



# PENGARUH VARIASI SUHU RUANG INKUBASI TERHADAP WAKTU PERTUMBUHAN RHIZOPUS OLIGOSPORUS PADA PEMBUATAN TEMPE KEDELAI

**Agus Wahyudi**

Dosen tetap Program Studi Teknik Kimia Universitas PGRI Palembang

email : wagus981@gmail.com

## ABSTRAK

Tempe merupakan makanan asli tradisional masyarakat Indonesia yang sangat populer sebagai makanan yang murah dan berprotein tinggi serta banyak manfaatnya bagi kesehatan manusia. Kacang-kacangan dan umbi-umbian cepat sekali terkena jamur (*aflatoksin*) sehingga mudah menjadi layu dan busuk. Untuk mengatasi masalah ini, bahan tersebut perlu diawetkan. Dengan banyaknya kebutuhan masyarakat Indonesia terhadap konsumsi tempe serta pembuatannya memerlukan waktu lebih kurang dari 48 jam sehingga pasokan tempe dimasyarakat belum memenuhi kebutuhan dimasyarakat, maka penulis melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Variasi Suhu Ruang Inkubasi Terhadap Pertumbuhan *Rhizopus Oligosporus* pada pembuatan Tempe Kedelai “. Dari hasil penelitian didapat hasil yang terbaik, Hubungan antara jumlah koloni jamur *Rhizopus Oligosporus* dengan waktu fermentasi (jam) pada pengenceran  $10^{-1}$  pada suhu ruang inkubasi  $35^{\circ}\text{C}$  memperlihatkan beberapa fase, yaitu (1) fase lag dengan waktu fermentasi 0 (nol) sampai 12 jam belum ada pertumbuhan, (2) fase akselerasi dengan waktu fermentasi 12 sampai 24 jam terdapat 4 koloni sampai 10 koloni, (3) fase eksponensial dengan waktu fermentasi 24 sampai 36 jam diperoleh 10 koloni sampai 69 koloni, merupakan fase pertumbuhan optimum, (4) fase kematian dengan waktu fermentasi 36 sampai 48 jam pertumbuhan dari 69 koloni menurun sampai 40 koloni, sampai tidak ada pertumbuhan.

Kata Kunci : Tempe kedelai, inkubasi, *Rhizopus oligosporus*

## PENDAHULUAN

Tempe merupakan makanan asli tradisional masyarakat Indonesia yang sangat populer sebagai makanan yang murah dan berprotein tinggi serta banyak manfaatnya bagi kesehatan manusia. Kacang-kacangan dan biji-bijian seperti kacang kedelai, kacang tanah, biji kecipir, koro, kelapa dan lain-lain merupakan bahan pangan sumber protein dan lemak nabati yang sangat penting peranannya dalam kehidupan. Asam amino yang terkandung dalam proteinnya tidak selengkap protein hewani, namun penambahan bahan lain seperti wijen, jagung atau menir adalah sangat baik untuk menjaga keseimbangan asam amino tersebut.

Kacang-kacangan dan umbi-umbian cepat sekali terkena jamur (*aflatoksin*) sehingga mudah menjadi layu dan busuk. Untuk mengatasi masalah ini, bahan tersebut perlu diawetkan. Hasil

olahannya dapat berupa makanan seperti keripik, tahu dan tempe, serta minuman seperti bubuk dan susu kedelai. Kedelai merupakan sumber protein, dan lemak, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kadar protein kacang-kacangan berkisar antara 20-25%, sedangkan pada kedelai mencapai 40%. Dibandingkan dengan beras, jagung, tepung singkong, kacang hijau, daging, ikan segar, dan telur ayam, kedelai mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi, hampir menyamai kadar protein susu skim kering.

Bila seseorang tidak boleh atau tidak dapat makan daging atau sumber protein hewani lainnya, kebutuhan protein sebesar 55 gram per hari dapat dipenuhi dengan makanan yang berasal dari 157,14 gram kedelai. Dengan banyaknya kebutuhan masyarakat Indonesia terhadap konsumsi tempe serta pembuatannya memerlukan waktu lebih kurang dari 48 jam sehingga pasokan tempe dimasyarakat belum memenuhi kebutuhan dimasyarakat, maka penulis melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Variasi Suhu Ruang Inkubasi Terhadap Pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* pada pembuatan Tempe”.

Tempe merupakan makanan yang berprotein nabati yang sangat dibutuhkan bagi manusia, kebutuhan konsumsi masyarakat Indonesia terhadap tempe sangat banyak tidak sebanding dengan jumlah produksi tempe yang ada, permasalahan ini diakibatkan proses pertumbuhan jamur tempe pada pembuatan tempe dimasyarakat memerlukan waktu yang lama kurang lebih 2 hari.

Mengetahui Apakah Pengaruh Variasi Suhu Ruang Inkubasi Terhadap Waktu Pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* pada pembuatan tempe.

## TINJAUAN PUSTAKA

Kacang Kedelai atau dalam bahasa Inggris disebut dengan *Soybean* adalah jenis tanaman kacang-kacangan atau polong-polongan yang telah menjadi salah satu makanan populer di dunia. Tanaman yang diyakini berasal dari Asia Timur ini telah dibudidayakan sejak 3500 tahun yang lalu. Kacang Kedelai memiliki berbagai manfaat kesehatan bagi orang yang mengkonsumsinya, diantaranya seperti memperbaiki metabolisme, melindungi kesehatan jantung, meningkatkan berat badan dengan sehat, menjaga kesehatan tulang dan manfaat-manfaat lainnya. Kandungan gizi pada kacang kedelai yaitu mengandung Lemak tak jenuh seperti asam linolenat serta asam omega 3, Protein nabati, Serat, Kalsium, Lechitin, sumber vitamin A, vitamin B kompleks, dan vitamin E, serta fosfor, magnesium, juga zat besi.

*Rhizopus oligosporus* termasuk dalam *Zygomycota* yang sering dimanfaatkan dalam pembuatan tempe dari proses fermentasi kacang kedelai, karena *R. oligosporus* yang menghasilkan enzim *fitase* yang memecah fitat membuat komponen makro pada kedelai dipecah menjadi komponen mikro sehingga tempe lebih mudah dicerna dan zat gizinya lebih mudah terserap tubuh. Fungi ini juga dapat memfermentasi substrat lain, memproduksi enzim, dan mengolah limbah. Salah satu enzim yang diproduksi tersebut adalah dari golongan *protease*.

Suhu kamar (Bahasa Inggris: *room temperature*) atau suhu ruangan, dalam penggunaan ilmiah, dianggap kurang lebih antara 20 sampai 25 derajat Celsius (°C) (68 sampai 77 derajat Fahrenheit (°F), 528 sampai 537 derajat Rankine (°R), atau 293 sampai 298 Kelvin (K)), walaupun nilai tersebut bukanlah suatu nilai yang ditentukan dengan persis. Untuk kemudahan penghitungan, sering digunakan angka 20 °C atau 293 K. Untuk kenyamanan manusia, rentang suhu dan kelembapan relatif dapat diterima.

Inokulum Tempe Inokulum tempe merupakan kumpulan spora kapang yang memegang peranan penting dalam pembuatan tempe karena mempengaruhi kualitas tempe yang dihasilkan. Jenis kapang yang berperan utama dalam pembuatan tempe ialah *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus*

*oryzae*. Miselium *Rhizopus oryzae* lebih panjang dari pada *Rhizopus oligosporus* sehingga menghasilkan tempe yang lebih padat. Namun apabila dilihat dari segi peningkatan gizi protein kedelai, maka disinilah letak keunggulan *Rhizopus oligosporus*. Hal ini karena 19 *Rhizopus oligosporus* memproduksi enzim protease (pemecah protein) lebih banyak. Adapun *Rhizopus oryzae* lebih banyak mensintesis enzim  $\alpha$ -amilase (pemecah pati).

## METODOLOGI PENELITIAN

**Penelitian** dilaksanakan pada bulan Februari –April 2017, dilaksanakan di Laboratorium Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas PGRI Palembang.

### Alat dan bahan

- |  |                     |
|--|---------------------|
| 1. Baskom                                      | 13. Aquadest        |
| 2. Saringan                                    | 14. Kentang         |
| 3. Dandang                                     | 15. Labu erlenmeyer |
| 4. Kipas angin                                 | 16. Pisau           |
| 5. Sotel kayu                                  | 17. Gelas Ukur      |
| 6. Tampah                                      | 18. Termometer      |
| 7. Kompor                                      | 19. Mikroskop       |
| 8. Kapas                                       | 20. Dekstrose       |
| 9. Kacang Kedelai 0,5 Kg                       | 21. Autoclaf        |
| 10. Ragi tempe 0,5 Kg                          | 22. Mortar          |
| 11. Kantong plastic                            | 23. Cawan petri     |
| 12. Ragi Tempe ( <i>Rhizopus Oligosporus</i> ) | 24. Ruang Inkubasi  |

### Prosedur percobaan

#### Pembuatan Tempe Kacang Kedelai

- Bersihkan dan cuci kacang kedelai, lalu rendam dalam air bersih 1 x 24 jam
- Cuci kembali sambil kulitnya dan keping bijinya dipisahkan
- Kukus sampai agak empuk. Angkat dan letakkan di atas tampah yang bersih, biarkan sampai hangat, di tempat yang terlindung atau ditutup dengan kain kasa.
- Inokulasi dengan ragi tempe, diaduk supaya merata. Kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik yang telah diberi lubang kecil dengan jarum bertangkai, ujung kantong plastik diratakan sehingga terbentuk lempengan yang cukup tebal. Hindarkan terlalu banyaknya sentuhan tangan pada kantong plastik yang telah diberi isi bahan.
- Inkubasi variasi pada suhu 25, 30, 35 °C simpan dalam kotak inkubator selama 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam. Ulangi prosedur diatas untuk 3 x percobaan .

#### Pembuatan Medium Potato Dextrosa Agar

- Menyiapkan semua bahan yang akan digunakan,
- Memotong kentang hingga berbentuk dadu kecil,
- Menimbang semua bahan yang dibutuhkan sesuai komposisinya,
- Merebus kentang 200 gram ke dalam 1000 mL aquades hingga mendidih selama 20 menit,
- Menyaring kaldu kentang dengan menggunakan kapas lalu menambahkan aquades untuk mencukupkan volume larutan hingga 1000 mL,

- f. Memasukkan 15 gram dekstrose dan 10 gram bacto agar ke dalam kaldu,
- g. Memanaskan kaldu di atas api sambil mengaduknya hingga larutan homogen, kemudian mengangkat dan mendinginkannya.
- h. Memasukkan larutan ke dalam labu erlenmeyer lalu menutupnya dengan menggunakan kapas dan aluminium foil.
- i. Mensterilkannya dengan menggunakan autoclave 121 atm selama 15 menit.

### **Pembuatan Inokulum**

- a. Menimbang 1 gram sampel (tempe) untuk tiap cuplikan
- b. Menggerus sampel tersebut menggunakan mortar dengan menambahkan aquades steril 9 mL kemudian dihomogenkan,
- c. Memasukkan ke dalam tabung reaksi steril kemudian divortex untuk menghomogenkan larutan,
- d. Memipet 1 mL lalu memasukkan ke dalam 9 mL larutan pengencer, sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$

### **Penanaman/Pemupukan**

- a. Menuang medium PDA yang telah dibuat sebanyak 15-20 ml untuk tiap cawan (penuangan dilakukan bila medium telah mencapai suhu 45-50°C). Tidak perlu menggunakan termometer untuk mengukur rentang suhu tersebut, cukup menempelkan wadah media ke tangan. Bila wadah media dapat ditahan panasnya, berarti kisaran suhu tersebut telah terpenuhi,
- b. Menghomogenkan secara merata dengan cara menggoyang-goyangkan cawan.
- c. Membiarkan sampai medium memadat.
- d. Memipet 0,1 ml sampel pada masing-masing pengenceran kemudian disebar pada permukaan agar tersebut.
- e. Menginkubasi cawan petri pada suhu 25<sup>0</sup>, 30<sup>0</sup>, 35<sup>0</sup> C dengan posisi terbalik selama waktu 12 jam.
- f. Menghitung jumlah koloni yang tumbuh.
- g. Mengulang kembali perlakuan pada point a sampai f untuk cuplikan (variasi waktu dari 24 jam, 35 jam, 48 jam).

### **Menghitung Jumlah Koloni Jamur**

Menghitung Jumlah Koloni Jamur Menurut Srikandi Fardias (1989), jumlah kapang dan khamir di dalam contoh makanan dapat dihitung dengan metode hitungan cawan menggunakan medium *Potato Dextrose Agar* (PDA). Untuk melaporkan suatu hasil analisis mikrobiologi digunakan suatu standar yang disebut “*Standard Plate Count*” (SPC).

Cara menghitung koloni pada cawan yaitu:

- a. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 dan 300,
- b. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni,
- c. Suatu deretan atau rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Teknik Analisis Data Jumlah sel dalam setiap ml atau gram ditentukan dengan menggunakan persamaan:

$$N = n \times 1/fp \quad \text{Srikandi Fardias (1989)}$$

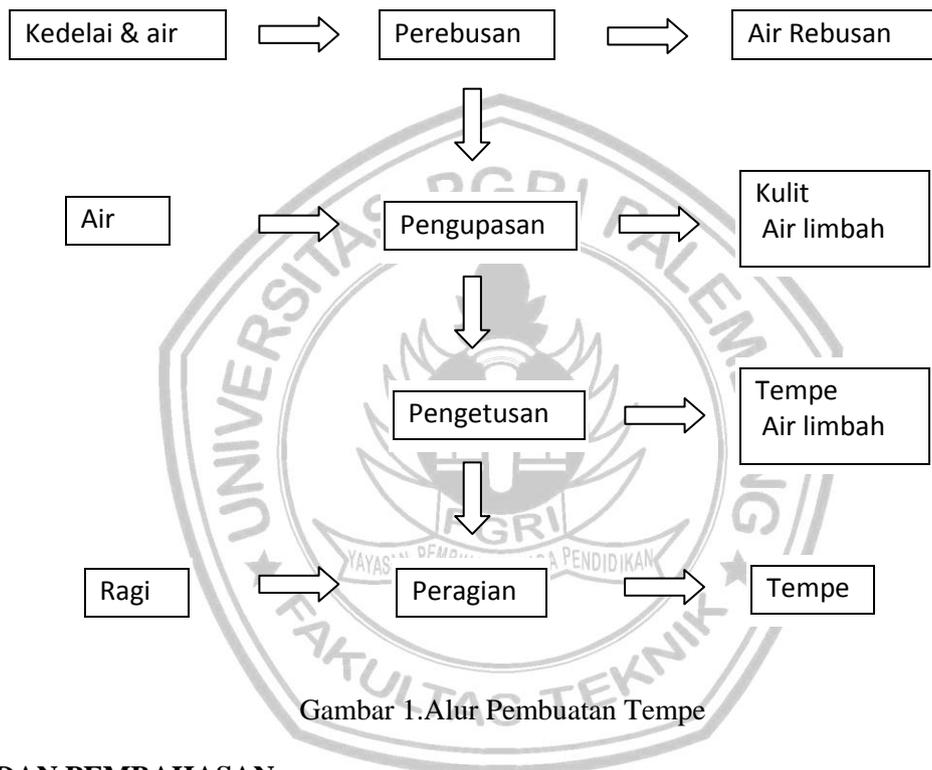
Dimana: N = Jumlah sel per ml atau per gram sampel

n = Jumlah koloni pada cawan

fp = Faktor pengenceran sampel

fp = Pengenceran awal x jumlah yang ditumbuhkan

Alur Pembuatan Tempe :

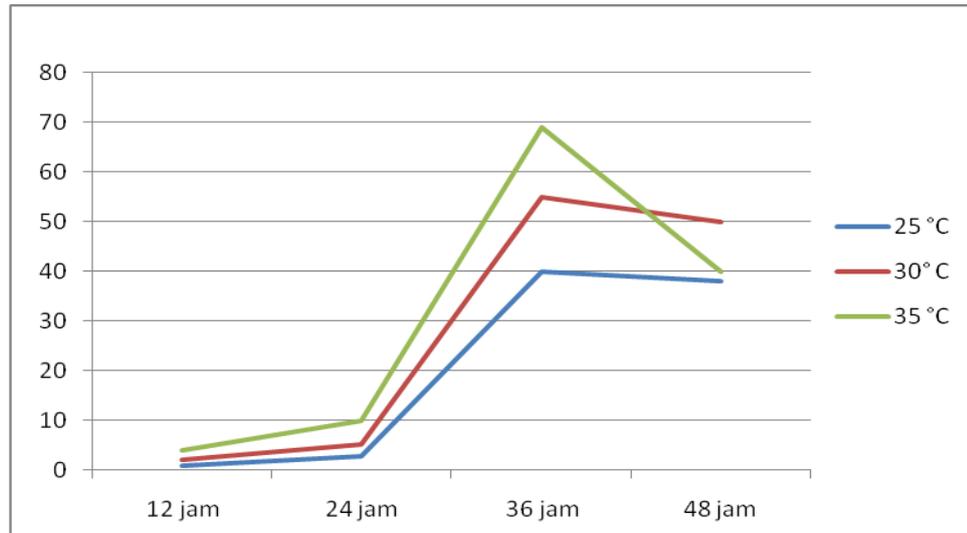


Gambar 1. Alur Pembuatan Tempe

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Jumlah Jamur *Rhizopus Oligosporus* selama Waktu Inkubasi

Suhu Ruang Inkubasi (°C)	Jumlah Pertumbuhan Jamur pada setiap jam			
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam
25	1 koloni	3 koloni	40 koloni	38 koloni
30	2 koloni	5 koloni	55 koloni	50 koloni
35	4 koloni	10 koloni	69 koloni	40 koloni



**Gambar 1. Grafik** Jumlah Jamur *Rhizopus Oligosporus* Vs Waktu Pertumbuhan Jamur *Rhizopus Oligosporus* pada Variasi Suhu Ruang Inkubasi

Berdasarkan tabel 1. dapat dilihat Pada suhu ruang inkubasi 25 °C bahwa pertumbuhan optimum jamur *Rhizopus Oligosporus* pada tempe kacang kedelai ditunjukkan pada waktu fermentasi 0 - 12 jam sebanyak 1 koloni . Sedangkan pada suhu ruang inkubasi 12 - 24 jam pertumbuhan optimum jamur *Rhizopus Oligosporus* 3 koloni , pada ruang inkubasi 24-36 jam pertumbuhan jamur *Rhizopus Oligosporus* meningkat menjadi 40 koloni sedangkan pada 36 - 48 jam pertumbuhan *Rhizopus Oligosporus* menurun menjadi 38 koloni. Pada suhu ruang inkubasi 30 °C bahwa pertumbuhan optimum jamur *Rhizopus Oligosporus* pada tempe kacang kedelai ditunjukkan pada waktu fermentasi 0 - 12 jam sebanyak 2 koloni . Sedangkan pada suhu ruang inkubasi 12 - 24 jam pertumbuhan optimum jamur *Rhizopus Oligosporus* 5 koloni , pada ruang inkubasi 24-36 jam pertumbuhan jamur *Rhizopus Oligosporus* meningkat menjadi 55 koloni sedangkan pada 36 - 48 jam pertumbuhan *Rhizopus Oligosporus* menurun menjadi 50 koloni.

Pada suhu ruang inkubasi 35 °C bahwa pertumbuhan optimum jamur *Rhizopus Oligosporus* pada tempe kacang kedelai ditunjukkan pada waktu fermentasi 0 - 12 jam sebanyak 4 koloni . Sedangkan pada suhu ruang inkubasi 12 - 24 jam pertumbuhan optimum jamur *Rhizopus Oligosporus* 10 koloni , pada ruang inkubasi 24-36 jam pertumbuhan jamur *Rhizopus Oligosporus* meningkat menjadi 69 koloni sedangkan pada 36 - 48 jam pertumbuhan *Rhizopus Oligosporus* menurun menjadi 40 koloni.

Berdasarkan grafik.1. Hubungan antara jumlah koloni jamur *Rhizopus Oligosporus* dengan waktu fermentasi (jam) pada pengenceran  $10^{-1}$  pada suhu ruang inkubasi 25 °C memperlihatkan beberapa fase, yaitu (1) fase lag dengan waktu fermentasi 0 (nol) sampai 12 jam belum ada pertumbuhan, (2) fase akselerasi dengan waktu fermentasi 12 sampai 24 jam terdapat 1 koloni sampai 3 koloni, (3) fase eksponensial dengan waktu fermentasi 24 sampai 36 jam diperoleh 3 koloni sampai 40 koloni, merupakan fase pertumbuhan optimum, (4) fase kematian dengan waktu fermentasi 36 sampai 48 jam pertumbuhan menurun sampai 38 koloni, sampai tidak ada pertumbuhan.

Hubungan antara jumlah koloni jamur *Rhizopus Oligosporus* dengan waktu fermentasi (jam) pada pengenceran  $10^{-1}$  pada suhu ruang inkubasi 30 °C memperlihatkan beberapa fase, yaitu (1) fase lag dengan waktu fermentasi 0 (nol) sampai 12 jam belum ada pertumbuhan, (2) fase akselerasi dengan

waktu fermentasi 12 sampai 24 jam terdapat 2 koloni sampai 5 koloni, (3) fase eksponensial dengan waktu fermentasi 24 sampai 36 jam diperoleh 5 koloni sampai 55 koloni, merupakan fase pertumbuhan optimum, (4) fase kematian dengan waktu fermentasi 36 sampai 48 jam pertumbuhan menurun sampai 50 koloni, sampai tidak ada pertumbuhan.

Hubungan antara jumlah koloni jamur *Rhizopus Oligosporus* dengan waktu fermentasi (jam) pada pengenceran  $10^{-1}$  pada suhu ruang inkubasi 35 °C memperlihatkan beberapa fase, yaitu (1) fase lag dengan waktu fermentasi 0 (no) sampai 12 jam belum ada pertumbuhan, (2) fase akselerasi dengan waktu fermentasi 12 sampai 24 jam terdapat 4 koloni sampai 10 koloni, (3) fase eksponensial dengan waktu fermentasi 24 sampai 36 jam diperoleh 10 koloni sampai 69 koloni, merupakan fase pertumbuhan optimum, (4) fase kematian dengan waktu fermentasi 36 sampai 48 jam pertumbuhan dari 69 koloni menurun sampai 40 koloni, sampai tidak ada pertumbuhan.

Sebagai produk pangan hasil fermentasi dari jamur *Rhizopus Oligosporus* memiliki keterbatasan yaitu umur simpan yang pendek. Hal ini disebabkan jamur akan terus melakukan metabolisme sehingga mengakibatkan perubahan tempe yang dihasilkan terkait dengan waktu fermentasi. Waktu fermentasi 12 sampai 24 jam merupakan fase akselerasi, fase mulainya sel-sel membelah dan fase lag menjadi fase aktif karena pada fase ini mikrobia sudah dapat menggunakan nutrisi dalam medium fermentasinya sehingga diperoleh pertumbuhan jamur. Waktu fermentasi 24 sampai 36 jam merupakan fase perbanyakan atau eksponensial dimana jumlah koloni meningkat dan merupakan fase pertumbuhan optimum jamur, karena jamur tempe setelah dipindahkan ke medium PDA selnya memperoleh kondisi ideal dalam pertumbuhannya. Pada fase ini sel melakukan konsumsi nutrisi dan proses fisiologis lainnya, serta produk senyawa yang diinginkan oleh manusia terbentuk (Purwoko, 2007). Waktu fermentasi 36 sampai 48 jam merupakan fase deselerasi yaitu waktu sel-sel mulai kurang aktif membelah sehingga dapat memanen biomassa sel atau senyawa yang tidak lagi diperlukan oleh selsel (Gandjar, I. 2006). Hal ini didukung oleh teori yang menyatakan bahwa fase kematian terjadi apabila nutrisi sudah tidak dapat lagi mencukupi kebutuhan mikroorganisme. Keadaan ini diperparah oleh akumulasi produk metabolit primer dan sekunder yang tidak dipanen sehingga terus menginhibisi pertumbuhan sel mikroorganisme. Selain itu umur mikroba sudah tua, sehingga pertahanan sel terhadap lingkungan yang berbeda dari kondisi biasanya juga berkurang (Alwi, 2009). Pada penelitian ini pertumbuhan jamur optimum pada waktu fermentasi 36 jam untuk pada suhu ruang inkubasi 35 °C. karena kapang dan khamir tergolong sebagai mikroorganisme yang bersifat mesofilik oleh karena itu dapat tumbuh pada suhu rata-rata 30°C. Kapang dan khamir biasanya dapat tumbuh baik pada suhu kamar, yaitu suhu 35 – 37°C, banyak yang tumbuh pada suhu rendah, dan beberapa di antaranya dapat tumbuh pada suhu pembekuan. Semakin lama waktu fermentasi yaitu mulai 0 (no) sampai 48 jam jumlah jamur menurun. Hal ini dapat diakibatkan oleh berbagai faktor seperti suhu ruang inkubasi, kadar air, dan kebutuhan nutrisi. Pada penelitian ini suhu ruang inkubasi jamur *Rhizopus Oligosporus* pada 35 °C dapat memperbanyak pertumbuhan jamur *Rhizopus Oligosporus* sehingga dapat mengoptimalkan waktu tumbuh jamur *Rhizopus Oligosporus* pada pembuatan tempe kedelai.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa dengan variasi suhu ruang inkubasi pada pembuatan tempe, maka waktu pertumbuhan jamur *Rhizopus Oligosporus* pada tempe kacang kedelai sangat baik pada ruang inkubasi 35°C dihasilkan waktu optimum 36 jam dengan jumlah pertumbuhan *Rhizopus Oligosporus* sebanyak 69 koloni.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alwi. 2009. Fermentasi. [Online], <http://www.ziddu.com>. Diakses 3 April 2017.
- Fardiaz, S. 1989. Analisis Mikrobiologi Pangan. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor
- Gandjar, I. dkk. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Purwoko, T. 2007. Fisiologi Mikroba. Jakarta: Bumi Aksara.

