

# STRUKTUR KOMUNITAS MIKROBA PADA TEMPE MALANG

Febrina, sona., Aditiawati, pingkan.

Program Studi Biologi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10 Bandung

## ABSTRAK

Industri tempe tersebar di berbagai daerah di Indonesia dengan karakter dan rasa yang khas. Pada penelitian ini dilakukan isolasi mikroba pada tempe yang berasal dari Malang untuk melihat perubahan struktur komunitas mikroba. Pengambilan sampel dilakukan pada 6 waktu yang berbeda yaitu: 0 jam (T0), 12 jam (T1), 24 jam (T2), 36 jam (T3), 48 jam (T4), dan 60 jam (T5) sejak awal fermentasi. Isolasi mikroba dilakukan dengan menggunakan metode *spread plate*, uji organoleptik dilakukan dengan metode *Uji Deskriptif*, sedangkan uji asam amino dilakukan dengan metode UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*). Berdasarkan hasil penelitian Angka Lempeng Total (ALT) kelimpahan total isolat ragi dan fungi pada setiap gram tempe berturut-turut dari sampe tempe T0,T1,T2,T3,T4, dan T5 adalah sebagai berikut:  $4,0 \times 10^4$  CFU/g ,  $5,0 \times 10^4$  CFU/g,  $2,0 \times 10^5$ ,  $6,2 \times 10^5$  CFU/g,  $6,5 \times 10^5$  CFU/g,  $6,1 \times 10^5$  CFU/g. Sementara angka lempeng total pada bakteri untuk setiap gram tempe pada T0, T1, T2, T3, T4, dan T5 adalah sebagai berikut:  $4,0 \times 10^5$  CFU/g,  $1,0 \times 10^6$  CFU/g,  $1,4 \times 10^6$  CFU/g,  $2,9 \times 10^6$  CFU/g,  $3,2 \times 10^6$  CFU/g,  $3,3 \times 10^6$  CFU/g. Dari hasil isolasi dan identifikasi diperoleh 20 isolat mikroba yang terdiri dari 12 isolat bakteri, 6 isolat jamur dan 2 isolat ragi selama proses fermentasi tempe Malang. Beberapa isolat tersebut berhasil diidentifikasi diantaranya adalah *Klebsiella sp*, *Janibacter sp*, *Gluconobacter sp*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sp*, *Lysinimonas sp*, *Pseudomonas*, *Cladosporium sp*, *Trichosporon asahi*, *Simplicilium sp*, *Daedaleopsis sp* Isolat yang paling dominan pada T0 adalah *Rhizopus* dan *Trichosporon* sebanyak  $4,0 \times 10^4$  CFU/g dan  $3,0 \times 10^4$  CFU/g, pada T1 didominasi *Klebsiella* yaitu sebanyak  $1,6 \times 10^6$  CFU/g pada T2 didominasi *Rhizopus*, *Bacillus*, *Klebsiella* sebanyak  $5,0 \times 10^4$  CFU/g,  $1,2 \times 10^6$  CFU/g, pada T3 didominasi *Pseudomonas* dan *Bacillus* sebanyak  $2,2 \times 10^6$  CFU/g dan  $2,9 \times 10^6$  CFU/g, pada T4 didominasi *Klebsiella* dan *Bacillus* sebanyak  $3,3 \times 10^6$  CFU/g dan  $2,9 \times 10^6$  CFU/g sedangkan pada T5 didominasi oleh *Lysinimonas sp* sebesar  $2,8 \times 10^5$  CFU/g. Hasil uji deskriptif menunjukkan bahwa tempe Malang memiliki kualitas rasa yang baik karena parameternya memiliki nilai yang cukup tinggi dengan nilai maksimal adalah 7,00. Parameter Warna bernilai 6,14, rasa manis awal bernilai 4,76, tekstur 6,89, rasa mentah 5,70 dan rasa pahit di akhir senilai 4,07. Kandungan asam amino tertinggi pada sampel Malang adalah Fenilalanin dan asam aspartat sebanyak 36239.60/ppm dan 18994.91/ppm. Nilai mutu tempe Malang mulai dari kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein telah sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) yang ditetapkan, dimana kadar air tempe Malang 62.30%, kadar abu sebanyak 1.04 Lemak total 11,48% dan protein 19,43%.

**Kata kunci :** Tempe, Diversitas Mikroba, Organoleptik Tempe, Angka Lempeng Total

## 1. Latar Belakang

Pertumbuhan dan komposisi mikroba pada tempe selama fermentasi sangat menarik untuk dipelajari. Beberapa peneliti melaporkan ternyata bukan hanya *R. oligosporus* saja yang berperan selama proses fermentasi. Mulyowidarso (1989) mempelajari tentang ekologi mikrobia selama proses perendaman kedelai untuk pembuatan tempe yang ternyata mengandung banyak mikroba, secara signifikan selalu tumbuh dan memiliki peran yang tidak

kalah penting dengan *R. oligosorus*. Sehingga informasi mengenai struktur komunitas mikroba pada saat fermentasi tempe sangat perlu diungkapkan agar mengetahui keterlibatan setiap jenis mikroba. Beberapa penelitian melaporkan bahwa mikroba yang ada pada makanan memiliki peran penting dalam membentuk rasa pada saat fermentasi (Hagedorn and Kaphammer 1994). seperti rasa pahit yang ada pada hasil fermentasi keju biasanya disebabkan oleh aktifitas protease dari

*Lactococcus lactis* (Broadbent et al. 2002). Nuraida et al (2008) dan Mulyowidarso *et al* (1989) menjelaskan bahwa selama proses perendaman tempe, terdapat bakteri asam laktat dan khamir di dalam air perendaman tersebut. Pada saat perendaman tersebut bakteri asam laktat ini terhitung cukup banyak dan berfungsi mengasamkan kacang selama proses fermentasi. Selain mikroba beberapa asam amino juga mampu mempengaruhi rasa pada makanan, contohnya seperti asam glutamat dapat memberikan rasa gurih, asam amino yang menghasilkan rasa pahit adalah *Phenylalanine*, *Tyrosine*, *Arginine*, *Leusin*, *Isoleucine*, *Valine* dan *Histidine*. Sedangkan asam amino penghasil rasa manis adalah *Glycine*, *Alanine*, *Threonine*, *Proline*, *Serine* dan *Glutamine*. Hasil penelitian Kadar dkk (2018) menjelaskan bahwa pada tempe Malang saat T0 (0 jam masa fermentasi) bakteri yang mendominasi adalah dari genus Firmicutes, kemudian pada T24 (24 jam masa fermentasi) bakteri dari genus *Proteobacter* terlihat mulai muncul, kedua genus ini terus muncul dan mendominasi tempe Malang sampai akhir fermentasi (T48). Berdasarkan uraian di atas maka diperlukan penelitian untuk mengetahui struktur komunitas mikroba yang meliputi kelimpahan spesies, perubahan komunitas, aktivitas dan hubungan antar spesies serta untuk melihat kandungan pada tempe yang mempengaruhi rasa dan penampilan tempe.

## **2. Metode Penelitian**

### **2.1. Isolasi dan Identifikasi Mikoba tempe Malang**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) ITB, media diambil dari PRIMKOPTI Bangkit Usaha Malang. Metode isolasi yang digunakan adalah metode *Spread Plate*, setelah tahap isolasi, dilakukan pemurnian dan pengecatan gram untuk membedakan kelompok bakteri gram negatif dan positif.

### **2.2. Sekuensing (16 rRNA dan ITS)**

Analisis sekuensing gen 16S rRNA (16S *Ribosomal Ribonucleic Acid*) sering disebut juga sebagai 16S rDNA (16S *Ribosomal Deoxyribose Nucleic Acid*). Istilah 16S rRNA dinilai lebih tepat sebagai gen pengkode RNA. Identifikasi molekuler jamur dapat dilakukan menggunakan daerah ITS (*Internal Transcribed*

*Spacer*) ribosomal DNA. Isolasi DNA dan amplifikasi PCR pada daerah ITS rDNA merupakan tahap awal yang perlu dilakukan dalam identifikasi molekuler. Tahap sekuensing dilakukan dengan cara mengirimkan sampel ke MacroGen.Inc, Seoul Korea, untuk kemudian dilakukan analisa dengan bioinformatika.

### **2.3. Uji Organoleptik**

uji organoleptik dilakukan dengan metode *Uji Deskriptif*. Uji deskriptif ini merupakan uji yang digunakan untuk mendapatkan gambaran utuh mengenai karakteristik suatu produk. Pengujian ini didasarkan pada proses penginderaan, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra akan sifat-sifat benda karena adanya rangsangan yang diterima alat indra yang berasal dari benda tersebut. Rangsangan yang dapat diindra dapat bersifat mekanis (tekanan, tusukan), bersifat fisis (dingin, panas, sinar, warna), sifat kimia (bau, aroma, rasa) (Erungan, 2005). Pengujian ini dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

- Persiapan panelis, panelis disiapkan sebanyak 20 orang, dimana panelis ini merupakan orang-orang yang sudah agak terlatih sebelumnya yang akan bertugas menilai sifat atau mutu komoditi berdasarkan kesan subjektif.
- Persiapan Laboratorium Pengujian, Untuk melakukan uji organoleptik dibutuhkan beberapa ruang yang terdiri dari bagian persiapan (dapur), ruang pencicip dan ruang tunggu atau ruang diskusi.
- Tahap pelaksanaan, tahapan ini dimulai dengan mempersilahkan panelis duduk ditempat yang telah disediakan, kemudian dibagikan seluruh tempe kepada seluruh panelis dalam jumlah yang sama, kemudian panelis memberikan penilaian mereka terhadap tempe tersebut dengan memberikan nilai pada kertas yang telah dibagikan kepada masing-masing panelis.

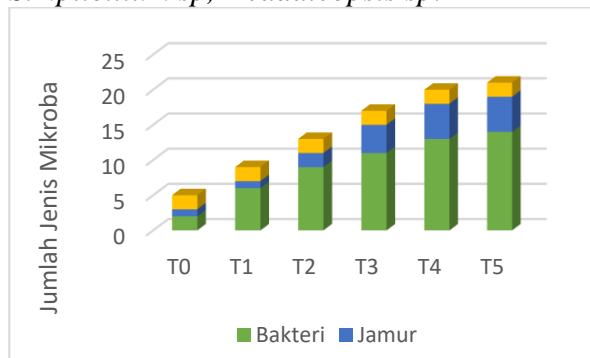
### **2.4. Pengujian Asam Amino**

Teknik analisis yang digunakan dalam uji asam amino ini menggunakan metode UPLC. UPLC (*Ultra-Performance Liquid Chromatography*) atau sering dikenal dengan “Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi” merupakan metode HPLC yang dimodifikasi yang terdiri dari tekanan tinggi dan partikel yang berukuran kecil (kurang dari 2 µm).

UPLC adalah teknik analisis kromatografi yang menggunakan alat ampuh dalam teknik pemisahan.

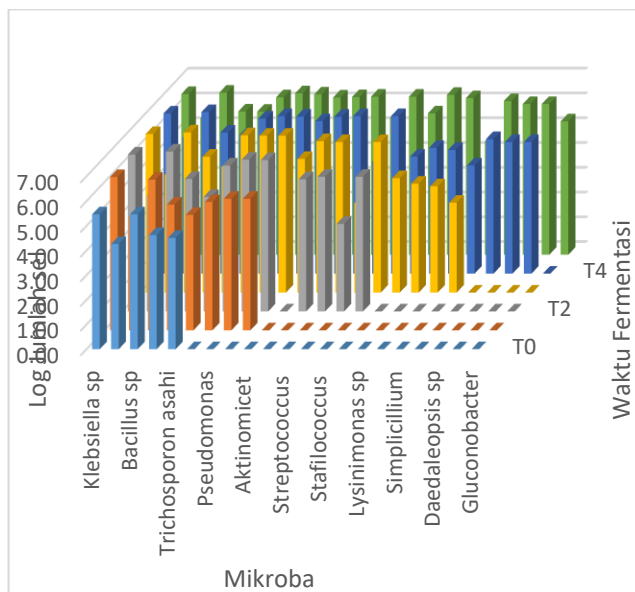
### 3. Hasil dan Pembahasan

Setelah dilakukan isolasi pada tempe Malang didapatkan 20 Isolat mikroba dengan 12 Bakteri, 6 Jamur dan 2 ragi (Gambar.1). Hasil sekuensing (16 rRNA dan ITS) menunjukkan beberapa mikroba yang ada pada tempe Malang adalah *Klebsiella sp*, *Bacillus cereus*, *Janibacter sp*, *Gluconobacter sp*, *Bacillus sp*, *Lysinimonas sp*, *Pseudomonas sp*, *Cladosporium sp*, *Trichosporon asahi*, *Simplicillium sp*, *Deadaleopsis sp*.



Gambar 1. Jumlah jenis mikroba spesies bakteri, jamur, dan ragi pada proses pembuatan tempe Malang.

Sementara Dinamika perubahan komunitas mikroba selama fermentasi tempe Malang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Dinamika Perubahan Komunitas Mikroba Selama Fermentasi Tempe Malang

Pada proses fermentasi tempe Malang dapat ditemukan interaksi yang terjadi terutama yang

dilakukan oleh ragi dengan *R. oligosporus* dimana Ragi *Trichosporon sp*, ragi M2T0 4 dan jamur *Rhizopus sp* tumbuh dalam waktu yang bersamaan interaksi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan jamur lainnya yang tumbuh pada tempe.

Selain *Rhizopus* mikroba lain yang tumbuh pada T0 adalah *Bacillus subtilis*, *Klebsiella sp*, *Rhizopus sp*, dan M2T0 4 (diduga *Pichia Burtonii*). Dari sekian banyak isolat ditemukan banyak isolat dengan bakteri berbentuk basil yang kemudian diidentifikasi merupakan *Bacillus sp*. Beberapa genus *Bacillus* seperti *B. Amyloliquefaciens* dari berbagai pangan fermentasi ditemukan mampu menghasilkan enzim fibrinolitik yang kuat dari douchi yaitu pangan fermentasi kedelai dari Cina (Peng & Zhang 2003).

Pada grafik perubahan komunitas mikroba tempe Malang (Gambar 2) dapat dilihat bahwa *Bacillus* sudah nampak pada mulai T0 karena bakteri ini sebenarnya sudah mulai tumbuh dari mulai proses perendaman kedelai hal ini selaras dengan hasil penelitian Nurdini (2015) yang menunjukkan bahwa LAB dan *Bacillus* telah terlibat sejak proses perendaman dan terus terbawa hingga tahap penyimpanan dimana jumlah mikroba yang tinggi pada awal fermentasi ini juga berkorelasi dengan jumlah pH rendah (4-6) yang terjadi pada awal.

*Klebsiella* merupakan salah satu mikroba yang sering ditemukan pada fermentasi tempe. Bakteri gram negatif ini dapat menguraikan laktosa, bakteri *Klebsiella* yang ada di Indonesia yang berasal dari tempe memiliki profil genom yang unik yang tidak sama dengan *Klebsiella* penyebab penyakit *pneumoniae*. Bakteri ini dapat membentuk proses pembentukan B<sub>12</sub> dan mengurangi enterotoksin yang dihasilkan oleh bakteri pencemar yang ada pada tempe (Wirakusumah, 2004).

#### 3.1. Perhitungan Angka Lempeng Total Mikroba (Bakteri, Fungi dan Ragi)

Hasil penghitungan Nilai rata-rata angka lempeng Total bakteri, ragi, dan jamur dapat dilihat pada Tabel 1. Jumlah tertinggi pada Jamur dan ragi terjadi pada jam ke- 36 yaitu mencapai  $6,2 \times 10^5$  CFU/gram, sedangkan laju pertumbuhan jamur dan ragi tercepat selama

fermentasi terjadi pada T1 menuju T2 yaitu sebesar 0.10/jam dengan kelimpahan jamur dan ragi mencapai  $2,0 \times 10^5$  CFU/jam.

Tabel 1. Perhitungan Angka Lempeng Total Fungi dan Ragi, pH, laju Pertumbuhan spesifik

Mikroba	Waktu Fermentasi (jam)	Angka Lempeng Total (CFU/g)	jumlah log	Laju Pertumbuhan Spesifik	pH
jamur	0	$4,2 \times 10^4$	4.63	0.03	4.40
	12	$5,0 \times 10^4$	4.76	0.10	4.50
	24	$2,0 \times 10^5$	5.3	0.09	4.76
	36	$6,2 \times 10^5$	5.79	0.01	5.03
	48	$6,5 \times 10^5$	5.82	-0.01	5.40
	60	$6,0 \times 10^5$	5.79	0.22	5.93
Bakteri	0	$4,6 \times 10^5$	5.67	0.07	4.40
	12	$1,0 \times 10^6$	6.04	0.02	4.50
	24	$1,4 \times 10^6$	6.15	0.06	4.76
	36	$2,9 \times 10^6$	6.47	0.01	5.03
	48	$3,2 \times 10^6$	6.51	0.02	5.40
	60	$3,9 \times 10^6$	6.59	0.25	5.93

Sedangkan perhitungan bakteri pada T0 (0 jam) sebesar  $4,0 \times 10^5$  CFU/gram jumlah bakteri terus mengalami peningkatan hingga akhir fermentasi dimana laju pertumbuhan tertinggi terjadi pada T2 yaitu sebanyak 0,06/jam dengan kelimpahannya sebesar  $1,4 \times 10^6$ .

### 3.2. Hasil Uji Organoleptik

Hasil pengujian Organoleptik dapat dilihat pada Tabel IV.2

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptik tempe Malang pada umur 28 Jam

Parameter Analisis	Hasil Uji Deskriptif Tempe Malang	Hasil Uji Deskriptif Tempe Bandung
Warna	6.14	4.70
Tekstur	6.89	5.99
Manis Awal	4.70	4.76
Rasa Mentah	5.70	3.67
Rasa Pahit (after taste)	4.07	2.99

Tingkat kesukaan panelis terhadap warna dari tempe Malang sangat tinggi yakni mencapai 6,1. Semakin tinggi nilainya akan semakin tegas warnanya. Semakin putih warnanya maka hifa yang mengelilingi kedelai ini semakin

banyak seperti yang dikatakan oleh Kumalasari (2012). Dibandingkan dengan tempe Bandung rasa pahit di bagian akhir tempe Malang ini jauh lebih tinggi dengan rasa pahit sebesar 4.07. Rasa pahit (after taste) yang terdapat pada tempe Malang ini terjadi karena adanya hidrolisis asam amino. Terdapat asam amino yang dapat menimbulkan rasa pahit yaitu *Fenilalanin*, *lisin*, *arginin*, *prolin*, *isoleusin*, *valin*, *methionin* dan *histidin*. Setelah dilakukan uji asam amino ternyata kandungan fenilalanin dan lisin pada tempe Malang ini terbilang sangat tinggi mencapai 36239.60 ppm sedangkan lisin sebanyak 14402.03 ppm.

### 3.3. Hasil Uji Asam Amino

Hasil pengujian asam amino dan nilai gizi tempe Malang dapat dilihat pada tabel 3 dan tabel 4.

Tabel 3. Hasil pengujian asam amino tempe Malang pada jam ke 48

Asam Amino	Unit	Hasil tempe Malang
L-Fenilalanin	Ppm	36239.60
L-Asam Aspartat	Ppm	18994.91
L-Leusin	Ppm	16417.10
L-Lisin HCl	Ppm	14402.03
L-Arginin	Ppm	12653.78
L-Isoleusin	Ppm	12067.07
L-Asam Glutamat	Ppm	11050.08
L-Prolin	Ppm	9773.41
L-Valin	Ppm	9770.42
Glisin	Ppm	9160.00
L-Alanin	Ppm	9063.50
L-Threonin	Ppm	8673.11
L-Tirosin	Ppm	7742.93
L-Histidin	Ppm	5747.74
L-Serin	Ppm	204.04

Kandungan asam amino tertinggi pada sampel Malang ini adalah Fenilalanin dan aspartat. Jumlah fenilalanin pada tempe Malang ini adalah 36239.60/ppm. Pada pengujian ini asam aspartat yang dihasilkan bernilai

18994.91/ppm. Selain dilakukan uji asam amino dilakukan juga uji proksimat dengan hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel.4. Hasil Pengujian Nilai Gizi tempe Malang pada usia 48 jam.

Parameter Gizi	Unit	Hasil
Energi dari Lemak	kcal/100 g	103.32
Energi total	kcal/100 g	204.04
Kadar air	%	62.30
Kadar abu	%	1.04
Lemak Total	%	11.48
Protein	%	19.43
Karbohidrat total	%	5.75

Nilai mutu tempe Malang mulai dari kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein telah sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) yang ditetapkan, dimana kadar air tempe Malang 62.30%, kadar abu sebanyak 1.04 Lemak total 11,48% dan protein 19,43%.

#### 4. Kesimpulan

Diperoleh 20 Isolat mikroba dengan 12 isolat Bakteri, 6 isolat Jamur dan 2 isolat ragi dari tempe Malang. Beberapa isolat tersebut berhasil diidentifikasi diantaranya adalah *Klebsiella sp.*, *Pantoea agglomerans*, *Actinobacterium*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Brucella suis*, *R hizopus sp.* *Daedaleopsis sp.*, *Tichosporon sp.*, *Cladosporium* dan *Simplicillium sp.* Struktur komunitas sebelum proses pembuatan tempe Malang mengalami perubahan dari awal hingga akhir pada T0 hanya terdapat beberapa jamur ragi, dan bakteri seperti *Rhizopus*, *trichosporon*, *Klebsiella* dan *Bacillus*, T1 komunitas bakterinya bertambah dengan adanya *Pseudomonas*, *Cladosporium*, *Daedaleopsis* dan beberapa bakteri lainnya, pada T2 terdapat *Brucella*, *Bacillus* Dan *Simplicium*, pada T3 terdapat *Actinomicet*, pada T4 bertambah dengan adanya *Actinobacterium* dan *bacillus* sedangkan pada T5 muncul *Pantoea agglomerans*. Hasil uji organoleptik menunjukkan Parameter Warna bernilai 6,14, rasa manis awal bernilai 4,76, tekstur 6,89, rasa mentah 5,70 dan rasa pahit di akhir senilai 4,07. Kandungan asam amino tertinggi pada sampel Malang ini adalah *Fenilalanin* dan asam aspartat, kedua asam

amino ini asam amino yang dapat menghasilkan rasa umami pada makanan. Jumlah fenilalanin pada tempe Malang ini adalah 36239.60/ppm dan aspartat adalah 18994.91/ppm.

#### Daftar Pustaka

- Broadbent, J. R., C. Brotherson., C. J. Oberg., and M. E. Johnson. (2002): Cheese micro-ecology and the influence of adjunct/wash techniques. *Australian Journal of Dairy Technology*, Vol 57 No. 2. Hal 137-142.
- Erungan, C., A., Ibrahim, B., Yudistira, N. (2005). Analisis Pengambilan Keputusan Uji Organoleptik dengan Metode Multi Kriteria. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, Vol. 8. No. 1.
- Hagedorn, S., Kaphammer, B. (1994): Microbial biocatalysis in the generation of flavour and fragrance chemicals. *Annual Review of Microbiology*. Union Camp Technology Center, Princeton, New Jersey. 48:773—80.
- Kadar A, Darwati, (2018): Studi Dinamika Komunitas Mikroba pada Fermentasi Tempe Bandung, Intitut Teknologi Bandung. Bandung.
- Kumalasari, R. (2012): Pengaruh konsentrasi inokulum terhadap kualitas tempe kedelai (*Glycine max* (L). Universitas Kristen Satya Wacana: Salatiga.
- Mulyowidarso, R.K., Fleet, G.H. dan Buckle, K.A. (1989): The microbial ecology of soybean soaking for Tempe production. *International Journal of Food Microbiology* 8: 35-46
- Nuraida, L., Suliantari, Andarwulan, N., Adawiyah D. R., Noviar, R. and Agustin D. (2008): Evaluation of soybean varieties on production and quality of tempe. In: Hardiansyah, Astawan, M., Kusumaningrum, Amelia, L., Briawan, D. and Aries, M. (Eds). *Proceedings of Recent Developments On Tempe: Technology, Standards, and Its Potency in Health and Nutrition Improvement*, p. 1. Bogor.
- Nurdini, A. L., Nuraida, L., Suwanto, A., .and Suliantari (2015): Microbial growth dynamics during tempe fermentation in two different home industries. *Institut Pertanian Bogor, International Food Research Journal* 22(4): 1668-1674 (2015).
- Peng Y, Huang Q, Zhang RH, Zhang YZ.(2003): Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus*

emyloliquefaciens DC-4 screened from Douchi, a traditional Chinese soybean food. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 45-52.

Wirakusumah, Emma. (2004): Tips dan solusi gizi untuk tetap sehat, cantik dan bahagia di masa menopause dengan terapi estrogen alami. Gramedia Pustaka utama. Jakarta.