

**DEGRADASI IKATAN GLIKOSIDA PADA KEDELAI DENGAN INOKULASI
MIKROORGANISME UNTUK SUPLEMEN MAKANAN TINGGI ISOFLAVON
(KAJIAN JENIS DAN PERSENTASE MIKROORGANISME)**

**DE-GRADATION OF SOYBEAN GLYCOSIDE INOCULATED WITH MICROORGANISM
FOR FOOD SUPPLEMENT HIGH ISOFLAVONE CONTENT
(STUDY OF MICROORGANISM TYPE AND PERCENTAGE)**

Windra Wisesa*, Sri Kumalaningsih, Ika Atsari Dewi
Jurusan Teknologi Industri Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran No. 1 Malang 65145
*email: windra.wisesa@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mendapatkan persentase inokulum mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cerevisiae* untuk proses degradasi ikatan glikosida kedelai sebagai suplemen makanan tinggi isoflavon. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak pola tersarang dengan faktor utama adalah jenis mikroorganisme dan faktor tersarang adalah persentase mikroorganisme. Analisa yang digunakan adalah analisa total genistein dan analisa total flavonoid. Data diolah dengan menggunakan analisa statistika ANOVA dan analisa Homogenitas tuckey. Starter diuji total mikroorganisme sebelum fermentasi untuk mengetahui starter dapat memenuhi standar minimum untuk fermentasi. Setelah dilakukan fermentasi, hasil diuji total flavonoid untuk membandingkan apakah ada perubahan nilai dari sebelum dan sesudah fermentasi. Hasil menunjukkan adanya perubahan dengan ditunjukkannya penurunan nilai total flavonoid pada masing-masing jenis mikroorganisme dan tiap persentase. Persentase terbaik terpilih berdasarkan kandungan genistein tertinggi yang mewakili peningkatan tingkat degradasi isoflavon dari ikatan glikosida. Nilai terbaik pada mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* adalah dengan penambahan starter sebesar 15% (v/b), sedangkan nilai terbaik pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* adalah dengan penambahan starter sebesar 10% (v/b).

Kata Kunci : Kedelai, Fermentasi, Isoflavon dan Glikosida

Abstract

The aim of this study is to obtain the percentage of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* inoculum to degrade glycoside bond from soybean for the production of food supplement with high isoflavone content. The nested random design was used to carry out. The percentage of microorganism were nested on the microorganism. The total genistein and total flavonoid are then analysed. The data is processed using the ANOVA statistical analysis and the Tuckey homogeneity analysis. The starter culture was analysed before the fermentation process begun to verify whether the total content of microorganism could meet the minimum standard of fermentation. After the fermentation process, the total flavonoid content was tested to see whether there is a difference between before and after fermentation. Results show that the total amount of flavonoid decreases in each type of microorganism and each percentage. The best percentage is then picked based on the highest genistein content to reflect the degradation of isoflavone from the glycoside bond. The best result for *Lactobacillus plantarum* was 15% (v/w), whereas the best result for *Saccharomyces cerevisiae* was at 10% (v/w).

Keywords: Soybean, Fermentation, Isoflavone, and Glycoside

Pendahuluan

Bahan alami yang mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi manusia terkandung di dalam jenis kacang-kacangan terkhususnya *familia Leguminosae* (Kumalaningsih *et al.*, 2004). Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) termasuk di dalam

familia *Fabaceae*, genus *Glycine max*, dengan nama spesies *Glycine max* (L.) Merrill atau *Glycine soya* Benth (Rukmana dan Yudirachman, 2014). Kedelai menjadi bahan yang potensial untuk diolah lebih lanjut dengan kandungan gizi yang

bermanfaat bagi tubuh antara lain senyawa isoflavon.

Kandungan isoflavon kedelai tertinggi terdapat pada hipokotil dan selebihnya terdapat pada kotiledon yang akan menjadi daun pertama. Isoflavon pada biji kedelai terdapat dalam bentuk glikosida (terikat pada molekul gula) oleh karena itu ikatan tersebut perlu dipisahkan. Pemisahan dapat dilakukan oleh mikroorganisme melalui proses fermentasi. Secara umum, fermentasi merupakan perubahan gradual oleh enzim dari beberapa mikroorganisme, khamir, dan kapang. Perubahan kimia dari fermentasi antara lain adalah dekomposisi pati gula menjadi alkohol dan karbon dioksida (Hidayat, 2006). Isoflavon yang tidak terikat dengan gula disebut dengan isoflavon aglikon (Muchtadi, 2012). Sejauh ini mikroorganisme yang digunakan untuk memecahkan glikosida dilakukan oleh mikroorganisme jenis *Aspergillus oryzae* (Adhiansyah, 2014), *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus lactis* (Kumanalaningsih *et al.*, 2004).

Pemisahan senyawa glikosida pada isoflavon, menyebabkan aktifitas antioksidan isoflavon terhadap tubuh yang lebih tinggi dan tingkat bioavailabilitas terhadap tubuh yang meningkat (Gyorgy *et al.*, 1964 dalam Istiani, 2010). Kandungan isoflavon di dalam kedelai antara lain adalah deidzein, glisitein dan genistein (Setchell *et al.*, 2001 dalam Fiechter, 2010). Araújo (2013) menuliskan ada aspek positif dari isoflavon yaitu dapat menanggulangi masalah kesehatan manusia seperti kemampuan mengurangi resiko penyakit kardiovaskular, *atherosclerotic*, penyakit *haemolytic*, pengurangan masalah osteoporosis, permasalahan *menopause*, kandungan kolesterol darah, penekanan pertumbuhan hormon penyebab kanker sel payudara, penekanan sel kanker prostat dan peningkatan aktivitas antioksidan dalam tubuh manusia. Isoflavon juga memiliki sifat anti kanker dan efek terhadap siklus sel dan kontrol pertumbuhan sel.

Bahan dan Metode

Alat yang digunakan adalah timbangan digital (Denver Instrumen M-310), Autoklaf (HL-36 AE Himaraya, Jepang), inkubator (Binder DB53 Jerman), grinder (Panasonic

MX-AC400), inkubator (Binder DB53 Jerman), *rotarry evaporator* (IKA RV10 Digital), *Waterbath* (IKA HB10 digital), HPLC (Agilent 1100 Series), Kolom (Merck LiChrospher-100 RP-18 2 50x4mm), spektrofotometer visible (Thermo Genesys 10 series) dan timbangan digital (Denver Instrumen M-310).

Bahan yang digunakan untuk proses pembuatan suplemen adalah kedelai impor dari Primer Koperasi Produsen Tempe Tahu Indonesia Bangkit Usaha di sentra pembuatan tempe Sanan, Kota Malang. Mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* didapatkan dari Laboratorium Bioindustri Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Universitas Brawijaya. Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* didapatkan dari Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. *MRS agar*, *MRS broth*, *potato dextrose agar*, *potato dextrose broth*, aquades, gula, susu skim, aluminium foil, plastik *wrapped* dan etanol teknis yang didapatkan dari Toko Makmur Jaya, Kota Malang.

Proses pembuatan stok kultur adalah:

1. Mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* ditumbuhkan dalam media *MRS agar* miring steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* ditumbuhkan dalam media *potato dextrose agar* miring steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
2. Stok kultur agar miring disimpan dalam refrigerator suhu 2-3°C dan dilakukan regenerasi 1 minggu sekali.

Proses pembuatan kultur starter adalah:

1. 1 ose agar isolat diambil dari stok agar miring.
2. Secara aseptis diinokulasikan ke dalam media kultur MRSB untuk *Lactobacillus plantarum* dan PDB untuk *Saccharomyces cerevisiae* hingga padatan kultur terlepas.
3. Dihomogenisasi dengan vortex
4. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator

Proses pembuatan suplemen makanan adalah:

1. Mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* ditumbuhkan dalam media *MRS agar* miring steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* ditumbuhkan dalam media *potato dextrose agar* miring steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Stok kultur agar miring disimpan dalam refrigerator suhu 2-3°C dan dilakukan regenerasi 1 minggu sekali.

Proses ekstraksi dengan metode ekstraksi adalah:

1. Kedelai fermentasi ditimbang 100 gram dicampurkan dengan etanol teknis dan direndam selama 24 jam dengan kondisi tidak terkena sinar.
2. Rendaman kedelai terfermentasi disaring dengan kertas saring halus dan filtrat ditampung.
3. Perendaman dan penyaringan dilakukan sebanyak tiga kali.
4. Filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* selama 20 menit dengan kondisi suhu 50 °C dan rotasi 100 RPM.

Pengujian dibagi menjadi pengujian total mikroorganisme, total flavonoid dan pengujian total genistein. Proses pengujian dengan total mikroorganisme adalah:

1. Mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* dalam kultur agar didapatkan dari Laboratorium Bioindustri, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya dan Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* didapatkan dari Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Jurusan Teknologi Hasil Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.
2. Mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* ditumbuhkan dalam media *MRS agar* miring steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* ditumbuhkan dalam media *potato dextrose agar* miring steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
3. Stok kultur agar miring disimpan dalam refrigerator suhu 2-3°C dan dilakukan regenerasi 1 minggu sekali.
4. Hitung angka TPC dalam 1 ml dengan mengalikan jumlah koloni rata-rata dengan faktor pengenceran yang

digunakan dengan satuan colony forming unit/ ml atau koloni/ml

Proses pengujian dengan total flavonoid dilakukan dengan metode yang dilakukan oleh Shah (2015) dengan modifikasi pelarut etanol. Proses pengujian sebagai berikut:

1. Persiapan pelarut dengan AlCl₃ 2% (dilarutkan di dalam etanol PA)
2. Persiapan larutan standar quercetin dengan pelarut AlCl₃ 2% sesuai dengan persentase yang disiapkan
3. Pengukuran larutan standar dengan perbandingan adsorbansi dan konsentrasi
4. Persiapan sampel 1ml ditambahkan AlCl₃ 2%
5. Sampel divorteks sebentar dan didiamkan selama 1 jam untuk pengendapan padatan
6. Larutan bening yang terdapat di atas diambil menggunakan mikropipet dan diukur adsorbansinya
7. Hitung nilai konsentrasi berdasarkan nilai adsorbansi dan kurva standar
8. Kondisi Spektrofotometri Visible:
 - a. Panjang Gelombang: 415 nm
 - b. Larutan standar: Quercetin
 - c. Konsentrasi larutan standar:
 - i. 20 µg/mL
 - ii. 40 µg/mL
 - iii. 60 µg/mL
 - iv. 80 µg/mL
 - v. 100 µg/mL

Hasil dan Pembahasan Analisa Bahan Baku

Analisa bahan baku dilakukan dengan cara mengukur kadar total flavonoid dan total genistein yang terkandung dalam bahan baku kedelai yang dihaluskan dan ditambahkan bahan penunjang fermentasi. Bahan penunjang fermentasi yang ditambahkan adalah susu skim sebanyak 5% (v/b) dari berat bahan dan gula pasir sebanyak 1% (b/b) dari berat bahan.

Bahan baku dipersiapkan dengan melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan proses pengentalan ekstrak dengan *rotary evaporator*. Analisa total flavonoid dan total genistein dilakukan sesuai dengan metode analisa yang dilakukan untuk hasil kedelai fermentasi. Hasil pengukuran kadar total flavonoid dan total genistein disajikan dalam **Tabel 1**. Berdasarkan penelitian

yang dilakukan oleh Asih (2009), kedelai yang telah diekstrak dan dikentalkan dalam bentuk larutan berwarna kuning memiliki kandungan flavonoid dan isoflavon setelah melalui uji kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, spektrofotometri visible dan spektrofotometri inframerah. Tujuan dilakukannya pengukuran terhadap total flavonoid dan total genistein terhadap bahan baku adalah sebagai pembanding kandungan antara kedelai yang belum melalui proses fermentasi dengan kedelai yang telah melalui proses fermentasi oleh starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* dan starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae*.

Tabel 1. Rerata Total Flavonoid dan Total Isoflavon Bahan Baku Kedelai

Nilai Nutrisi	Hasil Uji
Total Flavonoid ($\mu\text{g/mL}$)	245,6727
Total Genistein (ppm)	5,4207

Analisa Ekstrak Kedelai Fermentasi Analisa Total Mikroorganisme

Analisa total mikroorganisme dilakukan terhadap starter sebelum dilakukan proses fermentasi. Tujuan dari analisa total mikroorganisme adalah mengetahui bahwa starter yang dipersiapkan dapat digunakan sebagai starter dalam fermentasi dengan satuan CFU/mL. Jay *et al.*, (2005) menuliskan standar minimum starter kultur mikroorganisme dalam proses fermentasi adalah 10^6 CFU/mL. Proses pengujian total mikroorganisme harus

dilakukan secara aseptis untuk mengurangi kontaminasi pada hasil uji. Hasil rerata analisa nilai total mikroorganisme disajikan bersama dengan analisa statistika pada **Tabel 2.**

Analisa statistika melalui proses perhitungan anova menunjukkan tidak terdapat beda nyata antara jenis mikroorganisme starter *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Tidak berbeda nyata antar jenis mikroorganisme starter ini mengakibatkan pemilihan mikroorganisme terbaik tidak dapat dilakukan karena kedua jenis mikroorganisme dapat dianggap sama baiknya. Berdasarkan perhitungan statistika homogenitas tukey menunjukkan adanya beda nyata pada beberapa bagian pada setiap persentase. Berdasarkan **Tabel 2** dapat disimpulkan bahwa nilai total mikroorganisme tertinggi pada starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* terdapat pada persentase 20% (v/b) dengan nilai $2,78 \times 10^{10}$ CFU/mL. Dikarenakan antara persentase 20% dan 10% tidak nyata, maka dapat dipilih persentase antara kedua persentase tersebut. Nilai terendah analisa total mikroorganisme terdapat pada persentase 5% (v/b) dengan nilai $5,57 \times 10^9$ CFU/mL. Nilai total mikroorganisme tertinggi pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada persentase 20% (v/b) dengan nilai $2,35 \times 10^{10}$ CFU/mL, pada nilai terendah analisa total mikroorganisme terdapat pada persentase 5% (v/b) dengan nilai $1,33 \times 10^{10}$ CFU/mL. Seluruh nilai

Tabel 4.2. Rerata Total Mikroorganisme

Jenis Mikroorganisme	Perlakuan		Total Mikroorganisme (CFU/mL)	Notasi*
	Persentase (%) (v/b)			
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5		$5,57 \times 10^9$ *	a
	10		$2,72 \times 10^{10}$	c
	15		$1,57 \times 10^{10}$	b
	20		$2,78 \times 10^{10}$ **	c
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5		$2,06 \times 10^{10}$	ab
	10		$1,33 \times 10^{10}$ *	a
	15		$1,60 \times 10^{10}$	ab
	20		$2,35 \times 10^{10}$ **	b

Keterangan : Notasi merupakan hasil analisa statistik. Huruf tunggal menyatakan berbeda nyata dan notasi dengan dua huruf menyatakan tidak berbeda nyata antar kedua huruf tersebut
*) Nilai terendah
**) Nilai tertinggi

Berdasarkan **Tabel 2** dapat disimpulkan bahwa nilai total mikroorganisme tertinggi pada starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* terdapat pada persentase 20% (v/b) dengan nilai $2,78 \times 10^{10}$ CFU/mL. Dikarenakan antara persentase 20% dan 10% tidak nyata, maka dapat dipilih persentase antara kedua persentase tersebut. Nilai terendah analisa total mikroorganisme terdapat pada persentase 5% (v/b) dengan nilai $5,57 \times 10^9$ CFU/mL. Nilai total mikroorganisme tertinggi pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada persentase 20% (v/b) dengan nilai $2,35 \times 10^{10}$ CFU/mL, pada nilai terendah analisa total mikroorganisme terdapat pada persentase 5% (v/b) dengan nilai $1,33 \times 10^{10}$ CFU/mL. Seluruh nilai hasil analisa total mikroorganisme yang dilakukan telah memenuhi standar minimal nilai total mikroorganisme. Setelah nilai total mikroorganisme diketahui, maka fermentasi terhadap kedelai yang telah dihaluskan dapat dilakukan dengan starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* dan starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* yang telah dipersiapkan.

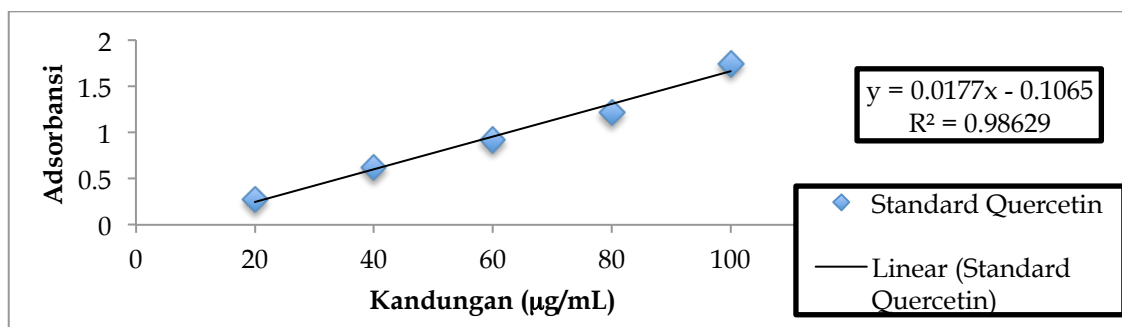
Analisa Total Flavonoid

Analisa total flavonoid dilakukan untuk mengetahui nilai total flavonoid yang terkandung pada setiap bahan setelah dilakukan. Metode analisa yang digunakan adalah dengan metode spektrofotometri (Shah, 2015). Metode spektrofotometri hanya dapat mengukur adsorbansi bahan pada panjang gelombang tertentu. Maka pembuatan kurva standar perlu dilakukan sebagai pembanding antara nilai adsorbansi dan kandungan flavonoid dalam satuan $\mu\text{g/mL}$. Larutan standar flavonoid yang

digunakan adalah *quercetin hydrate* dengan pelarut AlCl_3 yang telah dipreparasi menggunakan etanol. Rijke (2005) mengungkapkan bahwa senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang dapat tersubstitusi.

Analisa total flavonoid dimulai dengan pembuatan kurva standar dan persamaan linear kurva. *Quercetin hydrate* diukur dengan timbangan analitik sebesar 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g/mL}$ dan masing-masing dilarutkan kedalam larutan AlCl_3 etanol sebanyak 1 mL. Masing-masing larutan diukur nilai adsorbansinya dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 415 nm kemudian dicatat. Hasil nilai adsorbansi yang telah didapatkan dibandingkan dengan nilai kandungan *quercetin hydrate*/mL dan didapatkan kurva standar beserta persamaan linear kurva tersebut. Kurva standar quercetin dapat diketahui pada **Gambar 1**.

Setelah dilakukan pembuatan kurva standar quercetin, maka analisa total flavonoid dapat dilanjutkan pada bahan kedelai fermentasi. Pengujian total flavonoid dilakukan setelah sampel melalui proses fermentasi, proses ekstrak dengan pelarut etanol dan proses pengentalan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C pada kecepatan rotasi 100 RPM. Hasil ekstrak kental kedelai fermentasi berwarna kuning menunjukkan adanya kandungan flavonoid. Hasil ekstrak berwarna kuning sesuai dengan tulisan Indriani (2010) yaitu flavonoid dapat ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, serta biji-bijian dengan warna kuning, aroma yang sangat tajam, dapat larut di dalam air dan mudah terurai pada suhu tinggi.



Gambar 1. Kurva Standar *Quercetin*

Hasil kental ekstrak kedelai fermentasi ditambahkan larutan etanol yang telah direaksikan dengan senyawa $AlCl_3$ dengan konsentrasi sebesar 2% (b/v). Pemberian larutan etanol $AlCl_3$ dimaksudkan untuk mengendapkan larutan ekstrak selain senyawa flavonoid pada sampel yang akan diujikan agar larutan dapat lebih jernih dan nilai adsorbansi yang diukur dapat lebih stabil. Proses pengendapan larutan dilakukan dengan cara didiamkan selama 60 menit. Setiap sampel yang diujikan dilakukan dengan cara yang sama.

Larutan ekstrak fermentasi kedelai yang telah direaksikan diambil bagian atas larutan. Larutan tersebut berwarna kuning dan tidak terlihat adanya padatan terlarut. Larutan tersebut dengan hati-hati dipindahkan dari tabung reaksi ke dalam cuvet 1 mL dan dimasukkan ke dalam spektrofotometri *visible*. Spektrofotometri *visible* dikondisikan sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Shah (2015). Hasil adsorbansi dapat diketahui pada layar spektrofotometri *visible* dan nilai adsorbansi dapat didokumentasikan. Setiap sampel dilakukan dengan cara yang sama hingga seluruh nilai adsorbansi tiap sampel terdokumentasi.

Setelah mengukur dan mengetahui nilai adsorbansi pada setiap sampel maka dapat dilakukan perhitungan dengan membandingkan nilai adsorbansi yang telah diukur dengan persamaan kurva linear yang telah didapatkan dari kurva standar *quercetin*. Hasil perhitungan didapatkan dalam satuan $\mu g/mL$. Data

rerata nilai total flavonoid dalam satuan $\mu g/mL$ dapat diketahui pada **Tabel 3**.

Pada **Tabel 3** menunjukkan hasil rerata analisa total flavonoid pada persentase tiap jenis mikroorganisme starter dan notasi data statistika homogenitas tuckey. Pada masing-masing jenis mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cerevisiae* juga dapat diketahui nilai total flavonoid tertinggi dan nilai total flavonoid terendah. Nilai total flavonoid tertinggi pada jenis starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* terdapat pada persentase 10% (v/b) dengan nilai 255,4614 $\mu g/mL$, nilai total flavonoid terendah pada stater mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* terdapat pada persentase 15% (v/b) dengan nilai 150,0753 $\mu g/mL$. Dibandingkan dengan nilai total flavonoid yang dimiliki bahan baku terjadi kenaikan kandungan total flavonoid pada persentase tertinggi dari 207,6648 $\mu g/mL$ menjadi 255,4614 $\mu g/mL$. Persentase terendah terjadi penurunan nilai total flavonoid dari 207,6648 $\mu g/mL$ menjadi 150,0753 $\mu g/mL$. Masing-masing dari persentase tertinggi dan terendah menunjukkan adanya perbedaan nyata signifikan, sehingga persentase tersebut tidak memiliki pembandingan dengan persentase lainnya.

Nilai total flavonoid tertinggi pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada persentase 5% (v/b) dengan nilai 298,3239 $\mu g/mL$, nilai total flavonoid terendah pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces*

Tabel 3. Rerata Kandungan Total Flavonoid

Perlakuan		Total Flavonoid ($\mu g/mL$)	Notasi*
Jenis Mikroorganisme	Persentase (%)		
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5	192,431	ab
	10	255,461**	c
	15	150,075*	a
	20	207,665	bc
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5	298,324**	b
	10	171,092	a
	15	115,499*	a
	20	157,382	a

Keterangan: Notasi merupakan hasil analisa statistik. Huruf tunggal menyatakan berbeda nyata dan notasi dengan dua huruf menyatakan tidak berbeda nyata antar kedua huruf tersebut

*) Nilai terendah

**) Nilai tertinggi

cerevisiae ada pada persentase 15% (v/b) dengan nilai 115,4991 µg/mL. Dibandingkan dengan nilai total flavonoid yang dimiliki bahan baku terjadi kenaikan kandungan total flavonoid pada persentase tertinggi dari 207,6648 µg/mL menjadi 298,3239 µg/mL. Persentase terendah terjadi penurunan nilai total flavonoid dari 207,6648 µg/mL menjadi 115,4991 µg/mL. Winkel (2006) menuliskan bahwa proses terhadap jenis flavonoid juga dapat menyebabkan perubahan struktur menjadi jenis flavonoid lainnya seperti isoflavon. Nilai total flavonoid digunakan sebagai informasi tambahan pada persentase terbaik yang akan terpilih.

Analisa Total Genistein

Analisa total genistein juga dilakukan untuk mengetahui kenaikan kandungan genistein setelah dilakukan fermentasi. Bentuk bahan yang dianalisa dalam bentuk cairan kental berwarna kuning tua. Pengujian dilakukan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya. Hasil pengujian total genistein disajikan dalam satuan ppm. Nilai rerata total genistein dan notasi perhitungan statistika dapat diketahui pada **Tabel 4**. Pada tabel tersebut juga diketahui nilai total genistein tertinggi dan terendah pada setiap jenis mikroorganisme.

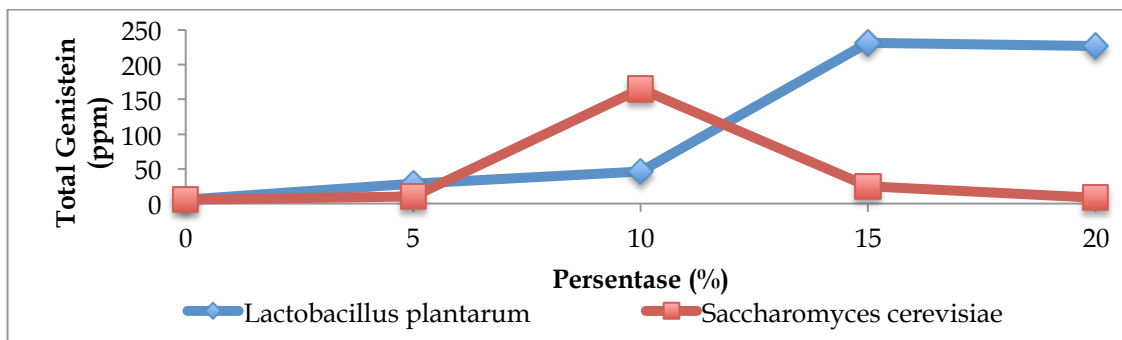
Berdasarkan data yang disajikan **Tabel 4** nilai total genistein tertinggi pada starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* terdapat pada persentase 15%

(v/b) dengan nilai 231,033 ppm, nilai total genistein terendah pada starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* terdapat pada persentase 5% (v/b) dengan nilai 28,4 ppm. Nilai total genistein tertinggi pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada persentase 10% (v/b) dengan nilai 164,770 ppm, nilai total genistein terendah pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada persentase 20% (v/b) dengan nilai 8,513 ppm. Jika dibandingkan dengan nilai total genistein bahan baku yaitu 5,4207 ppm, maka seluruh hasil analisa total genistein pada kedelai fermentasi mengalami kenaikan. Kenaikan kandungan total genistein terjadi karena mikroorganisme membantu melepaskan ikatan isoflavon glikosida menjadi aglikon. Dalam kasus ini mikroorganisme membantu merubah struktur genistin yang terikat dengan gugus gula (glikosida) menjadi genistein yang merupakan isoflavon yang tidak terikat dengan gugus gula (aglikon). Hasil penelitian ini diperkuat dengan penelitian oleh Rowland, et al. (2003) yang menyatakan fermentasi terhadap produk kedelai menyebabkan terlepasnya molekul gula dari glikosida isoflavon yaitu genistin menghasilkan isoflavon aglikon yaitu genistein. Grafik rerata total genistein pada setiap jenis starter disajikan pada **Gambar 2**.

Tabel 4. Rerata Kandungan Total Genistein

Perlakuan		Total Genistein (ppm)	Notasi*	
Jenis Mikroorganisme	Persentase			
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5	28,400*		a
	10	46,233		b
	15	231,033**	a	d
	20	226,900		c
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5	10,147		b
	10	164,770**		d
	15	25,387	b	c
	20	8,133*		a

Keterangan: Notasi merupakan hasil analisa statistik. Huruf tunggal menyatakan berbeda nyata dan notasi dengan dua huruf menyatakan tidak berbeda nyata antar kedua huruf tersebut
 *) Nilai terendah
 **) Nilai tertinggi



Gambar 2. Grafik Rerata Total Genistein Setelah Fermentasi

Tren yang ditunjukkan pada **Gambar 2** menunjukkan adanya kenaikan jumlah total genistein pada starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* dari persentase 0% ke 15% (v/b). Pada persentase 15% (v/b) ke persentase 20% (v/b) menunjukkan adanya penurunan. Pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* terdapat kenaikan dari persentase 0% (v/b) ke persentase 10% (v/b), kemudian terjadi penurunan dari persentase 5% ke 15% (v/b). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Adhiansyah (2014) bahwa fermentasi dapat meningkatkan kadar isoflavon aglikon dari bahan baku kedelai yang tidak melalui proses fermentasi. Chen (2013) menuliskan aktifitas degradasi oleh *Lactobacillus plantarum* pada protein pada kacang kedelai lebih tinggi dibandingkan dengan mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* karena mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* ini tidak hanya mendegradasi gula, namun protein pada kedelai juga didegradasi menjadi asam amino sulfur.

Pemilihan Perlakuan Terbaik Berdasarkan Hasil Analisa

Pemilihan persentase terbaik dilakukan berdasarkan nilai kandungan total genistein tertinggi. Pada keseluruhan nilai genistein pada kedelai fermentasi terjadi kenaikan, maka nilai genistein mewakili tingkat degradasi isoflavan dari ikatan glikosida. Semakin tinggi kenaikan nilai genistein sebelum dilakukan fermentasi sebanding dengan kenaikan tingkat degradasi isoflavan glikosida. Pengujian nilai total mikroorganisme digunakan sebagai persyaratan minimum starter mikroorganisme sebelum dilakukan proses fermentasi. Nilai total flavonoid

digunakan sebagai data pembandingan mikroorganisme berhasil terdegradasi karena proses fermentasi. Nilai total flavonoid juga digunakan sebagai informasi tambahan untuk suplemen makanan.

Perlakuan terbaik jenis mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* terdapat pada nilai total genistein tertinggi yaitu persentase 15% (v/b) dengan nilai total genistein 231,033 ppm. Nilai total mikroorganisme pada persentase 15% (v/b) adalah $1,57 \times 10^{10}$ CFU/mL dan nilai total flavonoid adalah 150,0753 $\mu\text{g/mL}$. Perlakuan terbaik jenis mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada nilai total genistein tertinggi pada persentase 10% (v/b) dengan nilai 164,770 ppm. Nilai total mikroorganisme pada persentase 10% (v/b) adalah $1,33 \times 10^{10}$ CFU/mL. Nilai total flavonoid pada persentase 10% (v/b) adalah 171,0923 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil uji total genistein kedua jenis mikroorganisme didapatkan nilai total genistein pada kedelai fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* lebih tinggi dibandingkan mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae*. Terpilih mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* sebagai jenis mikroorganisme terbaik.

Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan penambahan persentase inokulum mikroorganisme berpengaruh nyata pada proses degradasi isoflavan dari ikatan glikosida kedelai dan peningkatan kandungan isoflavan aglikon. Persentase inokulum mikroorganisme terbaik berdasarkan nilai genistein tertinggi. Nilai genistein pada seluruh hasil fermentasi memiliki peningkatan, maka kenaikan nilai genistein mewakili kenaikan tingkat

degradasi isoflavon dari ikatan glikosida kedelai. Persentase terbaik terpilih berdasarkan kandungan genistein tertinggi. Starter mikroorganisme jenis *Lactobacillus plantarum* adalah dengan penambahan starter sebesar 15% (v/b). Nilai terbaik pada starter mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* adalah dengan penambahan starter sebesar 10% (v/b).

Daftar Pustaka

- Adhiansyah, R. 2014. Studi Pembuatan Bahan Pakan Ternak Terfermentasi Berbasis Kulit Ari Kedelai (Kajian Jenis Inokulum dan Waktu Fermentasi). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Araújo M.M., Fanaro, G.B., and Villavicencio, A.L.C.H. 2013. Soybean - Bio-active Compounds : Soybean and Isoflavones - From Farm to Fork. Intech. Croatia. p. 181 - 202.
- Asih, I.A.R.A. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). *Jurnal Kimia* 3 (1): 22-40.
- Fiechter, G. Raba, B. Jungmayr, A, and Mayer, H.K. 2010. Characterization of Isoflavone Composition in Soy-based Nutritional Supplements via Ultra Performance Liquid Chromatography. *Analitica Chimica Acta* 672: 72-78.
- Hidayat, N. Padaga, M.C., dan Suhartini, S. 2006. Mikrobiologi Industri. Andi Press. Yogyakarta. Hal. 3
- Indriani, H., Yahya, A.S., dan Alfiana, A. 2010. Pengembangan Potensi Rambut Jagung (*Zea mays*) dan Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Sebagai Alternatif Terapi Limbah Heral Meluruhkan Batu-Batu Empedu (*Gallstones*) Secara Alamiah. Tesis Magister. Universitas Islam Negri Malang. Malang
- Istiani, Y. 2010. Karakterisasi Senyawa Bioaktif Isoflavon dan uji aktivitas antioksidan dari Ekstrak Etanol Tempe Berbahan Baku Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*). Tesis Magister. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Kumalaningsih, S., Hidayat, A., Ali, M., Utomo, E.P. 2004. Metode Pengeringan Pembuatan Tepung Probiotik "Instan" Yang Tidak Merusak Senyawa Bioaktif. Paten. Universitas Brawijaya, Malang.
- Muchtadi, D. 2012. Pangan Fungsional dan Senyawa Bioaktif. Alfabeta. Bandung.
- Rijke, E. 2005. Trace-level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application in Plants of The *Leguminosae* Family. Universitas Amsterdam. Amsterdam.
- Rowland, I., Faugnan, M., Hoey, L., Wahala, K., Williamson, G., and Cassidy, A., 2003. Bioavailability of Phyto-Esterogens. *The British Journal of Nutrition* 89: 45-58.
- Rukmana, R. dan Yudirachman, H. 2014. Budi Daya dan Pengolahan Hasil Kacang Kedelai Unggul. Nuansa Aulia. Bandung. Hal 17 - 18.
- Shah, R.K. and Yadav, R.N.S. 2015. Qualitative Phytochemical Analysis and Estimation of Total Phenols and Flavonoids in Leaf Extract of *Sarcochlamys Pulcherrima* Wedd. *Global Journal of Bio-science and Biotechnology* 4(1): 81-84.
- Winkel, B.S.J. 2006. The Science of Flavonoids : The Biosynthesis of Flavonoids. Springer. New York. p. 71-95