

PEMBENTUKAN VITAMIN B-12 PADA FERMENTASI KEDELAI DENGAN ISOLAT *Rizophus oryzae* dan *Klebsiella Pneumoniae*

Farid Salahudin

Balai Riset dan Standardisasi Industri Pontianak
Jl. Budi Utomo No. 41 Pontianak Telp. (0561) 884442, 881393
farid.salahudin@yahoo.com

Dikirim : 8 Maret 2016, Diterima setelah perbaikan : 16 Mei 2016

ABSTRACT

Kobalamin (vitamin B-12) is an important nutrition that good for brain and neuron. Usually, kobalamin can found in animal or fish but in tempeh we can found it. In tempeh processing Rhizophus oligosporus was contaminated of Klebsiella pneumoniae and Citobacter freundii and Kobalamin was produced. In other research K. pneumoniae and C. freundii has inoculated in soy bean and could increased the concebration of kobalamin (Keuth S. and B Bisping, 1994. The aim in this research is to know the effect of combinated of K pneumoniae and R. oryzae for concentration of kobalamin in soy bean fermentation. This research was conducted by inoculated the combination isolate and incubated for 1-2 days. The best formula was produced to soya milk. The best formula is 2 days fermentation with combinated isolate R. oryzae and K. pneumoniae.

Key word :fermentation, kobalamin, isolate, R. oryzae, K. pneumoniae

ABSTRAK

Vitamin B-12 (kobalamin) adalah salah satu vitamin yang membantu kerja otak dan syaraf lainnya. Biasanya vitamin B-12 hanya terdapat dalam produk-produk hewani namun dalam tempe ternyata terkandung Vitamin B-12 yang cukup signifikan. Hal ini karena dalam proses pembuatan tempe dengan kapang *Rhizophus oryzae* terkontaminasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Citrobacter freundii*. Penelitian terdahulu disebutkan bahwa K. pneumoniae dan C. freundii dapat meningkatkan konsentrasi vitamin B-12 secara signifikan (Keuth S. dan B Bisping, 1994). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi isolate R. oryzae dan K. pneumoniae terhadap kandungan vitamin B-12 dalam fermentasi kedelai. Penelitian ini dilakukan dengan menginokulasikan isolate dalam kedelai dan diinkubasikan selama 1-2 hari. Perlakuan terbaik selanjutnya dijadikan bahan pembuatan susu kedelai. Perlakuan terbaik yaitu fermentasi dengan kombinasi isolat *R. oryzae* dan *K. pneumoniae* dan diinkubasikan selama 2 hari yang menghasilkan kadar vitamin B12 tertinggi yaitu 1,27ppb

Kata kunci : Fermentasi, vitamin B-12, isolat, *R. oryzae*, *K. pneumoniae*

PENDAHULUAN

Susu merupakan makanan yang penting dalam kehidupan manusia sejak lahir sampai dewasa. Bayi yang baru lahir hanya membutuhkan air susu ibu sebagai sumber energinya sedangkan orang dewasa memerlukan susu sebagai sumber zat gizi terutama asam lemak, protein dan vitaminnya. Selama ini sebagian besar produk susu yang dijual dipasaran merupakan susu hewani (sapi) karena keunggulan kandungan zat gizinya. Namun demikian seiring kebutuhan manusia yang berubah terutama adanya intoleransi laktosa dan intoleransi protein hewani, membuat diperlukan susu yang berasal dari produk nabati seperti kedelai. (Sinuhaji, Atas Baas, 2006).

Keunggulan susu sapi adalah kandungan enzim dan 22 asam amino esensial serta kalsium yang diperlukan tubuh. Selain itu susu sapi juga mengandung berbagai vitamin seperti Vitamin A, C dan B kompleks khususnya Vitamin B12 yang tidak ada dalam produk nabati. Susu sapi juga mengandung CLA (*conjugated linoleic acid*) yang berpotensi sebagai anti kanker. Sementara itu susu kedelai juga memiliki keunggulan karena kandungan protein yang besar serta serat yang baik untuk pencernaan. Selain itu susu kedelai memiliki kandungan lemak 2 persen lebih kecil dibandingkan susu sapi. Susu kedelai juga menyediakan perlindungan tambahan untuk hati dengan *phytochemical*, yang berlimpah dalam susu kedelai. Manfaat terbesar dari susu kedelai adalah kandungan isoflavon yang potensial sebagai anti kanker, membantu penyembuhan penyakit jantung, osteoporosis. Kandungan vitamin dalam susu kedelai juga lengkap seperti vitamin A, D, E, K dan Vitamin B kompleks kecuali Vitamin B12 (Santoso, 1994).

Vitamin B12 merupakan salah satu vitamin dalam golongan vitamin B kompleks yang berperan penting dalam fungsi otak dan syaraf, pembentukan sel darah. Vitamin ini terlibat dalam metabolisme setiap sel tubuh, terutama

pengaruhnya terhadap sintesis dan regulasi DNA serta sintesis asam lemak dan produksi energi. Sumber-sumber alami vitamin B12 adalah produk hewani seperti hati, ikan, susu dan daging. Sedangkan dalam produk nabati belum ditemukan adanya sumber vitamin ini (Yuniati dan Ilmasyhuri, 2012). Penemuan produksi vitamin B12 secara bioteknologi sudah mulai diteliti yang salah satunya menggunakan *Streptomyces rochei* (Selvakumar et.al., 2012)

Selama ini produk yang menjadi andalan asupan vitamin B12 adalah susu sapi karena kandungannya yang lengkap dengan vitamin B yang lain (B kompleks). Namun untuk beberapa kasus orang yang intoleran terhadap laktosa susu sapi tidak dapat dikonsumsi, selain itu anak yang intoleran terhadap protein sapi juga tidak dapat mengkonsumsinya. Oleh karena itu perlu diusahakan produksi vitamin B12 dari produk nabati (Winarno, 1993)

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 dari 35-38% merupakan yang tertinggi dari jenis kacang-kacangan. Oleh karena itu kedelai banyak dipilih sebagai pengganti susu hewani. Kandungan Vitamin B kompleksnya pun lengkap kecuali vitamin B12 (Rukmana dan Yuniarsih, 1996).

Penelitian tentang kedelai telah semakin maju dikarenakan kandungan gizi yang lengkap pada kedelai. Beberapa penelitian tentang kedelai telah dilakukan seperti pada pembuatan miso (Ika Yuli A, dkk, 2015), pembuatan minuman probiotik (Eti Setyaningsing dkk., 2004), kedelai sebagai penurun kolesterol (Fatma Zuhrotun N. dkk., 2007), susu bubuk tempe (Duta Pakerti D. dkk., 2014). Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa dalam proses fermentasi tempe selain fermentasi dengan kapang juga terjadi fermentasi dengan bakteri yaitu pada tahap

perendaman 1 malam (Maria E.K., 2009). Menurut Keuth S. and B Bisping, (1994) pada proses fermentasi tempe kedelai dengan kapang *Rhizopus oligosporus* terjadi pembentukan vitamin B12 yang disebabkan simbiosis kapang dengan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Citrobacter freundii*. Namun waktu pembentukannya belum diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ini untuk mengetahui waktu pembentukan Vitamin B12 sehingga menjadi dasar dalam proses pembuatan minuman kesehatan (Komari,1999).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kedelai, isolat *Rhizopus oligosporus* dari Laboratorium Pangan dan Gizi PAU UGM, *Klebsiella pneumoniae* dari RSCM Jakarta dan bahan penolong dalam pembuatan minuman. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tempat inkubasi, peralatan pengayaan isolat (mikrobiologi), Spray drier (Duta P.D. dan Wahono HS, 2014).

Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dengan merendam kedelai selama 12 jam. Setelah dihilangkan kulit arinya dan dicuci kedelai direbus selama 1 jam. Hasil rebusan ini diinokulasikan isolat dan diinkubasi selama 1-2 hari sesuai perlakuan. Perlakuan penelitian yang dilakukan ini yaitu

K1: isolat *K.pneumoniae* selama 1 hari
 K2: isolat *K.pneumoniae* selama 2 hari
 R1: isolat *R. oligosporus* selama 1 hari
 R2: isolate *R. oligosporus* selama 2 hari
 KR1: isolat *R. oligosporus* dan *K.pneumoniae* selama 1 hari

KR2: isolate *R. oligosporus* dan *K.pneumoniae* selama 2 hari

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Vitamin B12

Penelitian ini dilakukan dengan menginokuasikan *Rhizopus oligosporus* dan *Klebsiella pneumoniae* pada kedelai sehingga menjadi tempe. Hasil penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar Vitamin B12

Perlakuan	Kadar Vit. B-12 (ppb)
K1	1,10
K2	1,12
R1	0,11
R2	0,12
KR1	1,22
KR2	1,27
Kontrol 1 (kedelai)	0,09
Kontrol 2 (tempe)	1,08

Sumber : Laboratorium LPPT UGM

Selama fermentasi kedelai akan mengalami perubahan seperti terombaknya senyawa-senyawa gizi seperti karbohidrat, protein dan lemaknya. Keberadaan enzim amilase menyebabkan terombaknya karbohidrat baik yang sederhana seperti gula maupun yang kompleks seperti pati (amilum). Menurut Komari (1999) *Rhizopus oligosporus* akan meningkatkan kelarutan karbohidrat yang berarti karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air akan terombak menjadi gula sederhana yang larut dalam air.

Enzim lain yang dihasilkan oleh kapang ini enzim protease yang akan merombak protein menjadi monomer penyusunnya yaitu asam-asam aminonya. Protein merupakan molekul raksasa yang tersusun oleh asam amino dalam jumlah yang besar sehingga membentuk struktur benang kusut dan volumenya raksasa bila dibandingkan dengan zat gizi lain seperti karbohidrat dan lemak. Dalam keadaan ini protein sulit dicerna oleh pencernaan manusia. Dengan adanya enzim protease ini protein terombak menjadi senyawa

asam amino sehingga lebih mudah dicerna oleh pencernaan manusia (Komari, 1999).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *R. oligosporus* tidak signifikan menghasilkan Vitamin B12. Hal ini dapat dilihat dari kadar Vitamin B12 perlakuan R1 dan R2 yang tidak berbeda signifikan dengan Kontrol 1 (kedelai). Sedangkan Perlakuan dengan isolate *K. pneumoniae* cukup signifikan menghasilkan Vitamin B 12 yaitu sekitar 1,1 ppb (K1) dan 1,12 ppb (K2). Tetapi perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan Vitamin B12 terbanyak yaitu KR2 yang menghasilkan Vitamin B12 1,27 ppb. Hal ini disebabkan karena *K.pneumoniae* dapat bersimbiose dengan baik dengan *R. oligosporus* sehingga dapat tumbuh dengan baik dan menghasilkan vitamin B12 yang lebih banyak.

Semakin lama fermentasi semakin besar pula vitamin B12 yang dihasilkan yang disebabkan karena proses pembentukan Vitamin B12 mulai pada jam ke-20 dan semakin meningkat sampai jam ke-48. Setelah 48 jam kadar vitamin B12 cenderung stabil. Pada Kontrol2 yang merupakan tempe dengan isolat *R.oligosporus* tanpa tempat inkubasi yang aseptis dapat menghasilkan Vitamin B12 sebesar 1,08 ppb. Hal ini disebabkan inkubasi non aseptip sangat rentan oleh kontaminasi bakteri seperti *K. pneumoniae* dan *Citrobacter freundii* yang dapat mensintesa vitamin B12.

Susu Bubuk Kedelai

Perlakuan terbaik yaitu KR2 dilanjutkan untuk diolah menjadi susu bubuk dengan bahan pengisi susu bubuk sebesar 10%. Hasil pengujian Susu Bubuk kedelai dengan bahan pengisis 10 % seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengujian Susu Kedelai Bubuk

Parameter	Syarat Mutu (SNI Susu Bubuk) Maksimal	Hasil Uji
Logam		
Cu	20 ppm	1,10
Pb	0,3 ppm	<0,02
Hg	0,03 ppm	<0,004
As	0,1 ppm	<0,005
Mikrobiologi		
ALT	5x10 ⁴ kol/g	2x10 ²
coliform	10 APM/g	<3
E. coli	3 APM/g	<3
Salmonella	negatif	negatif

Sumber : Laboratorium LPPT UGM

Susu kedelai bubuk yang dihasilkan penelitian ini dapat memenuhi persyaratan cemaran Logam berbahaya dan cemaran mikrobiologi sesuai SNI Susu Bubuk sehingga aman untuk kesehatan. Hal ini disebabkan selama proses pembuatan susu kedelai bubuk tidak menggunakan alat atau bahan yang mengandung logam berbahaya serta melalui proses sterilisasi yang meminimalisis cemaran mikrobiologi.

KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan terbaik adalah perlakuan fermentasi dengan *R. oryzae* dan *Klebsialla pneumoniae* selama 2 hari. yang dapat menghasilkan tepung kedelai dengan kadar vitamin B12 tertinggi yaitu 1,27 ppb.

DAFTAR PUSTAKA

- Duta Pakerti Darajat, Wahono H.S., Indria Purwantiningrum, 2014. Pengaruh Umur Fermentasi Tempe dan Preparasi Dekstrin terhadap Kualitas Susu Tempe Bubuk, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol (2) No.1 p. 47-53.
- Eti Setianingsih, Ratna Styaningsih, Ari Susilowati, 2004. Pembuatan

- Minuman Probiotik dari susu Kedelai dengan Inokulum *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Biotektologi 1* (1):1-6.
- Fatma Zuhrotun Nisa, Y Marsono, Eni Harmayani, 2007. Efek Hipokolesterolemik Susu Kedelai Fermentasi Steril secara Invitro. *Berita Kedokteran Masyarakat*. Vol. 23 No. 2 : 47-51
- Ika Yuli Andarti dan Agustin Krisna Wardani, 2005. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Kimia, Mikrobiologi dan Organoleptik Miso Kedelai Hitam (*Glycine max L*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 (3): 889-898.
- Komari,1999. *Proses Fermentasi Biji Lamtoro-Gung dengan Rhizopus oryzae*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, Vol. 4 No. 1.
- Keuth, S. and B Bisping, 1994. Vitamin B12 Production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumonia* during Tempeh fermentation and Proof of anterotoxin absence by PCR. *Applied and Enviromental Microbiology*. 60(5):1495.
- L. Bellow, R Moore, A. Gross, 1998. *Diatary Supplements: Vitamins and Minerals*. Colorado State University.
- Maria Erna Kustyawati, 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe, *Agritech*. Vol 29 (2): 64-70.
- Rahmat Rukmana, 1997. *Kacang Hijau dan Budidaya Pasca Panen*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Rukmana, SK dan Y Yuniarsih, 1996. *Kedelai, Budidaya Pasca Panen*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Santoso Budi Hieronymus, 1994. *Susu dan Yoghurt Kedelai*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Sinuhaji, Atas Baas, 2006. *Intoleransi Laktosa*. Majalah Kedokteran Nusantara, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1993. *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yuniati Heru dan Ilmasyhuri, 2012. Kandungan Vitamin B6, B9 B12 dan E Beberapa Jenis Daging, Telur, Ikan dan Udang Laut di Bogor dan Sekitarnya. *Panel Gizi Makan*. 35 (1): 78-89.