

Pengaruh Fermentasi Sari Kedelai dengan *Lactobacillus* sp. terhadap Kadar dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Genistein serta Formulasinya dalam Granul Efervesen

(Influence of Soymilk Fermentation with *Lactobacillus* sp. on Thin Layer Chromatography Profile and Content of Genistein and its Formulation in Effervescent Granules)

LATIFAH RAHMAN^{1*}, HUSNUL WARNIDA², NATSIR DJIDE¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10, Makassar, 90245.

²Akademi Farmasi Samarinda, Jl. A. Wahab Syahrani Kel. Air Hitam, Samarinda, 75124.

Diterima 20 Januari 2012, Disetujui 28 Mei 2012

Abstrak: Isoflavon dalam kedelai dan hasil olahan kedelai tanpa fermentasi berbentuk glikosida. Bentuk glikosida tidak dapat diabsorpsi oleh tubuh dan harus dihidrolisis sebelum dimetabolisme. Hidrolisis oleh bakteri penghasil β -glucosidase terjadi di sepanjang saluran cerna. Mikroorganisme probiotik, misal *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* memiliki enzim β -glucosidase endogen yang berperan penting dalam mengubah profil isoflavon selama fermentasi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fermentasi sari kedelai dengan *Lactobacillus* sp. pada profil KLT dan kadar genistein dan formulasi sari kedelai menjadi sediaan granul efervesen. Sari kedelai difermentasi dengan *Lactobacillus* sp. dan dikeringkan dengan metode *freeze-drying*. Sari kedelai kering diekstraksi dengan metanol dan dianalisis dengan TLC-scanner. Serbuk sari kedelai terfermentasi kering kemudian diformulasi dalam bentuk sediaan granul efervesen dengan variasi konsentrasi asam sitrat-asam tartrat. Granul efervesen dibuat dengan metode granulasi basah kemudian dievaluasi karakteristik fisik dan dianalisis dengan TLC-scanner. Kadar Genistein dalam sari kedelai yang telah difermentasi mengalami peningkatan 145,32% dibandingkan sari kedelai sebelum difermentasi. Keempat formula granul efervesen yang dibuat mempunyai karakteristik fisik yang baik, kecuali kandungan kelembaban lebih dari 0,7%. Formula dengan perbandingan konsentrasi asam sitrat-asam tartrat (1:1) menghasilkan granul efervesen dengan karakteristik fisik yang paling baik.

Kata kunci: sari kedelai, fermentasi, genistein, profil KLT, granul efervesen, *Lactobacillus* sp.

Abstract: Isoflavones in soybean and unfermented soybean product are in glycoside form which could not be absorbed by the body and should be hydrolyzed before it is metabolized. Hydrolysis by bacteria producing β -glucosidase occur throughout the gastrointestinal tract. Probiotic microorganisms, like *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, have an endogenous enzyme β -glucosidase that plays an important role in changing the profile of isoflavones during fermentation. The study was to investigate TLC profile and genestein content in fermented soybeanmilk and to formulate the freeze-dried fermented soybeanmilk into effervescent granules preparation. Soybeanmilk was fermented with *Lactobacillus* sp., and then freeze-dried. The soybeanmilk, before and after fermentation, were then extracted and analyzed by TLC-scanner. The freeze-dried fermented soymilk was prepared into four formulations of effervescent granules with variations in citric acid-tartaric acid ratio. Granules were prepared by the wet method and theirs physical characteristics were evaluated. Extracted granules were analyzed by TLC-scanner. Genistein content in the fermented soymilk has increased 145.32% as compared to the unfermented soymilk. All four effervescent granules have good physical characteristics except that the moisture content were above 0.7%. Formula containing citric acid-tartaric acid ratio of (1:1) produced effervescent granules with the best physical characteristics.

Keywords: soybean milk, fermentation, genistein, TLC-profile, effervescent granules, *Lactobacillus* sp.

* Penulis korespondensi, Hp. 08124226578
e-mail: tifah_rahman@yahoo.com

PENDAHULUAN

KEDELAI (*Glycine max* L.) dikenal oleh masyarakat Asia sebagai bahan makanan, minuman, dan obat. Kedelai kaya akan protein dan lemak, tetapi relatif rendah karbohidrat. Kandungan isoflavon dalam kedelai lebih besar dibanding pangan lainnya⁽¹⁾.

Dampak konsumsi isoflavon pada kesehatan manusia telah banyak diteliti, khususnya efek biologis terkait aktivitas mirip estrogen dan sebagai antioksidan. Menurut penelitian, isoflavon dapat mencegah oksidasi *low-density lipoprotein* (LDL), sehingga mengurangi *atherogenesis* dan menurunkan reabsorpsi tulang, menurunkan prevalensi kanker payudara dan kanker prostat, dan mengurangi risiko *atherosclerosis*, *neuro-degeneration* dan osteoporosis⁽²⁾.

Isoflavon dalam kedelai dan hasil olahan kedelai tanpa fermentasi berbentuk glikosida. Bentuk glikosida tidak dapat diabsorpsi oleh tubuh dan harus dihidrolisis sebelum dimetabolisme. Hidrolisis oleh bakteri penghasil β -glucosidase terjadi di sepanjang saluran cerna. Mikroorganisme probiotik, misal *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* memiliki enzim β -glucosidase endogen yang berperan penting dalam mengubah profil isoflavon selama fermentasi⁽³⁾.

Produk olahan kedelai mempunyai jumlah isoflavon yang bervariasi, tergantung proses pengolahan. Menurut Database Universitas Iowa⁽⁴⁾, sari kedelai (*soybean milk*) memiliki jumlah isoflavon total yang cukup besar, yaitu 9,56 mg/100 g. Meskipun demikian, sari kedelai kurang dikenal dibandingkan produk olahan lain seperti tahu dan tempe, dan selain itu sari kedelai berbentuk cair sehingga penggunaan dan penyimpanannya tidak praktis. Bentuk cair tersebut juga menyulitkan untuk modifikasi rasa dan aroma. Oleh karena itu, sari kedelai sebaiknya diformulasi dalam bentuk sediaan padat.

Salah satu bentuk sediaan yang tepat untuk sari kedelai adalah granul efervesen. Granul merupakan bentuk sediaan yang tepat untuk obat dengan dosis besar⁽⁵⁾. Sediaan granul ini menghasilkan larutan obat dengan dosis yang tepat, mudah digunakan dan nyaman⁽⁶⁾.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui profil kromatogram lapis tipis (KLT) dan kadar genistein dalam sari kedelai setelah difermentasi dengan *Lactobacillus* sp. dan selanjutnya memformulasi sari kedelai fermentasi menjadi sediaan granul efervesen.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Biji Kedelai (*Glycine max*), *Lactobacillus* sp., Genistein (Sigma), Natrium bikarbonat, Asam

sitrat, Asam tartrat, Laktosa, Polivinilpirolidon K30, Aspartam, Tartrazin, Minyak jeruk.

Alat. Neraca analitik (Sartorius), inkubator (Mermert), oven (Ecocell), alat refluks (Labentech), pH meter, piknometer, alat pengukur waktu alir (*flow hopper*), *stopwatch*, pengayak granul mesh 14 dan 16, lemari pengering granul, satu seri ayakan standard, *Freeze-dryer*, *TLC-scanner*.

METODE. **Isolasi bakteri *Lactobacillus* sp.** Sebanyak 1 mL cairan air susu ibu (ASI) dari masing-masing pengenceran (10^{-1} – 10^{-10}) dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambah 15 mL medium deMann Rogosa Sharpe Agar (MRSA) + CaCO_3 1% dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 kali 24 jam. Setelah terbentuk zona bening di sekeliling koloni, koloni diinokulasikan ke dalam medium deMann Rogosa Sharpe Broth (MRSB). Setelah terjadi kekeruhan, selanjutnya diinokulasikan ke dalam medium MRSA.

Penyiapan kultur. Isolat *Lactobacillus* sp. diinokulasikan ke dalam media deMann Rogosa Sharpe Agar (MRSA) agar miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sebanyak 5 ose dipindahkan ke dalam 0,1 L media MRSB dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan sari kedelai⁽⁷⁾. Biji kedelai direndam selama 8 jam, kemudian direbus selama 15 menit. Setelah itu dibersihkan kulit arinya. Sebanyak 125 g kedelai diblender dengan 1 L air panas (perbandingan 1:8), setelah itu disaring. Filtrat diambil dan ampas dibuang. Diperoleh 0,65 L sari kedelai, kemudian dikeringkan menjadi serbuk dengan metode *Freeze Drying*.

Fermentasi sari kedelai. Pembuatan starter probiotik. Serbuk sari kedelai 10 g dilarutkan dalam air panas hingga 0,1 L ditambah glukosa 2%, diatur pH $6 \pm 0,2$, disterilkan, diinokulasi dengan *Lactobacillus* sp. dan difermentasi selama 24 jam.

Fermentasi dan pengeringan. Sebanyak 0,1 L starter probiotik diinokulasi ke dalam 1 L sari kedelai steril kemudian difermentasi selama 24 jam suhu 37°C. Sari kedelai hasil fermentasi dikeringkan menggunakan *freeze-dryer*.

Ekstraksi genistein dari sari kedelai. Serbuk sari kedelai ditimbang sebanyak 1 g. Dimasukkan ke dalam labu alas bulat, ditambah 50 mL metanol, direfluks selama 1 jam, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan hingga kental, dan diperoleh 24 mg ekstrak kental. Hal yang sama dilakukan pada serbuk sari kedelai terfermentasi, dan diperoleh 28 mg ekstrak kental. Demikian pula dilakukan pada empat formula granul efervesen, sehingga diperoleh ekstrak kental masing-masing sebanyak 181 mg, 208 mg, 194 mg dan 207 mg.

Analisis genistein dengan metode densitometri.

Masing-masing ekstrak sari kedelai yang diperoleh dilarutkan dalam 100 μ L metanol, dan larutan sebanyak 1 μ L ditotolkan pada lempeng KLT. Fase diam yang digunakan adalah lempeng KLT silika gel GF₂₅₄ dan sebagai fase gerak digunakan toluen – etil asetat – aseton – asam asetat (20:4:2:1)⁽⁸⁾.

Bercak yang terbentuk diamati dengan lampu UV 254 nm dan selanjutnya di-scanning dengan TLC scanner pada panjang gelombang 262 nm. Pembanding yang digunakan adalah Genistein (1 g/L).

Merancang formula granula efervesen.

Empat jenis formula granul efervesen dibuat dengan komposisi seperti dalam Tabel 1.

Granul efervesen dibuat dengan metode granulasi basah sebagai berikut : Serbuk sari kedelai digerus hingga halus, ditambahkan asam sitrat, asam tartrat, aspartam, laktosa, tartrazine dan natrium bikarbonat, digerus hingga homogen. PVP ditambahkan ke dalam campuran tersebut diatas, digerus dan ditetesi dengan etanol 96% secukupnya, diaduk hingga membentuk massa yang dapat dikepal. Campuran diayak dengan ayakan mesh 14 kemudian dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 40-50°C selama 18 jam. Granul yang sudah kering diayak kembali dengan ayakan mesh 16. Minyak jeruk ditambahkan ke dalam granul dan dihomogenkan.

Evaluasi kadar air granul^(6,9). Penentuan kadar air granul dilakukan dengan menghitung nilai Susut Pengeringan (LOD) dan Kandungan Lembab (MC).

Sejumlah 5 gram granul ditimbang dan dipanaskan dalam lemari pengering sampai bobot konstan (105°C) selama 2 jam, maka

LOD adalah =

$$\frac{(\text{bobot granul basah} - \text{bobot granul kering}) \times 100\%}{(\text{bobot granul basah})}$$

MC adalah =

$$\frac{(\text{bobot granul basah} - \text{bobot granul kering}) \times 100\%}{(\text{bobot granul kering})}$$

Kecepatan alir dan sudut baring. Ditimbang 25 g granul, ditempatkan pada corong penguji waktu alir yang tertutup.

Penutup dibuka dan granul dibiarkan mengalir. Dicatat waktu yang diperlukan granul untuk mengalir dan diukur sudut ganul yang terbentuk.

Ukuran Partikel Granul. Sebanyak 100 g granul diletakkan pada ayakan standar yang sesuai dalam alat penggojok mekanik. Granul digojok selama 20 menit dan granul yang tertinggal pada ayakan dikumpulkan dan ditimbang.

Kompresibilitas (Carr's index). Sejumlah 25 g granul ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas ukur dan dicatat volumenya (volume awal). Gelas ukur tersebut diketukkan setinggi 2,5 cm dalam interval 2 detik. Setiap 10 ketukan volume dicatat sampai volume konstan (volume mampat).

Nilai kompresibilitas granul adalah =

$$\frac{(\text{volume awal} - \text{volume mampat}) \times 100\%}{\text{volume awal}}$$

Nilai porositas (ϵ) granul adalah =

$$\epsilon = 1 - \frac{(\text{Kerapatan curah})}{(\text{Kerapatan sejati})} \times 100\%$$

Kerapatan sejati dihitung dengan rumus =

$$\frac{(C - A) \times \text{b.j. parafin cair}}{(C + B) - (A + D)}$$

(A) Berat piknometer kosong, (B) Berat piknometer setelah diisi parafin cair, (C) Berat 1 g granul dan dimasukkan ke dalam piknometer, (D) Berat piknometer yang berisi parafin cair sampai batas tanda.

Kerapatan curah. Sejumlah 25 g granul ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas ukur serta dicatat volumenya (volume awal). Kerapatan curah adalah bobot granul dibagi volume awal.

Pemeriksaan pH larutan sediaan granul efervesen. Granul sebanyak 4 gram dilarutkan dalam 150 mL air. Segera setelah granul larut semua, pH larutan diukur dengan pH meter.

Kecepatan waktu melarut granul efervesen. Granul sebanyak 1 g dilarutkan ke dalam 100 mL air

Tabel 1. Rancangan formula granula efervesen sari kedelai.

Bahan	Formula (konsentrasi %)			
	A	B	C	D
Sari kedelai	20	20	20	20
Natrium bikarbonat	34	34	34	34
Asam sitrat	15	10	7,5	5
Asam tartrat	15	20	22,5	25
Polivinilpirolidon	3	3	3	3
Aspartam	1	1	1	1
Laktosa	12	12	12	12
Minyak jeruk	0,05	0,05	0,05	0,05
Tartrazin	0,01	0,01	0,01	0,01

suling. Waktu larut dihitung dengan *stop watch* mulai dari granul tercelup ke dalam air suling sampai semua granul terlarut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil *scanning* ekstrak metanol sari kedelai pada TLC-*scanner* menunjukkan adanya perbedaan kadar genistein dalam sari kedelai sebelum dan setelah fermentasi (Tabel 2). Terjadi kenaikan kadar genistein sebesar 145,32% atau hampir 2,5 kali kadar sebelum fermentasi. Hasil ini lebih kecil dari hasil penelitian Otianno dan Shah⁽¹⁰⁾ yang menyatakan adanya peningkatan aglikon dalam sari kedelai sebanyak 5,46 kali setelah fermentasi selama 12 jam. Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan oleh perbedaan bakteri probiotik yang digunakan. Otianno dan Shah⁽¹⁰⁾ menggunakan bakteri *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*, sedangkan pada penelitian ini digunakan bakteri *Lactobacillus sp.*

Tabel 2. Jumlah genistein dalam sari kedelai.

Replikasi	Jumlah genistein dalam sari kedelai		Prosentasi peningkatan jumlah genistein
	Sebelum fermentasi (ng)	Setelah fermentasi (ng)	
1	391,88	605,47	
2	241,69	763,87	
3	246,70	790,04	
rerata	293,41	719,79	145,32%

Sari kedelai yang tidak difermentasi mengandung lebih banyak isoflavon dalam bentuk glikosida daripada isoflavon dalam bentuk aglikon. Bentuk glikosida tidak dapat diabsorpsi dan harus dihidrolisis sebelum dapat dimetabolisme⁽¹¹⁾. Selama fermentasi, terjadi peningkatan jumlah aglikon serta penurunan jumlah glikosida. Hal ini disebabkan oleh aktivitas β -glucosidase yang dimiliki oleh bakteri probiotik seperti *Lactobacillus*. Enzim β -glucosidase menghidrolisis glikosida menjadi aglikon⁽¹⁰⁾. Menurut Valachovicova *et al.* dalam Otianno dan Shah⁽¹⁰⁾, peningkatan komponen aglikon setelah fermentasi dapat meningkatkan aktivitas biologis sari kedelai, karena bentuk aglikon memiliki kemiripan dengan struktur estrogen manusia. Genistein merupakan aglikon estrogenik yang paling poten, disusul *daidzein* dan *glycetein*.

Jumlah genistein dalam sari kedelai terfermentasi paling besar dibanding aglikon lain. Hal ini disebabkan jumlah genistein yang lebih tinggi dibandingkan *daidzein* dan *glycetein* dalam sari kedelai sebelum fermentasi⁽¹⁰⁾. Ini adalah alasan pemilihan genistein

sebagai baku pembandingan dalam penelitian ini.

Serbuk sari kedelai yang diformulasi dalam bentuk sediaan granul efervesen juga dianalisis dengan densitometer. Rerata hasil pengukuran dapat dilihat bahwa setelah proses granulasi, genistein masih terdapat dalam sediaan (Tabel 3).

Tabel 3. Jumlah genistein dalam formula granul efervesen sari kedelai.

Replikasi	Jumlah genistein dalam granul efervesen sari kedelai (ng)			
	Formula A	Formula B	Formula C	Formula D
1	754,20	645,31	895,01	697,37
2	791,66	764,79	680,96	785,05
rerata	772,93	705,05	787,98	741,21

Kesulitan dalam melakukan uji KLT densitometri adalah penotolan dilakukan secara manual, sehingga jumlah yang ditotolkan tidak tepat sama. Selain itu, ekstrak sari kedelai yang diperoleh berupa ekstrak kental yang sulit dilarutkan dalam konsentrasi tertentu sehingga ada kemungkinan tidak homogen. Hal-hal tersebut menyebabkan perbedaan pada replikasi hasil penotolan.

Formulasi granul efervesen. Serbuk sari kedelai diformulasi dalam bentuk sediaan efervesen dengan pertimbangan bahwa sediaan efervesen mengandung gas karbonasi yang dapat menutupi rasa yang tidak menyenangkan dari bahan obat⁽³⁾ dan granul merupakan sediaan yang tepat untuk zat aktif dalam jumlah yang besar⁽⁵⁾. Selain itu sediaan granul efervesen dapat meningkatkan absorpsi obat dalam tubuh dibanding sediaan tablet sehingga efek terapeutik lebih cepat dicapai⁽³⁾.

Sari kedelai diformulasi menjadi empat jenis formula dengan konsentrasi asam yang berbeda. Perbedaan konsentrasi asam dimaksudkan untuk menilai formula yang dapat memenuhi persyaratan farmasetika. Selain asam, formula juga mengandung komponen basa dan bahan tambahan lain seperti pengisi, pengikat, pemanis, pewarna serta pengaroma.

Komponen asam yang digunakan pada formula ini adalah asam sitrat dan asam tartrat. Digunakan kombinasi asam sitrat dan tartrat untuk menghindari masalah pada penggunaan salah satunya. Jika hanya menggunakan asam tartrat, granul yang dihasilkan rapuh dan mudah pecah, sedangkan penggunaan asam sitrat saja akan menghasilkan campuran kohesif yang sulit digranulasi⁽⁶⁾. Granul efervesen yang diperoleh selanjutnya dievaluasi untuk menilai formula yang dapat memenuhi persyaratan.

Evaluasi granul efervesen. Granul efervesen sari kedelai dibuat dengan metode granulasi basah karena granul yang dihasilkan lebih homogen dan mudah mengalir⁽⁷⁾ sehingga lebih menjamin keseragaman ukuran dan kandungan zat aktif.

Evaluasi granul efervesen sari kedelai meliputi perhitungan kandungan lembab dan susut pengeringan, kecepatan alir dan sudut baring, porositas dan kompresibilitas, pengukuran pH dan waktu pelepasan gas CO₂.

Perbedaan sifat fisik granul formula A, B, C dan D dipengaruhi oleh variasi konsentrasi asam. Asam tartrat menghasilkan granul yang rapuh dan mudah pecah, asam sitrat menghasilkan granul yang kohesif yang sulit digranulasi⁽⁶⁾. Semakin besar konsentrasi asam sitrat, semakin besar kadar air, semakin besar porositas, dan semakin cepat melarut dalam air karena sifat asam sitrat yang sangat higroskopis. Granul dengan asam tartrat lebih besar menghasilkan granul dengan kadar air dan porositas yang lebih rendah, tetapi memiliki *finer* yang lebih banyak, sehingga lebih lambat melarut dalam air.

Tabel 4. Kandungan lembab dan susut pengeringan granul efervesen sari kedelai.

Formula	Kandungan kelembaban (%)	Susut pengeringan (%)
A	4,79	4,57
B	4,17	4,01
C	4,09	3,93
D	3,57	3,44

Sifat alir granul ditentukan secara langsung dengan mengukur kecepatan alir dan sudut istirahat. Secara tidak langsung, sifat alir ditentukan dengan menghitung prosentase kompresibilitas granul. Sudut baring adalah cara sederhana untuk memperkirakan sifat alir granul. Nilai 25°-30° menunjukkan potensial aliran yang baik⁽¹²⁾. Formula A, B, C dan D masing-masing menunjukkan nilai 27,89°, 27,41°, 26,95° dan 26,46°. Semua formula memiliki sifat alir yang baik (Tabel 5).

Hasil pengukuran kecepatan alir dari formula A, B, C dan D adalah 4,61, 4,92, 5,09 dan 5,17 g/detik. Menurut Staniforth⁽¹³⁾, nilai 4 sampai 10 g/detik menunjukkan aliran yang baik (*easy-flowing*). Semua formula berada dalam kategori *easy-flowing*.

Cara lain mengukur sifat alir granul adalah prosentasi kompresibilitas (Carr's index). Menurut Wells dan Aulton⁽⁸⁾, nilai 12 sampai 16% menunjukkan sifat alir yang baik (*good, free-flowing powdered granules*), sedangkan nilai 18 sampai 21% menunjukkan sifat alir cukup (*fair to passable*). Formula A dan B yang

Tabel 5. Kecepatan alir dan sudut baring granul efervesen sari kedelai.

Formula	Kecepatan alir (g/detik)	Sudut istirahat (α)
A	4,61	27,89°
B	4,92	27,41°
C	5,09	26,95°
D	5,17	26,46°

memiliki nilai kompresibilitas 15,52% dan 15,79% berada dalam kategori baik, sedangkan formula C dan D yang memiliki nilai 16,67% dan 17,65% tidak termasuk dalam kategori baik, tetapi mendekati kategori cukup.

Hasil perhitungan statistik kecepatan alir dari formula A, B, C dan D menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap memberikan hasil yang sangat signifikan. Hal ini dapat dilihat pada tabel ANOVA di mana nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf 5% dan 1%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi komponen asam berpengaruh sangat nyata terhadap karakteristik fisik granul efervesen.

Selanjutnya dilakukan analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil. Hasil perhitungan kecepatan alir pada taraf 5%, formula A berbeda nyata dengan formula B, C dan D. Sedangkan formula B, C dan D tidak berbeda nyata. Berarti tidak ada pengaruh perbedaan konsentrasi asam pada ketiga formula tersebut.

Porositas adalah nilai prosentase yang menyatakan rongga kosong antar partikel. Peningkatan nilai porositas akan meningkatkan laju disolusi dan menurunkan waktu disintegrasi⁽⁷⁾. Nilai porositas dari Formula A, B, C dan D masing-masing adalah 71,19; 71,89; 68,36 dan 65,48% (Tabel 6). Nilai porositas tersebut berbanding lurus dengan waktu pelepasan CO₂ granul efervesen. Semakin besar porositas granul, semakin cepat waktu pelepasan CO₂.

Tabel 6. Kompresibilitas dan porositas granul efervesen sari kedelai.

Formula	Kompresibilitas (%)	Porositas (%)
A	15,52	71,17
B	15,79	71,85
C	16,67	68,61
D	17,65	65,19

Waktu pelepasan CO₂ dari formula A, B, C dan D adalah 30; 29; 44 dan 57 detik (Tabel 7). Waktu pelepasan gas CO₂ keempat formula memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 2 menit dalam 100 mL air⁽³⁾. Waktu pelepasan CO₂ dari granul juga berkaitan dengan jumlah *finer* yang dimiliki granul. Jika ukuran

partikel tidak seragam, partikel yang lebih kecil akan masuk ke rongga antar partikel yang lebih besar dan menurunkan luas rongga kosong⁽⁶⁾. Rongga kosong memberikan ruang masuknya cairan yang selanjutnya membuat granul mengembang dan pecah. Salah satu penyebab Formula D melepaskan CO₂ dalam waktu paling lambat adalah jumlah *finer* yang lebih besar dari formula lain.

Tabel 7. pH larutan dan waktu pelepasan CO₂.

Formula	pH larutan	Waktu pelepasan CO ₂ (detik)
A	5,6	30
B	5,6	29
C	5,6	44
D	5,6	57

Distribusi ukuran partikel. Granul yang baik memiliki distribusi ukuran partikel yang sempit dan jumlah serbuk (*finer*) tidak lebih dari 10%⁽¹³⁾. Hasil perhitungan distribusi ukuran partikel granul, menunjukkan Formula A, B dan C memiliki aliran yang baik karena distribusi ukuran partikel yang sempit dan jumlah *finer* tidak lebih dari 10%, yaitu 0,42%; 0,51% dan 4,61%. Formula D memiliki jumlah *finer* lebih dari 10%, yaitu 13,93% (Tabel 8).

Tabel 8. Ukuran partikel granul efervesen sari kedelai.

Ukuran partikel	Formula			
	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)
>300 µm	68,91	47,00	34,15	35,75
200-300 µm	27,65	47,66	49,90	35,78
150-200 µm	1,99	3,14	5,97	5,64
100-150 µm	1,03	1,69	5,08	9,08
<100 µm	0,42	0,51	4,61	13,93

SIMPULAN

Fermentasi sari kedelai dengan *Lactobacillus sp.* Dapat meningkatkan kadar genestein sebesar 145,32 %.

Formula granul efervesen sari kedelai fermentasi yang dapat memenuhi persyaratan farmasetika adalah yang mengandung sari kedelai sebesar 20 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Koswara S. Susu kedelai tak kalah dengan susu sapi. Fakultas Teknologi Pertanian IPB Bogor; 2006. 2-5.
- Breed RS, Murray EGD, Nathan SR. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company; 1994. 540.
- Bertuzzi G. Effervescent Granulation. In Parikh DM (ed). Handbook of pharmaceutical granulation technology. Singapore: Taylor & Francis; 2005. 365-82.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA-Iowa State University database on the isoflavone content of foods. Release 1.3 - 2002.
- Summers MP. Powders and granules. In: Aulton ME. (ed). Pharmaceutics: The science of dosage form design. London: Churchill Livingstone. 1998. 300-3.
- Ansel HC. Pengantar bentuk sediaan farmasi. Edisi 4. Terjemahan oleh Ibrahim F. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 2008. 175-8.
- Ennis BJ. Theory of Granulation: An engineering perspective. In: Parikh, D.M., (ed). Handbook of pharmaceutical granulation technology. Singapore: Taylor & Francis; 2005. 9, 44, 55.
- Wells JI, Aulton ME. In: Aulton ME, editor. Pharmaceutics: The science of dosage form design. London: Churchill Livingstone; 1998. 247-8.
- Rankell AS, Lieberman HA, Schiffmann RF. Pengeringan. Dalam: Lachman L, Lieberman H, Kanig J, editor. Teori dan praktek industri farmasi. Terjemahan oleh Siti Suyatmi. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 1986. 110-1.
- Otieno D O, Ashton J F, Shah N P. Evaluation of enzymic potential for biotransformation of isoflavone phytoestrogen in soymilk by *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*. Food Research International. Elsevier; 2006. 394-407.
- Donkor ON, Shah NP. Production of β-Glucosidase and hydrolysis of isoflavone phytoestrogens by *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, and *Lactobacillus casei* in soymilk. Journal of Food Science. 2008.73(1):15-20.
- Tjay T, Rahardja K. Obat-obat penting: Khasiat, penggunaan dan efek-efek Sampingnya. Edisi V. Jakarta: Elex Media Computindo; 2002. 219-20.
- Staniforth JN. Particle size analysis. In: Aulton ME, editor. Pharmaceutics: The science of dosage form design. London: Churchill Livingstone; 1998. 569-70.