minyak nabati dari kacang tanah dan kedelai.

BAHAN DAN METODE

Penyiapan inokulan dan starter

Kacang kedelai putih (*Glycyne max*) dan kacang tanah (*Arachis hypogaea*) diperoleh dari Pasar Bogor, Bogor. Biakan mikroba penghasil enzim lipase, bakteri yaitu *Basillus subtilis* dan *Pseudomonas aerogenes*, khamir *Candida rugosa* sedang kapang penghasil enzim selulase, pektinase dan protease yaitu *Aspergillus niger*, semuanya berasal dari Koleksi Mikroba Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong. Masing-masing mikroba ditumbuhkan pada medium mengandung minyak zaitun 2,0% sebagai substrat penginduksi lipase dan pada medium mengandung dedak 2,0% sebagai substrat penginduksi selulase, ekstrak kulit apel 2,0% sebagai substrat penginduksi pektinase dan susu skim 2,0% sebagai substrat penginduksi protease.

Media basal untuk memproduksi enzim mengandung pepton 0,5%, K_2HPO_4 0,1 %, NaCl 0,05%, $MgSO_4$ 0,05%, $FeSO_4$ 0,001%, $ZnSO_4$ 0,0001%, $CuSO_4$ 0,0001%, $MnSO_4$ 0,0001%, ekstrak khamir 0,5% dan masing-masing bahan penginduksi (minyak zaitun, dedak, ekstrak apel dan susu skim) sebanyak 2,0%, pada 10mM bufer Na-fosfat pH 4,5-6,5. Setelah media produksi digoyang pada suhu ruang selama 5 hari, larutan disentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada 4°C dan supernatan digunakan sebagai sumber enzim.

Uji aktivitas enzimatis lipase

Kedalam Erlenmeyer 100 ml, berturut-turut dimasukkan substrat enzim (minyak zaitun) sebanyak 1,0 ml, kemudian $CaCl_2$ 0,1 M sebanyak 0,5 ml dan larutan bufer asetat 0,1 M pH 5,5 sebanyak 4,5 ml. Campuran reaksi diinkubasikan pada suhu 40°C selama 10 menit, kemudian ditambahkan stater penghasil enzim lipase sebanyak 10% dan diinkubasikan kembali pada suhu 40°C, & shaker pada kecepatan 160 rpm selama 30 menit. Selanjutnya campuran reaksi ditambah 20 ml etanol dan 3 tetes indikator fenolftalin dan dititrasi dengan NaOH 0,05 M sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Satu unit aktivitas enzim lipase setara dengan 1 μ mol asam lemak bebas yang dihasilkan dari hidrolisis substrat yang dikatalisis oleh enzim lipase selama 30 menit pada kondisi reaksi pengujian.

Penentuan optimum enzim terhadap pH dan suhu

Penentuan pH optimum enzim dilakukan dalam berbagai macam larutan bufer pada kisaran pH antara 4,0 sampai 8,0 yang diinkubasikan masing-masing dalam bufer asetat (pH 4,0,4,5,5,0,5,5) dan bufer fosfat (pH 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0). Suhu optimum ditentukan pada berbagai kisaran suhu mulai 30-60 °C (30, 35, 40, 45, 50, 55,60 °C). Aktivitas enzim lipase diukur seperti di atas.

Analisis kandungan kolesterol

Sebanyak 0,25 ml sampel minyak nabati dari kacang-kacangan masing-masing diencerkan dengan $CHCl_3$ (kloroform) dalam labu ukur berukuran 25 ml. Selanjutnya ke dalam campuran reaksi yang berisi 5,0 ml larutan, ditambahkan kedalamnya berturut-turut 2,0 ml asam asetat anhidrat, 0,1 ml asam asetat glasial dan 0,1 ml H_2SO_4 pekat. Setelah dikocok dan dibiarkan selama 15 menit, campuran reaksi dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer pada X 640 nm (Folche/a/., 1957).

Kromatografi lapisan tipis (TLC)

Campuran reaksi dianalisis secara kualitatif menggunakan plat TLC 60 F254 dengan ketebalan 0,25 mm (Merck). Sampel diencerkan dengan etanol dengan perbandingan 1:10. Sebanyak 0,01 ml sampel encer digunakan untuk analisis TLC. Untuk mengetahui spot hasil reaksi yang terkromatografi, plat TLC dikembangkan dalam larutan heksan/dietil eter/asam asetat (80:20:1) selama satu jam. Setelah pengeringan, plat TLC disemprot dengan 0,1% 2',7'-diklorofluoresin dalam 99,5% etanol dan selanjutnya diamati dengan menggunakan lampu UV padapanjang gelombang 254 nm (Linkoefa/., 1994)

Kromatografi gas (GC)

Ditimbang sebanyak 0,02-0,05 gram sampel dan dilarutkan dengan 2,0 ml NaOH dalam metanol 0,5 M, kemudian dipanaskan pada suhu 80°C selama 20 menit. Setelah penambahan larutan BF_3 (Boron Tri Fluorida) dalam metanol sebanyak 2,0 ml, sampel dipanaskan kembali pada suhu 80°C selama 20 menit dan selanjutnya ditambahkan NaCl jenuh dan heksan, masing-masing sebanyak 2,0 ml. Sebanyak 2,0 ml dari masing-masing sampel minyak dianalisis menggunakan GC dengan kolom kapiler HP-5 sebagai fase diam, gas

Helium (0,8 ml/menit) dan Nitrogen (30 ml/menit) sebagai fase gerak, pada suhu awal 150°C, suhu akhir 200°C dan suhu injektor 200°C, menggunakan detektor FID pada suhu 250°C.

Ekstraksi minyak nabati

Sebanyak 50 gram masing-masing substrat dalam Erlenmeyer 300 ml yang telah berbentuk krim dihidrolisis dengan 10% enzim pektinase, selulase dan protease dalam bufer asetat pH 3,5,4,0,4,5,5,0 atau bufer fosfat pH 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0 tergantung pH masing-masing enzim. Setelah inkubasi diatas *shaker* pada 160 rpm selama 24-48 jam pada suhu ruang, enzim penghidrolisis dimatikan dengan cara pemanasan pada suhu 100°C selama 10 menit. Selanjutnya substrat **diinkubasikan** dengan 25% enzim lipase dari berbagai **biakan mikroba**, pada 160 rpm selama 24-48 jam dan **suhu 40°C**. Lapisan minyak yang terbentuk **dipisahkan** dengan disentrifus pada 5000 rpm **selama 15 menit** dan hasilnya dianalisis dengan TLC **dan GC** seperti di atas.

HASIL

Isolat yang dipilih unruk **pengujian** aktivitas enzimatik adalah bakteri, **khamir dan kapang**. Penghasil enzim lipolitik **yaitu bakteri *B. Subtilis*** dan *P. Aerogenes*, khamir *C. rugosa*, ketiga isolat ini menunjukkan aktivitas lipase secara signifikan, sedangkan isolat kapang *A. niger*, menunjukkan aktivitas selulase, protease **dan pektinase** pada substrat dedak, susu skim **dan kulit apel setelah**

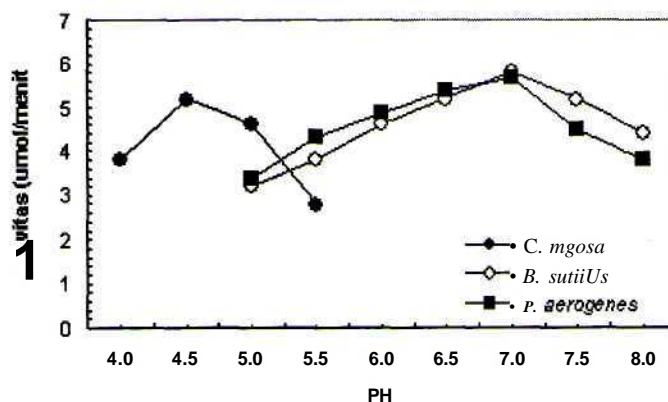
inkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu ruang (**Tabel 1**).

Aktivitas enzim selulase, pektinase, protease, *C. rugosa* lipase, *P. aerogenes* lipase, dan *B. subtilis* lipase yang diperoleh dari berbagai filtrat biakan mikroba, ditumbuhkan pada media mengandung masing-masing bahan penginduksi.

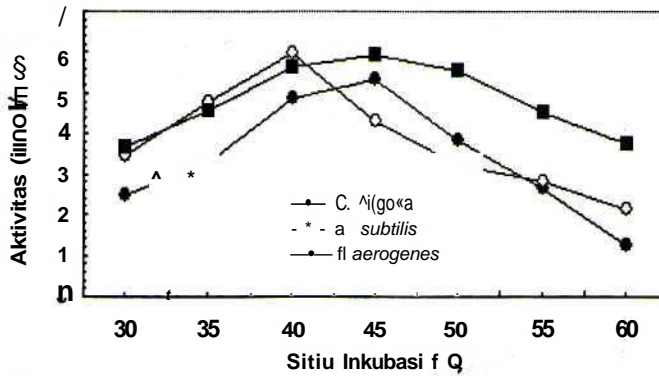
Ekstraksi minyak nabati secara enzimatik sangat tergantung pada beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim yang digunakan, antara lain pH, suhu dan konsentrasi substrat. pH optimal bagi aktivitas enzim yang berasal dari khamir *C. rugosa*, dan kapang *A. niger* adalah 4,5-5,5, sedangkan aktivitas optimal bagi enzim yang berasal dari bakteri *B. subtilis* dan *P. aerogenes* pada pH 6,5-7,5.

Gambar 1 dan 2 menunjukkan hasil pengujian optimasi pH dan suhu yang diperlukan bagi aktivitas enzim lipase dari berbagai sumber biakan. pH dan suhu optimal untuk aktivitas enzim lipase dari *C. rugosa* adalah pada pH 4,5 (5,14 mmol/menit) dan suhu 45°C (5,33 µmol/menit). Aktivitas optimal lipase dari *B. subtilis* dan *P. aerogenes* adalah pada pH 7,0 (masing-masing 5,81 µmol/menit dan 5,85 µmol/menit), dan pada suhu 40°C dan 45°C (5,98 µmol/menit dan 5,92 µmol/menit) berturut-turut.

Tabel 1 menunjukkan hasil uji kualitatif pembentukan minyak nabati dari substrat kacang-tanah dan kedelai secara reaksi enzimatik. Hasil penelitian lapangan menunjukkan bahwa perbandingan volume krim kacang-kacangan, bufer dan enzim, mampu menghasilkan pemisahan minyak dengan baik pada perbandingan 60:30:10 dan 60:15:25 (v/v). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada perbandingan 60:30:10 (v/v), enzim bekerja



Gambar 1. Pengaruh pH pada aktivitas enzim lipase dari beberapa biakan mikroba.



Gambar 2. Pengaruh suhu pada aktivitas enzim lipase dari beberapa biakan mikroba.

Tabel 1. Kemampuan biakan mikroba dalam menghasilkan minyak nabati.

Substrat	Biakan	Enzim	Produksi Minyak
Kacang Tanah	<i>C. rugosa</i> , <i>A. niger</i>	Pektinase, protease, lipase	+++
Kacang Tanah	<i>C. rugosa</i> , <i>A. niger</i>	Selulase, protease, lipase	++
Kacang Tanah	<i>P. aerogenes</i> , <i>A. niger</i>	Pektinase, protease, lipase	+
Kacang Tanah	<i>P. aerogenes</i> , <i>A. niger</i>	Selulase, protease, lipase	++
Kacang Tanah	<i>B. subtilis</i> , <i>A. niger</i>	Pektinase, protease, lipase	+
Kacang Tanah	<i>B. subtilis</i> , <i>A. niger</i>	Selulase, protease, lipase	+
Kacang Kedelai	<i>C. rugosa</i> , <i>A. niger</i>	Pektinase, protease, lipase	-
Kacang Kedelai	<i>C. rugosa</i> , <i>A. niger</i>	Selulase, protease, lipase	-
Kacang Kedelai	<i>P. aerogenes</i> , <i>A. niger</i>	Pektinase, protease, lipase	-
Kacang Kedelai	<i>P. aerogenes</i> , <i>A. niger</i>	Selulase, protease, lipase	-
Kacang Kedelai	<i>B. subtilis</i> , <i>A. niger</i>	Pektinase, protease, lipase	-
Kacang Kedelai	<i>B. subtilis</i> , <i>A. niger</i>	Selulase, protease, lipase	-

Ket. : +++), banyak; ++), sedang; +), sedikit; -), kurang

secara efektif untuk memproduksi minyak nabati, karena pada nisbah tersebut suasana media menjadi optimal bagi aktivitas enzimatik, sehingga terjadi penguraian emulsi yang diperlukan untuk memisahkan minyak.

Jumlah protein terbesar (25-30%) dan lemaknya (46-50%) terkandung dalam endosperm biji kacang tanah yang umurnya sudah cukup tua. Hasil menunjukkan bahwa pada biji kacang tanah terkandung kadar lemak yang tinggi dengan kadar protein yang rendah. Sebaliknya pada kacang kedelai, kandungan protein (37-53%) lebih tinggi dibandingkan kadar lemaknya (15-23%). Hasil pengujian menunjukkan bahwa minyak nabati dapat diekstraksi secara enzimatik dari substrat kacang tanah menggunakan berbagai enzim mikroba dengan rendemen minyak 15-17% dan

kadar asam lemak bebas 2,25-2,50%, dengan kandungan kolesterol 0,01-0,02%. Hal tersebut menunjukkan bahwa minyak nabati yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik dan memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI). Namun sebaliknya, kacang kedelai tidak efektif dalam menghasilkan minyak nabati secara enzimatik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa minyak nabati yang dapat diekstraksi dari biji kacang-kacangan dipengaruhi oleh komponen yang terkandung pada biji kacang-kacangan, khususnya komponen lemak.

Secara kualitatif minyak yang diproses secara fermentasi ini telah memenuhi SNI untuk produk minyak goreng dengan bahan baku biji kacang-kacangan (Tabel 2). Dengan kata lain, teknologi enzimatik dapat diterapkan untuk mengekstraksi minyak nabati dengan

Tabel 2. Sifat fisika-kimia minyak nabati hasil fermentasi.

Karakteristik	Minyak Kacang Tanah	Minyak Kacang Kedelai
Bilangan asam	0,3-3,0	0,3-3,0
Bilangan penyabunan	186-192	189-195
Bilangan: $\rho\omega$	90-94	117-141
Bilangan Reichen Meissi	0,1-1,0	0,2-0,7
Bilangan Pcienske	0,2-0,7	0,2-1,0
Indeks bias	1,456	1,471-1,475
Bobot jenis	0,910-0,915	0,916-0,992
Tner(°C)	28-30	22-27

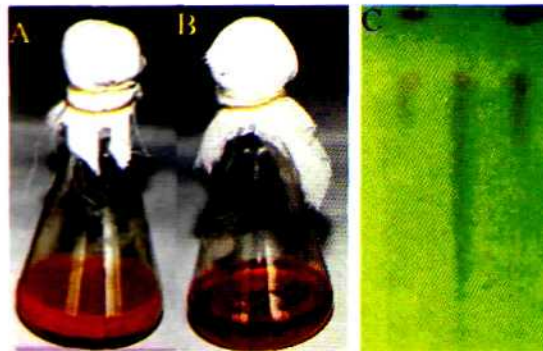


Foto 1. Minyak nabati dari substrat kacang tanah sebelum (A) dan sesudah fermentasi (B) dan kromatogram TLC minyak hasil fermentasi di bawah sinar UV 254 nm (C).

kualitas yang baik dan memenuhi standar minyak pangan (Bailey, 1995).

Foto 1 menunjukkan hasil reaksi enzimatik dan ekstraksi minyak nabati secara fermentasi serta kromatogram TLC hasil reaksi substrat kacang tanah setelah dinkubasi menggunakan enzim lipase dari biakan mikroba selama 48 jam. Secara kualitatif terjadinya reaksi enzimatik dapat ditandai dengan adanya pembentukan spot-spot ester asam lemak yang terdeteksi pada TLC sebagai produk asam lemak yang terlarut dalam pelarut organik yang ditambahkan setelah proses enzimatik berakhir. Ester asam lemak yang memiliki polaritas lebih tinggi, memiliki spot kromatogram dengan nilai-Rf yang lebih tinggi dibanding nilai-Rf produk asam lemak bebas hasil hidrolisis trigliserida pada lemak kacang tanah antara lain stearat, linoleat dan linolenat.

Campuran reaksi mengandung substrat kacang tanah dan pelarut organik (butanol) 10-25%, yang dinkubasikan dengan enzim lipase yang bertindak sebagai biokatalisator dari biakan mikroba selama 24-

48 jam menunjukkan terjadinya reaksi transesterifikasi, ditunjukkan dengan adanya pembentukan ester asam lemak dan gliserol yang memiliki polaritas dan solubilitas terhadap pelarut lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberi penambahan pelarut organik (Ghosh dan Bhattacharyya, 1995). Campuran reaksi menunjukkan terjadinya perubahan sifat kelarutan yang lebih baik, ditandai dengan tingginya kadar asam lemak tidak jenuh dari golongan oleat, linoleat dan linolenat sebagai produk asam lemak bebas hasil hidrolisis trigliserida maupun dalam bentuk ikatan gliserida (Rondang, 2006).

Guna mengetahui kemungkinan adanya pengaruh biakan kontaminan, pada substrat kontrol inkubasi dibiarkan terjadi secara alamiah tanpa perlakuan sterilisasi terhadap media yang diuji. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa fermentasi oleh biakan kontaminan tidak memberikan hasil yang signifikan, meskipun fermentasi dapat terjadi secara alamiah pada kondisi media tidak steril, karena pada saat inkubasi mikroba kontaminan tidak berkembang

Tabel 3. Analisis kandungan asam lemak minyak nabati hasil fermentasi

Sampel	Asam Lemak Jenuh (%)			Asam Lemak Tidak Jenuh (%)		
	Laurat	Palmitat	Stearat	Oleat	Linoleat	Linolenat
A	-	0,0096	0,1854	0,0949	0,5043	0,3064
B	-	-	0,0351	0,0093	0,0633	0,0180
C	0,0067	0,0038	0,1455	0,0995	0,1985	0,1339
D	0,0005	0,0046	0,3052	0,0251	0,6061	0,3136
E	-	-	0,1674	0,0397	0,2026	0,1083

Ket. : *) A, CR-lipase, pektinase, protease; B, CR-lipase, selulase, protease; C, PA-lipase, selulase, protease; D, BS-lipase, pektinase, protease; E, BS-lipase, selulase, protease.

pada kondisi fermentasi yang optimal untuk dapat mengekstraksi minyak dari substrat tempattumbuhnya.

Hasil analisis komposisi asam lemak dapat dilihat pada Tabel 3. Minyak nabati hasil fermentasi lebih dikenal sebagai ekstrak minyak murni karena proses pembuatannya dilakukan secara alami (fermentasi), tanpa mengalami proses kimia maupun fisika, sedangkan minyak nabati yang diproses dengan menggunakan cara kimia dan fisika mudah mengalami reaksi oksidasi sehingga jika disimpan dapat mengakibatkan lebih cepat terjadi tengik (Winarno, 1987) Udara hangat dan membiarkan bahan pangan di udara terbuka merangsang ketengikan oksidatif. Pada ketengikan oksidatif, ikatan ganda dua dalam ikatan komponen asam lemak tak jenuh dari trigliserida terputus, membentuk aldehid berbobot molekul rendah dengan bau tak sedap. Aldehid kemudian dioksidasi asam lemak berbobot molekul rendah yang juga berbau tidak enak. Ketengikan oksidatif memperpendek masa simpan bahan pangan. Antioksidan adalah senyawa yang menunda awal ketengikan oksidatif. Dua senyawa alami yang sering digunakan sebagai antioksidan ialah asam askorbat (vitamin C) dan α -tokoferol (vitamin E) (Rondang, 2006).

Minyak kacang tanah yang dihasilkan secara fermentasi menggunakan starter dari biakan *B. subtilis* (D) dan *C. rugosa* (A), menunjukkan hasil analisis komponen asam lemak yang lebih tinggi, dibandingkan kandungan asam lemak pada minyak kacang tanah hasil fermentasi menggunakan starter dari biakan *P. aerogenes* dan *A. niger*, khususnya komponen asam stearat(0,18-0,31%), α linoleat(0,51-0,61%) dan hnoletat (0,31%) yang berperan penting bagi kesehatan sebagai nutrisi juga berfungsi sebagai cadangan energi dalam

tubuh, sebagaimana diketahui bahwa sumber energi dalam tubuh dapat diperoleh dari gliserol dan asam lemak bebas. Gliserol dapat dikonversi menjadi glukosa oleh hati dan kemudian glukosa inilah yang kemudian digunakan sebagai sumber energi yang baik (Rondang, 2006).

PEMBAHASAN

Hasil tersebut mengindikasikan bahwa jenis enzim berpengaruh terhadap peningkatan atau penurunan kandungan asam lemak bebas secara cukup signifikan pada ketersediaan butanol sebagai pelarut organik asam lemak. Komposisi dan kandungan asam lemak bebas yang terdapat pada minyak nabati hasil ekstraksi dari substrat kacang tanah belum secara optimal diperoleh, namun masih dapat ditingkatkan lagi mengingat masih tingginya residu asam lemak yang terkandung dalam substrat yang belum sepenuhnya terekstraksi. Untuk meningkatkan reaksi enzimatik secara lebih efektif dan efisien, diperlukan optimasi jenis dan sumber enzim dari berbagai sumber biakan mikroba yang digunakan, khususnya yang berasal dari golongan mikroba termofilik dan yang tahan terhadap alkali (basa) serta kondisi optimum inkubasi maupun jenis pelarut organiknya, agar seluruh kandungan asam lemak jenuh yang terdapat dalam substrat dapat ditransferkan menjadi ester asam lemak secara optimal (Winarno, 1987).

Indikasi tersebut didasarkan pada asumsi apabila efektivitas enzim esterase menjadi sangat tinggi, maka kandungan asam lemak tidak jenuh akan meningkat, sehingga minyak akan tetap mencair pada suhu ruang dan fungsinya sebagai bahan berminyak dapat dimanfaatkan secara optimal, antara lain sebagai

senyawa aromatik penyedap rasa, untuk produksi alkohol lemak atau untuk pemanfaatan sebagai produk farmaka yang berfungsi untuk pencegahan dan penyembuhan penyakit yang berkaitan dengan sistem peredaran darah, antara lain trombosis dan arteriosklerosis.

Guna meningkatkan proses fermentasi secara efektif dan efisien, maka biakan dan media serta kondisi fermentasi menjadi sangat penting (Cowan, 1981). Hal tersebut menunjukkan bahwa media fermentasi berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitas produk, rendemen dan produktivitas enzim yang digunakan. Biakan mikroba memerlukan sumber karbon, nitrogen, dan mineral untuk pertumbuhan dan metabolismenya.

Lemak dan minyak adalah komponen penting keberadaannya dalam media fermentasi minyak nabati ini karena memiliki sifat selain menurunkan aktivitas pembentukan buih (defoaming) jugaberperan sebagai nutrisi suplemen bagi pertumbuhan dan pemeliharaan sel-sel mikroba penghasil enzim lipase.

Minyak nabati yang dihasilkan dari hasil fermentasi menggunakan starter mikroba menunjukkan karakteristik yang sangat baik terhadap kadar air, bilangan asam, kadar asam lemak bebas, dan bilangan peroksida. Minyak nabati yang dihasilkan sangat memenuhi persyaratan standar kualitas mutu (SN1) minyak makan.

Minyak nabati hasil fermentasi mengandung air dalam jumlah yang kecil, hal ini dapat terjadi karena proses alami sewaktu pembuatan dan akibat perlakuan yang diberikan. Asam lemak bebas yang mengalami oksidasi dapat menghasilkan air sehingga dapat mengakibatkan kadar air dalam minyak menjadi tinggi. Pernyataan ini didukung oleh pendapat Ketaren (1986), yang menyatakan bahwa mikroba dapat memecah asam lemak bebas menjadi senyawa dengan dua atom karbon (asil Ko-A). Selanjutnya senyawa tersebut akan teroksidasi menghasilkan gas karbondioksida (CO₂) dan air (H₂O). Asam lemak bebas terbentuk karena proses oksidasi dan hidrolisa enzim minyak menjadi asam-asamnya selama pengolahan dan penyimpanan.

Minyak nabati yang pada awalnya hanya dikenal sebagai bahan pengemulsi pangan ternyata dapat berperan sebagai bahan pengawet pangan karena beberapa jenis asam lemak tertentu yang terkandung

dalam bahan baku nabatinya diduga kuat memiliki efek sinergi dengan asam-asam organik seperti asam atau garam laktat, asam atau garam sitrat maupun asam atau garam sorbet yang disintesis oleh mikroba yang digunakan untuk memfermentasi. Hal ini didasarkan pada penelitian Oh dan Marshall (1994) yang menemukan penurunan jumlah sel *Listeria monocytogenes* yang diberi asam lemak jenis laurat dan asam laktat. Bila asam laurat dan asam laktat dicampur mampu menurunkan mikroba cemaran pada produk udang yang disimpan pada suhu refrigerator 4°C selama penyimpanan hampir satu bulan.

Efek sinergi antimikroba asam lemak dengan asam organik telah dilaporkan oleh Posorske (1984), namun belum ditemukan publikasi yang melaporkan efek sinergi dari asam-asam organik dengan asam lemak dari minyak nabati. Diharapkan asam lemak hasil fermentasi minyak nabati dan metabolit yang dihasilkan oleh biakan mikroba selama fermentasi dapat melengkapi keunggulan dari minyak nabati fermentasi dalam penggunaannya sebagai bahan pengawet pangan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini membuktikan bahwa biji-bijian mengandung lemak dapat diekstraksi secara enzimatik menggunakan biakan mikroba, khususnya *Bacillus subtilis* dan *Candida rugosa*, menjadi minyak nabati bermutu tinggi dengan kadar asam lemak bebas dan sterol yang sangat rendah, sehingga dapat dipromosikan sebagai produk minyak nabati yang menyehatkan dan alamiah ditinjau dari aspek cita-rasa, aroma dan tampilannya. Pemisahan fasa minyak dari fasa protein dan air dapat dilakukan secara cukup sempurna menggunakan proses sentrifugasi dengan waktu yang pendek. Dengan kualitas dan penampilan yang lebih baik dengan daya simpan cukup lama, minyak nabati dari kacang tanah dapat ditampilkan sebagai produk minyak nabati bermutu tinggi, namun perlu ditingkatkan lagi cara ekstraksinya menggunakan teknik enzimatik yang lebih spesifik kelarutannya dalam media minyak dan dimurnikan secara lebih baik menggunakan beberapa macam absorban.

UCAPAN TERIMA KASIH

Diucapkan terima kasih kepada Dr Joko Sulisty, M.Agr atas bantuan sehingga penelitian ini dapat terlaksana, serta kritik dan saran dalam penulisan makalah.

DAFTAR PUSTAKA

- Bailey AE. 1995.** *Industrial oil and fat product*. Products and Application Technology 5th edition. YH Hui (Ed.). Pinterscholastic Publishing Inc. New York.
- Cowan ST. 1981.** *Manual for Identification of Medical Bacteria*. 6th Ed. Cambridge University Press. Cambridge. London.
- Folch J, M Lees and GH Sloane Stanley. 1957.** Enzymatic Colorimetric Method for Monotest Cholesterol. *J. Biol. Chem. Soc.* **226**, 496-509.
- Ghosh S and DK. Bhattacharyya. 1995.** Utilization of acid oils in making valuable fatty products by microbial lipase technology. *Journal of American Oil Chemistry Society* **72(12)**, 1541-1544.
- Ketaren S. 1986.** *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Linko YY, M Lamsa, A Huhtala and P Linko. 1994.** Lipase catalysed transesterification of rapeseed Oil and 2-Ethyl-1-Hexanol. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **71(12)**, 1411-1414.
- Oh DH and DL Marshall. 1994.** Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurat with organic acid. *J. Food Sci.* **59(6)**, 1258-1261.
- Padley FB. 1984.** New Development in Oils and Fats. *Chem. Ind.* **22**, 788-792.
- Posorske LH. 1984.** Industrial scale application of enzyme to the fats and oil industry. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **61(11)**, 1758-1760.
- Purwastyastuti. 2007.** Makan Sembarangan Picu Produksi Kolesterol. Press Release Seputar Indonesia Jum'at 27/07/2007. <http://www.pedulikolesterol.com>. Diakses 25 Juni 2008.
- Rondang T. 2006.** *Buku Ajar Teknologi Oleokimia*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Sumatra Utara. <http://e-course.usu.ac.id>. Diakses 25 Juni 2008.
- Sulistyo J, YS Soeka, E Triana dan RNR Napitupulu. 1999.** Penerapan Teknologi Fermentasi pada Bioproses "Fermikel". *Berita Biologi* **4(5)**, 273-279.
- Sulistyo J, YS Soeka dan R Handayani. 2000.** Bioprocessing of fatty acid esters by application of enzymatic technology. *Prosiding Seminar TTG*. UNPAD-BP-TTG-LIPI. November.
- Winarno FG. 1987.** *Enzim Pangan*. Gramedia. Jakarta.