

KANDUNGAN DAN KERAGAMAN MIKROB BEBERAPA TEMPE DARI DAERAH BOGOR

(Microbial Content and Diversity in Several Tempe from Bogor Areas).

Suliantari, Sri Laksmi Suryaatmadja, H. Kusumaningrum
Dep. Ilmu dan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB

ABSTRAK

Tempe adalah produk fermentasi dari Indonesia yang memiliki kandungan gizi yang tinggi. Perbedaan cara pembuatan tempe dari masing-masing pengrajin akan berpengaruh pada keragaman mikrob dan mutu tempe yang dihasilkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan dan keragaman jenis mikrob dari tempe yang ada di pasaran daerah Bogor. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini, populasi kapang berkisar antara 4,23–6,15 log CFU/g; khamir berkisar 4,23–9,11 log CFU/g, bakteri asam laktat (BAL) 6,84–9,88 log CFU/g, dan nilai pH tempe antara 5,27–7,40. Selain kapang, keragaman mikrob pada tempe adalah khamir dan BAL. Dengan menggunakan API test kit C20AUX (khamir) dan 50 CH (BAL), isolat-isolat khamir dan BAL yang dapat ditemukan pada tempe adalah *Candida famata*, *Candida pelliculosa*, dan *Candida lusitaniae*. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides*.

Kata kunci: cara pembuatan, kandungan mikrob, keragaman mikrob, tempe.

ABSTRACT

Tempeh is Indonesian fermented product which contains high nutritious compounds including ergosterol (provitamin D) that known has the capacity in reducing blood cholesterol content. Ergosterol was not found in soybean but found in tempeh as the fermented soybean product. Different tempeh processing conducted by the producer will influence the diversity of the microorganism and the quality of tempeh. The objectives of the research were to find out the diversity of the types of microorganism and ergosterol contents in various tempeh sold in the market around Bogor area. The results showed the population of mold, yeast and lactic acid bacteria of various tempeh bought in the market were in the range of 4.23–6.15 log CFU/g; 4.23–9.11 log CFU/g and 6.84–9.88 log CFU/g, respectively, and the pH of tempeh was also varied between 5.27–7.40. Ergosterol contents in tempeh were also varied between 245.84–681.65 ppm. Besides mold, yeast, and lactic acid bacteria were also contribute the diversity of the microorganisms in tempeh. Yeast species found in tempeh were identified using API test kit C20AUX as *Candida famata*, *Candida pelliculosa* and *Candida lusitaniae*. Lactic acid bacteria found in tempeh were also identified using API 50 CH and found several species such as *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, and *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides*.

Keywords: ergosterol, microbial diversity, procedure of manufacture, tempeh, total microorganisms.

PENDAHULUAN

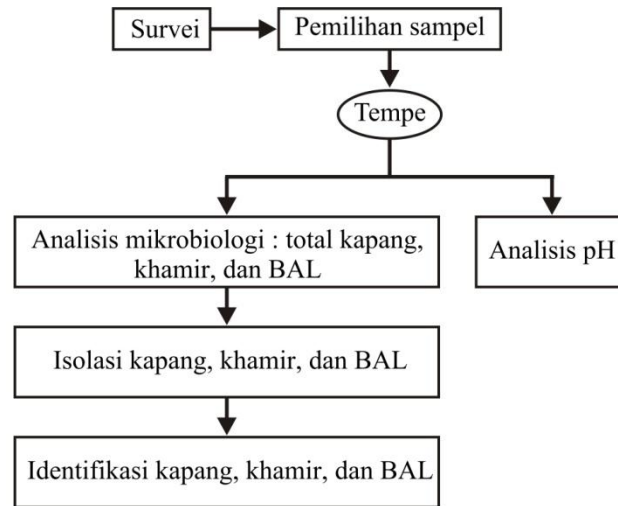
Untuk pembuatan tempe diperlukan beberapa tahapan yang meliputi perebusan bahan baku, perendaman, pengupasan kulit, pemberian laru atau ragi tempe, pengemasan, dan pemeraman. Laru atau ragi tempe mengandung mikroba terutama kapang, diantaranya adalah kapang *Rhizopus oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. stolonifer* atau *Mucor javanicus*. Masing-masing kapang tersebut mempunyai aktivitas enzim yang berbeda yang nantinya akan berpengaruh terhadap mutu tempe yang dihasilkan, yaitu terhadap aroma dan kandungan nutrisi tempe. Selain itu, mutu tempe juga dipengaruhi oleh beragamnya mikroba yang berperan selama fermentasi tempe (Feng *et al.* 2007).

Dari beberapa peneliti terdahulu diketahui bahwa mikroba lain yang berperan selama fermentasi tempe adalah khamir, bakteri asam laktat (BAL) dan bakteri-bakteri gram negatif lainnya. Pada proses pembuatan tempe, terdapatnya khamir tidak menghambat pertumbuhan kapang tempe *R. oligosporus* dan bahkan penambahan khamir dan BAL tertentu pada pembuatan tempe dapat meningkatkan mutu tempe.

Tujuan dari penelitian ini selain untuk mengetahui kandungan mikroba dan memetakan populasi mikroba pada tempe (kapang-khamir dan bakteri asam laktat) pada beberapa jenis tempe yang ada dipasaran di daerah Bogor juga untuk mengisolasi serta mengidentifikasi mikroba yang berperan pada tempe.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dalam tahapan penelitian yang meliputi survei ke beberapa pengrajin di daerah Bogor, pemilihan sampel tempe, analisa sampel tempe terpilih (mikrobiologi dan kimia), isolasi dan identifikasi mikroba yang berperan pada beberapa sampel tempe (Gambar1).



Gambar 1 Diagram alir tahapan penelitian.

Analisis sampel

- Analisis total kapang, khamir, dan BAL (Da Silva *et al.* 2013)
- Isolasi kapang, khamir, dan BAL
- pH → Analisis pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan buffer pH 4 dan 7.
- Isolasi dan identifikasi isolate kapang, khamir, dan BAL

Identifikasi kapang dilakukan secara mikroskopis dengan *slide culture* sedangkan untuk khamir dan BAL dilakukan secara mikroskopis, yaitu pewarnaan sederhana (Hadioetomo 1993), pewarnaan Gram (BAM 2001), uji katalase, serta uji reaksi biokimia menggunakan API *test kit* 20C AUX dan API *test kit* 50 CH (Bio Mérieux 2010). Untuk kapang dan khamir dilakukan uji sifat karakteristik terhadap amilolitik, proteolitik, dan lipolitik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Survei Pengrajin Tempe

Dari survei yang dilakukan terhadap beberapa pengrajin tempe, secara umum cara pembuatan tempe yang dilakukan oleh pengrajin tempe di Bogor adalah sama, yaitu perebusan kedelai, perendaman, pengupasan kulit, penambahan laru, pengemasan, dan pemeraman. Perbedaan dari masing-masing pengrajin adalah pada frekuensi perebusan, lama perendaman kedelai, dan lama

fermentasi (Tabel 1). Dan berdasarkan hasil pada Tabel 1 terutama adanya perbedaan cara pengolahannya antar pengrajin maka untuk penelitian tahap berikutnya dipilih tempe dari enam pengrajin, yaitu tempe A, B, C, D, F, dan G.

Analisa Mikrobiologi

Hasil analisa mikrobiologi yang meliputi jumlah kapang, khamir, dan bakteri asam laktat (BAL) dari beberapa pengrajin tempe di Bogor yang terpilih (A, B, C, D, E, dan G) dapat dilihat pada Gambar 2. Dari Gambar 2 dapat diketahui bahwa selain kapang, pada semua sampel tempe terpilih ditemukan adanya khamir dan bakteri asam laktat (BAL).

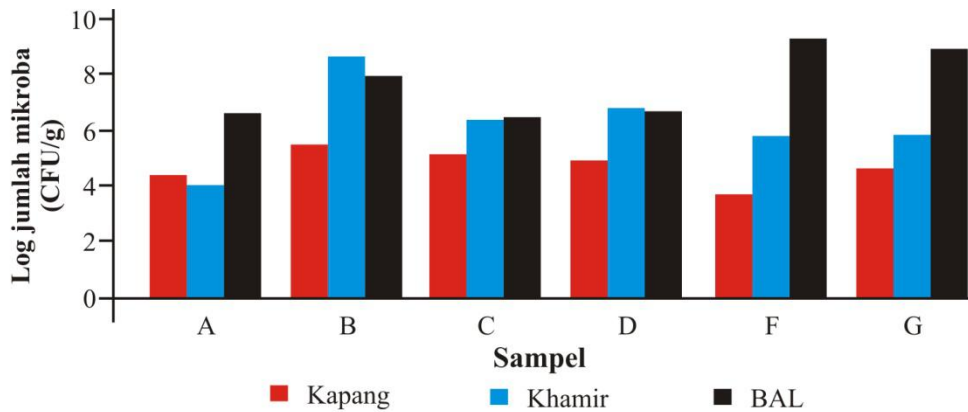
Dari penelitian ini ,sampel tempe terpilih mempunyai kandungan kapang yang berkisar antara 10^4 – 10^5 CFU/g, khamir 10^4 – 10^9 CFU/g, dan BAL berkisar antara 10^5 – 10^9 CFU/g. Dari peneliti terdahulu, pada tempe yang diproduksi secara tradisional dan komersial ditemukan adanya khamir yang tumbuh secara spontan (Samson *et al.* 1987).

Tabel 1 Tahapan pembuatan, jenis laru dan sumber air yang digunakan dari 9 pengrajin tempe di daerah Bogor

Sumber pengrajin	Tahapan dan jenis laru				Sumber air
	Perendaman (jam)	Perebusan (kali)	Lama fermentasi (jam)	Laru	
A	20	2	48	Raprima	Sumur
B	12	1	36	Raprima + Onggok	PAM
C	12	1	40	Raprima + Onggok	Sungai
D	12	1	36	Raprima + Onggok	Sumur
E	12	1	36	Raprima + Onggok	Sumur
F	12	1	48	Raprima + Onggok	Sumur
G	12	1	24	Raprima + Onggok	Sumur
H	12	2	36	Raprima + Onggok	Sumur
I	12	1	36	Raprima + Onggok	Sumur

Khamir tidak menghambat pertumbuhan kapang tempe *R. oligosporus* dan penambahan khamir tertentu pada pembuatan tempe dapat meningkatkan kandungan ergosterol atau provitamin D (Feng 2006). Khamir yang dapat tumbuh selama fermentasi dan penyimpanan tempe adalah *Saccharomyces cerevisiae*; *S. boulardii*; *Picchia* dan *Kluveromyces* (Feng *et al.* 2007). Adanya mikrob lain seperti khamir dan BAL pada tempe kedelai yang difermentasi kapang *R.*

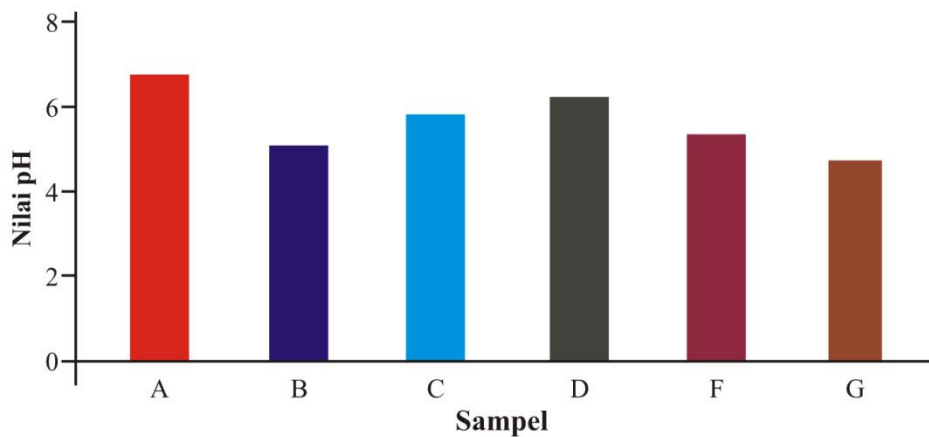
oligosporus dapat meningkatkan nilai gizi tempe serta menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Nout *et al.* 1995).



Gambar 2 Kandungan mikroba (kapang, khamir, dan BAL) dari sampel tempe yang ada di Bogor.

Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH dari sampel tempe yang digunakan dalam penelitian ini berkisar antara pH 5,3–7,3 (Gambar 3). Dari Gambar 3 dapat diketahui bahwa pH tertinggi ada pada sampel A dan pH terendah adalah sampel G. Semakin lama waktu fermentasi maka pH akan mengalami penurunan.



Gambar 3 Nilai pH dari enam sampel tempe terpilih yang ada di Bogor.

Peningkatan pH selama proses fermentasi tempe disebabkan oleh keberadaan kapang *R. oligosporus* yang memiliki aktivitas proteolitik yang tinggi yang dapat memecah senyawa protein menjadi asam-asam amino dan amonia. Kebera-

daan senyawa amonia yang bersifat basa inilah yang menyebabkan pH tempe mengalami peningkatan secara bertahap.

Isolasi dan Identifikasi Mikrob

- **Kapang**

Dari enam (6) sampel tempe terpilih yang digunakan dalam penelitian ini hanya ditemukan 1 jenis kapang, yaitu dari genus *Rhizopus*. Hal ini disebabkan karena memang para pengrajin menggunakan laru yang sama, yaitu laru Raprima LIPI dan kapang yang digunakan adalah dari jenis *Rhizopus oligosporus*. Dan dari hasil uji sifat karakteristik yang meliputi sifat amilolitik, proteolitik, dan lipolitik diperoleh hasil bahwa isolate kapang tempe memberikan hasil positif terhadap uji amilolitik, lipolitik, dan proteolitik.

- **Khamir**

Dengan menggunakan API C 20 AUX, 6 isolat teridentifikasi sebagai *Candida famata*, isolat lainnya diketahui sebagai *Candida pelliculosa* dan *Candida lusitaniae*. *Candida pelliculosa* (*Hansenula/Pichia anomala*) hanya ditemukan pada sampel tempe F. Spesies ini pernah diisolasi oleh Samson *et al.* (1987) dari tempe komersial yang ada di Belanda. Sama seperti *C. pelliculosa*, *Candida lusitaniae* (*Clavisporalusitaniae*) juga merupakan satu dari 16 spesies khamir yang ditemukan oleh Samson *et al.* (1987) pada tempe komersial di Belanda. Khamir *C. Famata* dapat tumbuh pada ketiga sampel yang diidentifikasi, *C. pelliculosa* yang hanya ditemukan pada tempe D demikian juga khamir *C. Lusitaniae* juga hanya ditemukan pada tempe B.

Terhadap isolate khamir yang sudah teridentifikasi dilakukan uji karakteristik yang meliputi aktivitas amilolitik, proteolitik, dan lipolitik. Khamir *C. famata* dan *C. pelliculosa* mempunyai aktivitas amilolitik, lipolitik, dan proteolitik, sedangkan *C. Lusitaniae* tidak bersifat amilolitik tetapi hanya mempunyai sifat lipolitik dan proteolitik.

- **Bakteri asam laktat (BAL)**

Identifikasi BAL dengan menggunakan API 50 CH dan hanya dilakukan terhadap isolat yang bersifat katalase negatif dan Gram positif. Jenis BAL yang tumbuh pada sampel tempe bervariasi dan ini diduga dipengaruhi oleh perbedaan metode produksi yang diterapkan oleh masing-masing produsen. Menurut Seumahu *et al.* (2013) ternyata perbedaan proses pembuatan dan lingkungan produksi dapat menyebabkan perbedaan jenis mikrob pada tempe. Dengan menggunakan API *test kit* untuk BAL, yaitu API 50 CH dari 7 isolat yang diidentifikasi, 3 isolat diketahui sebagai *Lactobacillus plantarum*. Isolat lainnya diketahui sebagai *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*. *L. plantarum* terdapat pada ketiga sampel tempe.

L. fermentum merupakan BAL yang bersifat heterofermentatif pada tempe C dan ditemukan pada tahap perendaman kedelai dan pada fermentasi 72 jam. *L. Fermentum* juga ditemukan pada produk tahu fermentasi (Chao *et al.* 2008) dan tauco (Liu *et al.* 2012). *L. fermentum* diketahui memiliki efek penghambatan terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* (Klayraung *et al.* 2008), serta *Pseudomonas ssp.* (Srinu *et al.* 2013). *L. brevis* merupakan BAL heterofermentatif dan mempunyai aktivitas anti mikrob terhadap bakteri patogen, diantaranya *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* (Elida 2002; Rusdhy & Gomaa 2013).

KESIMPULAN

Metode produksi tempe dari masing-masing pengrajin tempe berbeda pada lama perendaman (12–20 jam), frekuensi perebusan yaitu, antara 1–2 kali dan lama fermentasi 24–48 jam. Laru tempe yang dipergunakan umumnya adalah laru Raprima yang diperbanyak lagi dengan menggunakan onggok kecuali untuk A menggunakan laru Raprima. Kandungan mikrob tempe bervariasi antara 10^4 – 10^6 CFU/g (kapang); 10^4 – 10^9 CFU/g (khamir) dan 10^5 – 10^9 CFU/g (BAL); serta pH tempe bervariasi antara pH 5,3–7,3. Jenis kapang yang berperan pada tempe di

Bogor adalah kapang *Rhizopus oligosporus*; khamir dari jenis *Candida famata*, *Candida lusitanae*, dan *Candida pelliculosa*. BAL yang berperan dalam sampel tempe adalah *Lactobacillus plantarum* 1, *L. fermentum* 1, *L. brevis* 1, *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi-RI; Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat-IPB yang telah mendanai penelitian untuk tahun I ini melalui program Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi tahun 2015; Ida Mafaza dan Humairotassa'adah Ainun Wulan yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [BAM] Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Gram Stain*. US FDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Chao SH, Tomii Y, Watanabe K, Tsai YC. 2008. Diversity of lactic acid bacteria in fermented brines used to make stinky tofu. *Int J Food Microbiol*. 123(1–2): 34–141.
- Da Silva N, Taniwaki MH, Junqueira VCA, De Arruda Silveira NF, Da Silva Do Nascimento M, Gomes RAR. 2013. *Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual*. London (GB): CRC Press.
- Elida M. 2002. Profil bakteri asam laktat dari dadih yang difermentasi dalam berbagai jenis bambu dan potensinya sebagai probiotik. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Feng XM. 2006. Microbial dynamics during barley tempeh fermentation. [Tesis]. Sweded (SE): Uppsala University.
- Feng XM, Passoth V, Eklund-Jonsson C, Alminger ML, Schnürer J. 2007. *Rhizopus oligosporus* and yeast co-cultivation during barley tempeh fermentation-nutritional impact and real time PCR quantification of fungal growth dynamics. *Food Microbiol*. 24(4): 393–402.
- Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta (ID): Gramedia Pustaka Utama.

- Klayraung S, Viernstein H, Sirithunyalug J, Okonogi S. 2008. Probiotic properties of Lactobacilli isolated from Thai traditional food. *Sci Pharm.* 76(3): 485–503.
- Liu C, Gong F, Li X, Li H, Zhang Z, Feng Y, Nagano H. 2012. Natural populations of lactic acid bacteria in douchi from Yunnan province, China. *Biomed & Biotechnol.* 13(4): 98–306.
- Nout MJR, Bonants-Van Laarhoven TMG, De Jongh P, De Koster PG. 1987b. Ergosterol content of *Rhizopus oligosporus* NRRL 5905 grown in liquid and solid substrates. *Appl Microbiol Biotechnol.* 26(5): 456–461.
- Rusdhy AA, Gomaa EZ. 2013. Antimicrobial compounds produced by probiotic *Lactobacillus brevis* isolated from dairy product. *Ann Microbol.* 63(1): 81–90.
- Samson RA, Van Kooij JA, De Boer E. 1987. Microbiological quality of commercial tempeh in the Netherlands. *J Food Protect.* 50(2): 92–94.
- Seumahu CA, Suwanto A, Rusmana I, Solihin DD. 2013. Bacterial and fungal communities in tempeh as reveal by amplified ribosomal intergenic sequence analysis. *Hayati J Biosci.* 20(2): 65–71.
- Srinu B, Rao TM, Reddy PVM, Reddy KK. 2013. Evaluation of different lactic acid bacterial strains for probiotic characteristics. *Veterinary World.* 6(10): 785–788.