

## PENGURANGAN RAFINOSA DAN STAKIOSA OLEH *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus plantarum* pada FERMENTASI KEDELAI

(Reducing of Raffinose and Stachyose by *Rhizopus oryzae* and *Lactobacillus plantarum* at Soybean Fermentation)

**Farid Salahudin dan Pramono Putro Utomo**

Baristand Industri Pontianak, Jl. Budi Utomo No. 41 Pontianak 78243

E-mail: farid.salahudin@yahoo.com

Diterima tanggal 05 Maret 2012 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 19 November 2012

**ABSTRAK.** Kedelai (*Glycine max*) adalah salah satu komoditi yang kaya akan protein namun mengandung rafinosa dan stakiosa yang dapat menimbulkan flatulensi (gas berlebihan) dalam tubuh manusia. *Rhizopus oryzae* diketahui dapat mengurangi kadar stakiosa dan rafinosa pada pengolahan tepung kedelai. *Lactobacillus plantarum* juga dapat mengurangi kadar stakiosa pada pengolahan yoghurt dari bahan kedelai. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengurangan rafinosa dan stakiosa pada fermentasi kedelai dengan isolate kombinasi *R. oryzae* dan *L. plantarum*. Penelitian dilakukan dengan menginokulasikan isolat kombinasi *R. oryzae* dan *L. plantarum* pada fermentasi kedelai. Produk fermentasi kedelai kemudian diuji kadar rafinosa dan stakiosanya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi dengan isolat tunggal *R. oryzae* selama 2 hari ( $R_2L_0$ ) dapat menghasilkan tepung kedelai dengan kadar rafinosa dan stakiosa yang rendah serta memiliki warna dan bau yang baik.

**Kata kunci** : fermentasi kedelai , *Lactobacillus plantarum*, rafinosa, *Rhizopus oryzae*, stakiosa

**ABSTRACT.** Soybean (*Glycine max*) has high levels of protein. Furthermore, it also contains raffinose and stachyose, which in high amounts can lead to flatulence. It is known that *Rhizopus oryzae* could reduce the levels of stachyose and raffinose in soybean flour processing. *Lactobacillus plantarum* also could reduce stachyose levels on the processing of yoghurt from soybean. Therefore the aim of this study was to determine the reduction of raffinose and stachyose on soybean fermentation using *R. oryzae* and *L. plantarum* isolates. The study was conducted by using combination of *R. oryzae* and *L. plantarum* isolates in soybean fermentation process in different length of time. The levels of raffinose and stachyose on fermented soybean products then tested. The results of this study showed that fermentation using *R. oryzae* single isolates for 2 days ( $R_2L_0$ ) can produce soybean flour with low levels of raffinose and stachyose. The products also have good color and smell.

**Keywords:** *Lactobacillus plantarum*, raffinose, *Rhizopus oryzae*, stachyose, soybean fermentation

### 1. PENDAHULUAN

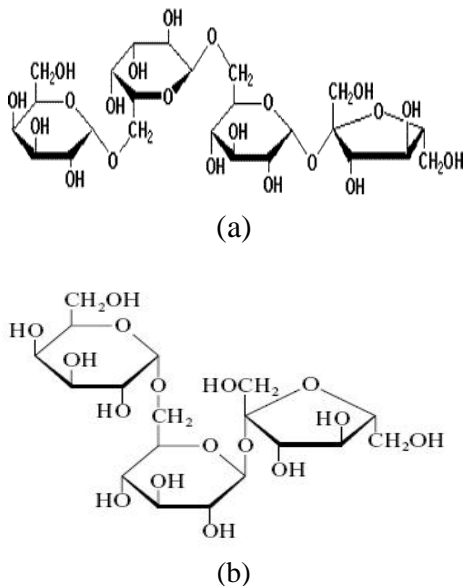
Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu tanaman pertanian utama selain padi dan jagung. Sebagai salah satu sumber protein yang paling potensial kedelai banyak dimanfaatkan untuk pangan. Kandungan protein dalam kedelai berkisar 35-38% yang merupakan jenis kacang-kacangan dengan kandungan

protein tertinggi. Oleh karena itu kedelai banyak dipilih sebagai pengganti susu hewani dan susu rendah laktosa (Puspitasari, 2005).

Selain memiliki kandungan gizi yang lengkap, kedelai juga mengandung antigizi yang dapat menurunkan mutu gizi kedelai. Beberapa antigizi yang ada dalam kedelai merupakan penghambat tripsin dan kimotripsin, hemaglutinin dan lektin , anti

vitamin, asam fitat, saponin, estrogen, lisin-calin serta oligosakarida faktor flatulensi seperti rafinosa dan stakiosa. Semua antigizi tersebut dapat dikurangi dengan dengan pengolahan termal seperti perebusan atau pengukusan, kecuali rafinosa dan stakiosa yang hanya sebagian kecil yang terlarut (Winarno, 1993).

Stakiosa merupakan senyawa tetrasakarida nonreduktif dengan rumus kimia  $C_{24}H_{42}O_{21}$  yang tersusun oleh 3 molekul galaktosa ( $\alpha$ -1-6 galaktosa) dengan 1 molekul fruktosa ( $\alpha$ -1-2 fruktosa). Rafinosa merupakan senyawa trisakarida nonreduktif yang terdiri dari 2 molekul galaktosa dan 1 molekul fruktosa.



Gambar 1. Struktur Stakiosa (a) dan Rafinosa (b)

Kedua oligosakarida yang biasa terdapat pada tanaman *leguminoceae* ini tidak dapat dicerna oleh lambung manusia sehingga akan diteruskan ke usus besar dan mengalami fermentasi. Hasil fermentasi kedua oligosakarida tersebut menghasilkan gas berlebihan dan menyebabkan flatulensi (buang angin) sehingga mengganggu pencernaan. Oleh karena itu, tepung kedelai belum dapat digunakan sebagai bahan baku makanan bayi (Zakaria dan Soesanto, 1996).

Beberapa usaha telah dilakukan untuk mengurangi kandungan stakiosa dan

rafinosa dalam kedelai yang bertujuan untuk meningkatkan daya cerna kedelai. Salah satu teknik tersebut yaitu pengolahan susu kedelai menjadi yogurt (*soy yoghurt*) dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, yang dapat menurunkan 31,5% kandungan stakiosa selama 15 hari pada suhu  $-10^{\circ}C$  (Omogbai *et.al.*, 2005). Penggunaan bakteri asam laktat untuk menurunkan kadar stakiosa juga telah dilakukan pada pembuatan tepung kedelai yaitu dengan menggunakan *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus plantarum*. Perlakuan ini dapat menurunkan kadar stakiosa sebesar 43% selama 3 hari (Duszkiewicz, 1994).

Menurut Komari (1999) pada pengolahan tempe dari bahan baku lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) menggunakan kapang (*Rhizopus oryzae*) dapat menurunkan kadar stakiosa dan rafinosa. *R. oryzae* merupakan salah satu kapang yang bermanfaat untuk pengolahan pangan kedelai. Selama pertumbuhan kapang ini menghasilkan beberapa enzim seperti amilase, lipase, dan protease yang memecah senyawa golongan karbohidrat, lemak dan protein. Enzim protease akan memecah protein menjadi asam amino sehingga mudah diserap oleh usus halus. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian penurunan stakiosa dan rafinosa secara fermentatif baik menggunakan isolate tunggal maupun antara kombinasi *R. oryzae* dan *L. plantarum*.

## 2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kedelai impor yang diperoleh dari pengusaha tempe di Kelurahan Siantan Hilir Pontianak. Isolat *R. oryzae* dan isolat *L. plantarum* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Antar Universitas UGM Yogyakarta. Bahan lain yang digunakan yaitu stakiosa standar (Sigma), Rafinosa (Sigma), Asam asetat (Merk), methanol (Merk), Hexan sulfonat (Merk). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat inkubator, oven pengering, grinder dan alat pengujian yaitu HPLC merk Shimatzu.

### Persiapan Inokulum

Persiapan inokulum *L. plantarum* dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke dalam 500 ml Nutient Broth dan diinkubasikan pada suhu 27<sup>0</sup>C selama 2 hari. Persiapan inokulum *R. oryzae* dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke dalam median PDA dan diinkubasikan selama 2 hari.

### Preparasi substrat kedelai

Kedelai sebanyak 1 kg direndam dalam air selama 12 jam dan dikupas kulit arinya. Kedelai yang sudah dikupas direbus selama 1 jam dan dikondisikan sampai mendekati suhu ruangan. *R. oryzae* (10 petri) diinokulasikan ke dalam kedelai dan diinkubasi sesuai perlakuan. Setelah inkubasi dengan kapang *R. oryzae* selesai ke dalam kedelai diinokulasi dengan *L. plantarum* (100 ml) dan diinkubasi sesuai perlakuan. Fermentasi dihentikan dengan pengeringan dalam oven pada suhu 70<sup>0</sup>C sampai kadar air <7%. Kedelai kering digrinding dengan grinder dan diuji kadar rafinosa dan stakiosanya dengan HPLC.

### Rancangan Penelitian

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah waktu fermentasi dengan *R. oryzae* dan *L. plantarum* seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Keterangan
R <sub>1</sub> L <sub>1</sub>	Fermentasi dengan <i>R. oryzae</i> 1 hari dan dilanjutkan dengan <i>L. plantarum</i> 1 hari
R <sub>1</sub> L <sub>2</sub>	Fermentasi dengan <i>R. oryzae</i> 1 hari dan dilanjutkan dengan <i>L. plantarum</i> 2 hari
R <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	Fermentasi dengan <i>R. oryzae</i> 2 hari dan dilanjutkan dengan <i>L. plantarum</i> 1 hari
R <sub>1</sub> L <sub>2</sub>	Fermentasi dengan <i>R. oryzae</i> 1 hari dan dilanjutkan dengan <i>L. plantarum</i> 2 hari
R <sub>0</sub> L <sub>2</sub>	Fermentasi dengan isolat tunggal <i>L. plantarum</i> selama 2 hari
R <sub>0</sub> L <sub>3</sub>	Fermentasi dengan isolat tunggal <i>L. plantarum</i> selama 3 hari
R <sub>2</sub> L <sub>0</sub>	Fermentasi dengan isolat tunggal <i>R. oryzae</i> selama 2 hari
R <sub>3</sub> L <sub>0</sub>	Fermentasi dengan isolat tunggal <i>R. oryzae</i> selama 3 hari

Penelitian dilakukan dengan 2 kali ulangan dan diuji kadar rafinosa dan

stakiosanya. Sebagai kontrol yaitu biji kedelai (kontrol 1) dan kedelai yang sudah direndam 12 jam dan dihilangkan kulit arinya serta telah direbus selama 1 jam (kontrol 2).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Rafinosa dan Stakiosa

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi dengan isolat kombinasi *R. oryzae* dan *L. plantarum* tidak berpengaruh terhadap kadar rafinosa pada tepung kedelai. Hal ini disebabkan rafinosa sudah terlarut dalam air selama proses pengolahan sebelum inokulasi yaitu proses perendaman 12 jam dan perebusan selama 1 jam. Rafinosa merupakan oligosakarida yang dapat larut dalam pelarut polar yang salah satunya yaitu air. Selama proses perendaman 12 jam terjadi proses penyerapan air oleh biji kedelai dan sebagian rafinosa terlarut sehingga pada saat penirisan sebagian rafinosa ikut terlarut dalam air tirsan. Proses selanjutnya yaitu perebusan selama 1 jam yang meningkatkan kelarutan rafinosa sehingga setelah perebusan semua rafinosa terlarut dalam air rebusan.

Tabel 2. Kadar Rafinosa dan Stakiosa Tepung Kedelai

Perlakuan	Kadar rafinosa (ppm)	Kadar Stakiosa (ppm)
Kontrol 1	455,50	4637,51
Kontrol 2	< 3,17	151,23
R <sub>1</sub> L <sub>1</sub>	< 3,17	13,80
R <sub>1</sub> L <sub>2</sub>	< 3,17	13,76
R <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	< 3,17	13,71
R <sub>2</sub> L <sub>2</sub>	< 3,17	13,67
R <sub>0</sub> L <sub>2</sub>	< 3,17	128,10
R <sub>0</sub> L <sub>3</sub>	< 3,17	92,87
R <sub>2</sub> L <sub>0</sub>	< 3,17	13,75
R <sub>3</sub> L <sub>0</sub>	< 3,17	13,36

Stakiosa juga mengalami penurunan yang cukup besar selama proses perendaman 12 jam dan perebusan 1 jam. Sebagian stakiosa terlarut dalam air rendaman dan air rebusan sehingga kadarnya menurun dari 4637,51 ppm

menjadi 151,23 ppm. Semua perlakuan fermentasi dengan isolat kombinasi *R. oryzae* dan *L. Plantarum* R<sub>1</sub>L<sub>1</sub>, R<sub>1</sub>L<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>L<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>L<sub>2</sub> dapat menurunkan lagi kadar stakiosa dalam tepung kedelai sampai 91,2% yaitu menjadi 13,67-13,80 ppm. Perlakuan dengan isolat tunggal kapang *R. Oryzae* yaitu R<sub>2</sub>L<sub>0</sub> dan R<sub>3</sub>L<sub>0</sub> juga dapat menurunkan kadar stakiosa tepung kedelai sampai 91,2% yaitu menjadi 13,36-13,75 ppm. Hal ini disebabkan kapang *R. oryzae* dapat memecah stakiosa menjadi monomer penyusunnya dengan bantuan enzim  $\alpha$ -galaktosidase sehingga kadar stakiosa tepung kedelai menjadi sangat rendah (Komari, 1999).

Perlakuan fermentasi dengan isolat tunggal bakteri *L. plantarum* yaitu R<sub>0</sub>L<sub>2</sub> dan R<sub>0</sub>L<sub>3</sub> juga dapat menurunkan kadar stakiosa. Perlakuan R<sub>0</sub>L<sub>2</sub> dapat menurunkan kadar stakiosa sampai 15,3% yaitu menjadi 128,10 ppm sedangkan perlakuan R<sub>0</sub>L<sub>3</sub> dapat menurunkan kadar stakiosa sampai 38,5% yaitu menjadi 92,87 ppm. Tabel 2 menunjukkan bahwa semua perlakuan yang menggunakan isolat *R. oryzae* dapat menurunkan kadar stakiosa sampai 91,2% sedangkan perlakuan yang hanya menggunakan isolat *L. plantarum* dapat menurunkan kadar stakiosa sampai 15,3-38,5%. Hal ini disebabkan aktifitas *L. plantarum* dalam memecah stakiosa lebih rendah dibandingkan aktifitas *R. oryzae* sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama.

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya terlihat bahwa perlakuan fermentasi dengan isolat tunggal *R. oryzae* maupun dengan isolat kombinasi *R. oryzae* dengan *L. plantarum* lebih besar pengurangan stakiosanya yaitu 91,2%. Penelitian dengan isolat kombinasi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* hanya pengurangi kadar stakiosa 31,5% (Omogbai, et.al., 2005) sedangkan fermentasi dengan isolat kombinasi *L. plantarum* dan *L. fermentum* hanya mengurangi kadar stakiosa 43% (Duskiewicz, 1994).

### Warna dan Bau Tepung Kedelai

Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi dengan isolat

kombinasi *R. oryzae* dan *L. plantarum* mempengaruhi warna tepung kedelai yang dihasilkan. Perlakuan R<sub>1</sub>L<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>L<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>L<sub>2</sub>, R<sub>0</sub>L<sub>2</sub>, R<sub>0</sub>L<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>L<sub>0</sub> menghasilkan tepung kedelai dengan warna yang tidak kuning yaitu berwarna coklat muda sampai coklat. Selama proses fermentasi terjadi pemecahan senyawa golongan karbohidrat menjadi monosakarida yang sangat rentan mengalami oksidasi sehingga terjadi pencoklatan (Winarno, 1993). Sedangkan perlakuan R<sub>1</sub>L<sub>1</sub> dan R<sub>2</sub>L<sub>0</sub> menghasilkan warna tepung yang sama dengan tepung kedelai biasa yaitu kuning.

Tabel 3. Warna dan bau tepung kedelai

Perlakuan	Warna	Bau
Kontrol 1	Kuning	Normal
Kontrol 2	Kuning	Normal
R <sub>1</sub> L <sub>1</sub>	Kuning	Asam
R <sub>1</sub> L <sub>2</sub>	Coklat muda	Asam
R <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	Coklat muda	Asam
R <sub>2</sub> L <sub>2</sub>	Coklat	Asam
R <sub>0</sub> L <sub>2</sub>	Coklat	Asam
R <sub>0</sub> L <sub>3</sub>	Coklat	Asam
R <sub>2</sub> L <sub>0</sub>	Kuning	Normal
R <sub>3</sub> L <sub>0</sub>	Coklat muda	Asam

Perlakuan fermentasi dengan isolat kombinasi ini juga mempengaruhi bau tepung kedelai yang dihasilkan. Semua perlakuan kecuali R<sub>2</sub>L<sub>0</sub> menghasilkan tepung kedelai dengan bau yang tidak normal (asam). Proses fermentasi dengan *L. plantarum* R<sub>1</sub>L<sub>1</sub>, R<sub>1</sub>L<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>L<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>L<sub>2</sub>, R<sub>0</sub>L<sub>2</sub>, R<sub>0</sub>L<sub>3</sub> akan menghasilkan asam laktat dan beberapa asam organik lain yang menyebabkan tepung kedelai yang dihasilkan menjadi berbau asam. Sedangkan perlakuan tanpa *L. plantarum* yaitu R<sub>3</sub>L<sub>0</sub> juga menghasilkan tepung kedelai yang berbau asam. Hal ini disebabkan pada hari ketiga fermentasi dengan *R. oryzae* telah terbentuk asam-asam organik sehingga menimbulkan bau yang tidak normal (cenderung asam). Perlakuan terbaik yang menghasilkan tepung kedelai dengan kadar rafinosa dan stakiosa yang rendah, bau normal dan warna kuning (normal) yaitu perlakuan R<sub>2</sub>L<sub>0</sub> yaitu perlakuan fermentasi dengan

isolat tunggal *Rhizopus oryzae* selama 2 hari.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan tepung kedelai dengan kadar rafinosa dan stakiosa yang rendah serta warna kuning dan bau normal yaitu perlakuan fermentasi dengan isolat tunggal *R. oryzae* selama 2 hari (R<sub>2</sub>L<sub>0</sub>).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Duszkiewicz-Reinhard, W., E. Gujska dan K. Khan. 1994. Reduction of Stachyose in Legume Flours by Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Science*. 59:115-117.
- Komari.1999. Proses Fermentasi Biji Lamtoro-Gung dengan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 4(1).
- Laboratorium Kimia-Biokimia Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian. 2002. *Kamus Istilah Pangan dan Nutrisi*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Omogbai, B.A., M.J. Ikenebomeh dan S.I. Ojeaburu. 2005. Microbial utilization of stachyose in soymilk yoghurt production. *African Journal of Biotechnology*. 4(9):905-908.
- Puspitasari, H. 2005. *Pengaruh Penyuluhan pada Ibu Tentang Pemberian Susu Rendah Laktosa Terhadap Perilaku Ibu dan Penurunan Peristaltik Usus pada Anak Diare Umur 6-12 Bulan di Ruang Menular Anak RSUD Dr. Soetomo Surabaya*. <http://www.ojs.lib.unair.ac.id/index.php>.
- Winarno, F.G. 1993. *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Zakaria, F.R. dan N.B. Soesanto. 1996. Pengurangan Senyawa Antinutrisi pada Susu Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L*) dan Kacang Tolo (*Vigna unguiculata L*). *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 7 (2).