

Proses Pembuatan Tempe Kedelai

III. Analisis mikrobiologi

Hestining Pupus Pangastuti*, Sitoresmi Triwibowo**

* Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Departemen Kesehatan RI, Jakarta

** Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan
Departemen Kesehatan RI, Jakarta

ABSTRAK

Dalam proses pembuatan tempe terdapat jamur dan bakteri. Jamur yang dominan terdapat dalam tempe adalah *Rhizopus sp.* Keikutsertaan bakteri dalam proses pembuatan tempe tidak dapat dihindari walaupun dalam pembuatannya sudah secara higienis dalam laboratorium dan dengan menggunakan inokulum kultur murni sebab kontaminasi akan selalu terjadi oleh spora bakteri yang berasal dari kedelai.

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan CRD dengan tiga perlakuan yaitu, perendaman 12 jam (P12), perendaman 18 jam (P18) dan perendaman 24 jam (P24). Pada tahap fermentasi dilakukan variasi lama waktu fermentasi yaitu fermentasi 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60jam, 84 jam dan fermentasi 108 jam untuk tiap perlakuan. Inokulum yang digunakan untuk pembuatan tempe adalah *Rhizopus oligosporus L 41*. Analisis mikrobiologi meliputi perhitungan jumlah jamur dan bakteri yang dihitung secara tidak langsung dengan membuat taburan dalam cawan petri. Untuk menghitung bakteri digunakan medium potato dextrosa agar (PDA), setelah diinkubasi selama 24 jam.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah jamur pada awal fermentasi (fermentasi 24 jam) tinggi. Semakin lama waktu fermentasi yaitu dan fermentasi 24 jam sampai 108 jam ternyata jumlah jamur menurun. Untuk jumlah bakteri mula-mula naik dan fermentasi 24 jam sampai 60 jam, tetapi pada fermentasi 108 jam ternyata jumlah bakteri menurun.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa selama fermentasi terjadi perubahan jumlah jamur dan bakteri dalam proses pembuatan tempe kedelai.

PENDAHULUAN

Tempe adalah makanan hasil fermentasi yang populer di Indonesia, dibuat dari kacang-kacangan yang diinokulasi dengan jamur *Rhizopus oligosporus* sehingga membentuk padatan kompak berwarna putih. Warna putih disebabkan adanya miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai. Tekstur kompak juga disebabkan oleh miselia jamur yang menghubungkan biji-biji kedelai tersebut⁽¹⁾. Banyak sekali jamur yang aktif selama fermentasi, tetapi umumnya para peneliti menganggap bahwa *Rhizopus sp* merupakan jamur yang paling dominan. Jamur yang

tumbuh pada kedelai tersebut menghasilkan enzim-enzim yang mampu merombak senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga senyawa tersebut dengan cepat dapat dipergunakan oleh tubuh

Dilaporkan bahwa *Rhizopus oligosporus* menghasilkan enzim-enzim protease. Perombakan senyawa kompleks protein menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana adalah penting dalam fermentasi tempe, dan merupakan salah satu faktor utama penentu kualitas tempe, yaitu sebagai sumber protein nabati yang memiliki nilai cerna amat tinggi. Kandungan protein yang di-

nyatakan sebagai kadar total nitrogen memang tidak berubah selama fermentasi. Perubahan terjadi atas kadar protein terlarut dan kadar asam amino bebas⁽³⁾.

Bakteri dan ragi sudah lama diduga ikut serta dalam fermentasi tempe. Terikatnya mikroorganisme tersebut dapat terjadi selama proses pengolahan, terutama sesudah perebusan menjelang inokulasi, karena semula diduga bahwa perebusan mematikan semua bakteri yang tumbuh selama perendaman. Kontaminasi tersebut dapat berasal dari peralatan dan bahan pembungkus, dan luar atau ditularkan oleh para pekerja. Disamping itu bakteri dan ragi dapat pula mencemari tempe selama pemasaran (tanpa ikut serta dalam proses fermentasi)⁽¹⁾.

Keikutsertaan bakteri dalam proses pembuatan tempe memang tidak dapat dihindari meskipun tempe dibuat secara higienis dalam laboratorium dan dengan menggunakan inokulum kultur murni; kontaminasi akan selalu terjadi oleh spora bakteri yang berasal dari kedelai. Karena dengan pertimbangan bahwa pemanasan bertekanan atau pada suhu tinggi dalam waktu yang lama selama perebusan akan merusak tekstur kedelai, spora bakteri dan kedelai tidak akan mati. Spora ini akan tumbuh dan berbiak selama proses fermentasi oleh jamur tempe⁽⁴⁾.

Penelitian baru menunjukkan bahwa bakteri kontaminan dalam fermentasi tempe bukan hanya oleh bakteri berspora. Dijumpai pula bakteri asam laktat dan *Enterobacteriaceae* berasal dari kontaminan kedelai yang tumbuh dan berbiak selama perendaman dan tidak terbunuh akibat perebusan kedelai selama 30 menit mendidih. Diduga berbagai senyawa yang terekstrak dari biji kedelai, kemudian larut dan terdispersi dalam air rebusan melindungi bakteri kontaminan dan kematian akibat perebusan.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah mikroba yang meliputi jamur dan bakteri yang terbentuk selama proses pembuatan tempe (perendaman, perebusan dan fermentasi).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan yang digunakan untuk analisis mikrobiologi adalah tempe yang telah dikeringkan dan teah dibuat tepung. Tempe yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dan kedelai jenis Wilis yang diperoleh dan Pasar Kranggan Yogyakarta dan ragi *Rhizopus oligosporus L 41* yang diperoleh dan Laboratorium Teknik Kimia Institut Teknologi Bandung di Bandung. Dalam proses pembuatan tempe dilakukan dengan rancangan CRD (*Complete Randomized Design*), dengan tiga kali perlakuan perendaman yaitu perendaman 12 jam, perendaman 18 jam dan perendaman 24 jam. Pada tahap fermentasi dilakukan variasi lama waktu fermentasi yaitu, fermentasi 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam, 84 jam dan fermentasi 108 jam untuk tiap perlakuan. Masing-masing perlakuan dikerjakan dengan tiga kali ulangan.

Untuk keperluan analisis mikrobiologi perlu dilakukan pembuatan medium. Dalam penelitian dibuat dua macam medium, yaitu:

A) Medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA)

Bahan:

- kentang 200-300 g
- dextrosa 2%
- agar-agar 15 g
- akuades 1000 ml

Cara kerja:

- 1) Kentang dikupas, dipotong-potong dan dicuci, kemudian dipanasi pada suhu 70°C selama 1 jam dan disaring.
- 2) Agar-agar dicampur dan dipanaskan sambil diaduk-aduk, pH diatur sampai 5,5.
- 3) Larutan medium disterilkan pada suhu 120°C selama 15 menit.

B) Medium Nutrien Agar (NA)

Bahan:

- medium NA 13,5 g
- agar-agar 15 g
- akuades 1000 ml

Cara kerja:

- 1) Medium NA dimasukkan dalam akuades, kemudian dicampur.
- 2) Agar-agar dicampur dan dipanaskan dalam penangas air sambil diaduk-aduk sampai mendidih dan agar-agar larut.
- 3) Larutan medium disterilkan pada suhu 120°C selama 15 menit.

ANALISIS MIKROBIOLOGI

Analisis mikrobiologi meliputi perhitungan jumlah jamur dan bakteri (Jutono dkk, 1975). Jamur dan bakteri tempe dihitung secara tidak langsung dengan membuat taburan dalam cawan petri. Pada mulanya dibuat sen pengenceran bahan dengan kelipatan 10. Dan masing-masing pengenceran diambil 1 ml dan dituangkan ke dalam cawan petri. Untuk menghitung bakteri digunakan medium nutrien agar, sedang untuk jamur dengan medium PDA. Dalam penentuan ini dibuat seri pengenceran dan 10⁻⁵ sampai 10⁻⁷ Setelah diinkubasi dihitung jumlah koloni jamur dan bakteri dalam tiap gram berat kering bahan. Sedang waktu inkubasi yang dibutuhkan 24 jam.

Contoh perhitungan jamur dan bakteri dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Perhitungan jumlah jamur

Pengenceran	Jumlah koloni		Rerata	Jumlah jamur
	1	2		
10-5	324	329	326,5	326,5.10 ⁵
10-6	135	137	136	136.10 ⁶
10-7	84	90	87	87.10 ⁷
Kontrol	0	0	0	0
Total				10386,5.10 ¹
Rerata				346,2.10 ⁶

Jumlah jamur dalam 1 ml = 346,2.10⁶ per gram bahan basah
 Dalam 1 gram bahan basah 0,362 gram bahan kering
 Jadi jumlah jamur per gram bahan kering = 346,2.10⁶ x 0,362
 = 125,9.10⁶
 Jumlah tersebut bila dalam bentuk log = 8,098.

Perhitungan jumlah bakteri

Syarat:

- 1) Jumlah koloni tiap *petri dish* antara 30-300 koloni, bila tidak ada, dipilih yang mendekati.
- 2) Tidak ada *spreader* (koloni yang menutup lebih dan setengah luas *petri dish*).
- 3) Bila perbandingan jumlah bakteri antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya <2, hasilnya dirata-rata, tetapi bila > 2, yang dipakai jumlah bakteri dan pengenceran sebelumnya.
- 4) Bila dengan ulangan dan hasil memenuhi syarat, hasilnya dirata-rata.

Contoh perhitungan:

Tabel 2. Perhitungan jumlah bakteri

Pengenceran	Jumlah koloni		Rerata	Jumlah bakteri
		2		
10 ⁻⁵	298	281	289,5	289,5.10 ⁵
10 ⁻⁶	98	83	90,5	90,5.10 ⁶
10 ⁻⁷	-	-	-	-
Kontrol	0	0	-	0

Ratio $\frac{90,5 \cdot 10^6}{289,5 \cdot 10^5}$

$289,5 \cdot 10^5 > 2$, diambil pengenceran sebelumnya.

Jumlah bakteri = (x - kontrol). faktor pengenceran.

Jumlah bakteri yang dipakai 289,5.10⁵

Jumlah bakteri dalam 1 ml = (289,5 - 0) x 10⁵

= 289,5.10⁵ per gram bahan basah

Dalam 1 gram bahan basah = 0,362 gram bahan kering

Jumlah bakteri dalam 1 gram bahan kering = 289,5.10⁵ x 0,362

= 73,85.10⁵

Jadi jumlah bakteri per gram bahan kering = 73,85.10⁵

Hasil tersebut bila dalam bentuk log = 6,869.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis mikrobiologi berupa perhitungan jumlah mikrobial yang meliputi jamur dan bakteri. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah jamur pada awal fermentasi (fermentasi 24 jam) tinggi. Semakin lama waktu fermentasi yaitu dan fermentasi 24 jam sampai fermentasi 108 jam ternyata jumlah jamur menurun (**Tabel 2**). Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti pH, kadar air dan kebutuhan nutrisi⁽⁵⁾.

Tabel 2. Jumlah jamur (dalam log) selama waktu fermentasi

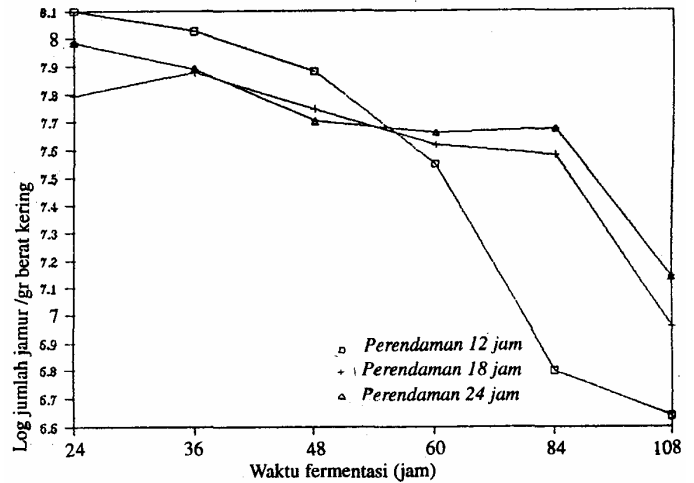
Perendaman (jam)	Jumlah jamur (dalam log)					
	Lama fermentasi (jam)					
	24	36	48	60	84	108
12	8,099 ^a	8,026 ^a	7,880 ^a	7,550 ^a	6,796 ^a	6,640 ^a
18	7,793 ^b	7,877 ^b	7,746 ^b	7,619 ^b	7,582 ^b	6,957 ^b
24	7,984 ^a	7,889 ^c	7,704 ^c	7,662 ^c	7,767 ^b	7,137 ^c

Keterangan: N = 3, angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata.

Menurut Sorenson dan Hesseltine (1986), *Rhizopus sp* tumbuh baik pada kisaran pH 3,4-6. Pada penelitian semakin lama waktu fermentasi, pH tempe semakin meningkat sampai

pH 8,4, sehingga jamur semakin menurun karena pH tinggi kurang sesuai untuk pertumbuhan jamur.

Secara umum jamur juga membutuhkan air untuk pertumbuhannya, tetapi kebutuhan air jamur lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri. Pada penelitian ini kadar air tempe semakin meningkat sampai pada fermentasi 108 jam diikuti dengan jumlah jamur yang semakin menurun (**Gambar 1**). Penurunan jumlah jamur ini disebabkan



Gambar 1. Jumlah jamur pada tempe selama waktu fermentasi; meningkatnya kadar air menghalangi difusi oksigen sehingga jamur terhambat pertumbuhannya.

Selain pH dan kadar air yang kurang sesuai untuk pertumbuhan jamur, penurunan jumlah jamur mungkin juga disebabkan kurangnya nutrisi dalam bahan, sehingga akhirnya jamur banyak yang mati.

Analisis statistik menunjukkan perbedaan nyata antara ketiga perlakuan perendaman pada taraf uji 5%; sedang pada fermentasi 24 jam menunjukkan tidak ada beda nyata antara perlakuan P12 dengan perlakuan P24, dan pada fermentasi 84 jam antara perlakuan P18 dengan perlakuan P24 menunjukkan tidak ada beda nyata.

Jumlah bakteri mula-mula naik dari fermentasi 24 jam sampai fermentasi 60 jam yaitu berkisar antara 6,839 sampai 8,767. Tetapi dan fermentasi 60 jam sampai fermentasi 108 jam ternyata jumlah bakteri menurun (**Tabel 3**).

Tabel 3. Jumlah bakteri (dalam log) tempe selama fermentasi

Perendaman (jam)	Jumlah bakteri (dalam log)					
	Lama fermentasi (jam)					
	24	36	48	60	84	108
0	5,947 ^b	6,466 ^a	7,996 ^a	6,710 ^a	6,504 ^a	6,262 ^a
12	6,839 ^a	6,868 ^c	6,999 ^a	7,693 ^b	6,663 ^b	5,593 ^b
18	6,884 ^a	6,895 ^b	7,958 ^b	8,767 ^c	8,021 ^c	5,993 ^c
24	6,884 ^a	6,898 ^b	7,970 ^b	8,687 ^c	8,038 ^d	6,286 ^a

Keterangan: N = 3,

Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata.

Dari analisis statistik pada taraf uji 5%, pada fermentasi 84 jam dan 108 jam ada perbedaan nyata untuk ketiga perlakuan. Pada fermentasi 36 jam dan fermentasi 60 jam, untuk perlakuan P18 tidak ada beda nyata dengan perlakuan P24. Pada fermentasi 48 jam perlakuan P12 tidak berbeda nyata dengan kontrol dan juga antara perlakuan P18 dengan P24 tidak ada beda nyata.

Jumlah bakteri yang rendah pada awal fermentasi disebabkan bakteri sedang menyesuaikan diri terhadap lingkungan hidupnya yang baru. Dalam penyesuaian tersebut beberapa bakteri akan mati sedang bakteri yang kuat akan mampu bertahan hidup dan memperbanyak diri, sehingga pada fermentasi 60 jam bakteri tumbuh makin banyak. Kenaikan jumlah bakteri juga disebabkan kadar air yang semakin meningkat, sebab bakteri membutuhkan air yang lebih banyak dibanding dengan jamur⁽⁵⁾. Meningkatnya kadar air diikuti dengan turunnya jumlah jamur.

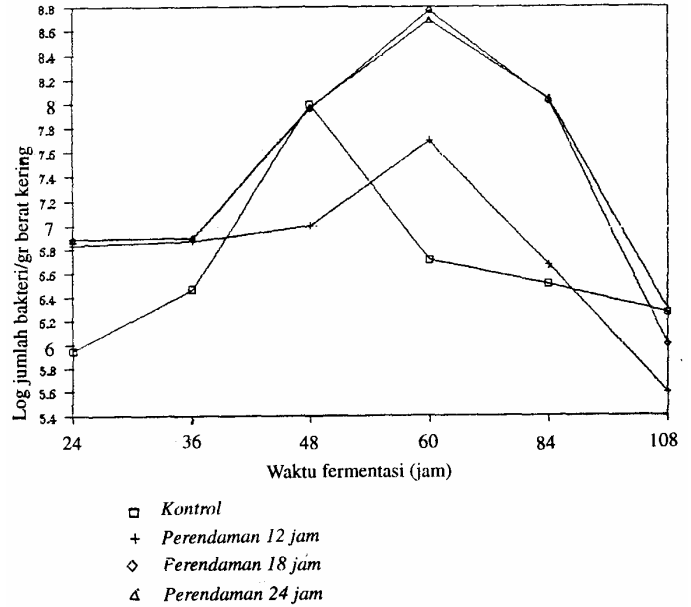
Gambar 2 memperlihatkan pengaruh lama fermentasi terhadap jumlah bakteri. Pada fermentasi 108 jam jumlah bakteri menurun, hal ini mungkin karena habisnya bahan gizi yang tersedia atau naiknya pH tempe sampai pH 8,4 sebab terjadi penimbunan zat beracun sebagai hasil akhir metabolisme (Buckle dkk, 1985), padahal bakteri ini tumbuh baik pada pH sekitar netral (pH 7,0)⁽⁵⁾. Jadi pada pH yang tinggi pertumbuhan bakteri akan terhambat dan menyebabkan bakteri banyak yang mati.

KESIMPULAN

- 1) Selama fermentasi terjadi perubahan jumlah jamur dan bakteri dalam proses pembuatan tempe kedelai.
- 2) Semakin lama waktu fermentasi yaitu dan fermentasi 24 jam sampai 108 jam jumlah jamur menurun.
- 3) Jumlah bakteri pada awal fermentasi mula-mula naik dari fermentasi 24 jam sampai 60 jam, tetapi pada fermentasi 108 jam ternyata jumlah bakteri menurun.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian Iebih lanjut untuk mengetahui



Gambar 2. Jumlah bakteri pada tempe selama waktu fermentasi.

jenis bakteri kontaminan yang masuk ke dalam tempe selama proses pembuatan tempe.

KEPUSTAKAAN

1. Kuswanto KR. Fermentasi, PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Math, Yogyakarta, 1988.
2. Astuti M. Interaksi Zat Besi dengan Asam Fitat dan Protein dalam Tempe, PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
3. Kasmidjo RB. Tempe. Kumpulan Hand Out Kursus Singkat Fermentasi Pangan. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1989.
4. Mulyowidarso RK. The Microbiology and Biochemistry of Soybean Soaking for Tempe Fermentation. Thesis. The University of New South Wales, Department of Food Science and Technology, 1988.
5. Rahayu K. Mikrobiologi Pangan, P Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1989.

*In difficullity alone does the nobility of great souls prove itself
(Schiller)*