



# **Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP)**

**TATI BARUS**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2008**

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP) adalah karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Jakarta, Juli 2008

Tati Barus  
NIM G361030111

### Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## ABSTRACT

TATI BARUS. Role of Bacterial Community in Tempe Bitter Taste Formation: Microbiological and Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) Analysis. Under direction of ANTONIUS SUWANTO, ARIS TRI WAHYUDI, and C. HANNY WIJAYA.

Soybean tempe, referred to as tempe, is an indigenous fermented food of Indonesia. It has a variety of tastes, sometimes with a hint of bitterness, which may differ in intensity. The cause of bitterness in tempe has never been reported previously. Thus, the aim of this study is to investigate the role of bacteria community in the formation of bitter taste in tempe. Sensory test was carried out in order to determine the scores of bitterness intensity in tempe. Sensory test on EMP, WJB, CLR, DRG, and MLB tempe showed that EMP tempe had the highest score of bitterness (2.3) and WJB had the lowest (1.3). The intensity of bitterness in EMP and WJB was significantly different, which was not directly caused by the processing method. It was also revealed that the mould had no impact on the difference of bitterness intensity in EMP and WJB. *Rhizopus oligosporus* and *Mucor* sp. were isolated from both EMP and WJB tempe with abundance, i.e  $3.4 \times 10^5$  and  $3.5 \times 10^3$  CFU  $g^{-1}$  in EMP; and  $3.8 \times 10^5$  and  $4.8 \times 10^3$  CFU  $g^{-1}$  in WJB. The difference in the abundance and the types of bacteria found in EMP and WJB tempe may result in the difference of bitterness intensity. Plating analysis showed that soaking water and fresh tempe of EMP contained a higher number of bacteria than WJB. Soaking water of EMP tempe contained a higher number of *Enterobacteria*, approximately  $5 \times 10^3$  fold, and spore-forming bacteria groups  $3 \times 10^2$  fold compared to WJB. Similarly, the number of total mesophilic bacteria, *Enterobacteria*, and spore-forming bacteria in fresh EMP tempe are  $5 \times 10^2$ ,  $2 \times 10^2$  and  $2 \times 10^1$  fold, respectively, higher than those in fresh WJB tempe. Based on the sequencing of 16S rRNA gene, the dominant mesophilic bacteria grown on PCA media in EMP tempe were *Acetobacter indonesiensis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella* sp., and *Flavobacterium* sp. while those in WJB tempe were *Klebsiella* sp., *Bacillus pumilus*, *Brevundimonas* sp., *Acinetobacter* sp. and *Pseudomonas putida*. *Bacillus*, a group of proteolytic bacteria, was found at  $9 \times 10^4$  fold higher in the soaking water of EMP compared to the one of WJB. Based on bacterial community analysis using T-RFLP, it was also shown that bacterial abundance in soaking water of EMP tempe is 40%-119% higher. The major difference (119%) was found after 7 hours soaking. Similarly, bacterial abundance in fresh EMP tempe was 62% higher than the one in fresh WJB tempe. Bacterial communities in EMP and WJB tempe were also dominated by different types of bacteria. T-RFLP results also demonstrated that the types of bacteria involved during tempe processing consisted of both culturable and unculturable bacteria. The latter group was more dominant compared to the former.

Keywords: tempe, bitter taste, bacteria community analysis, T-RFLP

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang meminumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## RINGKASAN

TATI BARUS. Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism*(T-RFLP). Dibimbing oleh ANTONIUS SUWANTO, ARIS TRI WAHYUDI, dan C. HANNY WIJAYA.

Tempe kedelai atau lebih dikenal dengan sebutan tempe merupakan produk pangan fermentasi tradisional masyarakat Indonesia. Cita rasa tempe sangat beragam, bahkan pada tempe tertentu ditemukan cita rasa yang tidak disenangi oleh konsumen seperti rasa pahit. Intensitas rasa pahit pada tempe dapat berbeda antar jenis tempe yang diproduksi pengrajin dan belum pernah dilaporkan faktor penyebabnya.

Pada proses pembuatan tempe, mikroorganisme utama yang berperan adalah *Rhizopus oligosporus*, namun bakteri ditemukan juga dalam jumlah dan keragaman yang tinggi. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji apakah komunitas bakteri berperan dalam pembentukan rasa pahit pada tempe. Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk meningkatkan cita rasa tempe.

Serangkaian eksperimen dilakukan, yaitu untuk: mendapatkan contoh tempe "pahit" dan "tidak pahit" melalui uji sensori terhadap beberapa jenis tempe, menguji pengaruh perbedaan cara pengolahan terhadap rasa pahit pada tempe, menganalisis pengaruh jenis kapang terhadap terbentuknya rasa pahit pada tempe, dan menganalisis pengaruh komunitas bakteri terhadap rasa pahit pada tempe. Metode analisis komunitas bakteri dilakukan dengan teknik pengkulturan (konvensional) dan teknik molekular, yaitu dengan teknik T-RFLP. Teknik T-RFLP ini digunakan untuk menganalisis komunitas bakteri melalui analisis gen 16S rRNA.

Hasil uji sensori rasa pahit lima jenis tempe dengan kode EMP, WJB, CLR, DRG, dan MLB menunjukkan bahwa tempe EMP memiliki skor intensitas rasa pahit tertinggi (2.3) dan signifikan berbeda dibandingkan dengan skor intensitas rasa pahit tempe WJB yang memiliki skor terendah (1.3).

Perbedaan intensitas rasa pahit antara tempe EMP dan WJB bukan disebabkan secara langsung oleh perbedaan cara pengolahan. Selain itu, perbedaan tersebut bukan disebabkan juga oleh kapang. Pada tempe EMP



ditemukan *R. oligosporus* ( $3.4 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$ ) dan *Mucor* sp. ( $3.5 \times 10^3$  CFU  $g^{-1}$ ), dan pada WJB ditemukan *R. oligosporus* ( $3.8 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$ ) dan *Mucor* sp. ( $4.8 \times 10^3$  CFU  $g^{-1}$ ).

Kelimpahan sel bakteri selama proses pengolahan tempe EMP lebih banyak dibandingkan dengan tempe WJB. Berdasarkan analisis komunitas bakteri secara konvensional pada air rendaman ditemukan kelimpahan *Enterobacteria* sekitar  $5 \times 10^3$  kali lebih banyak pada tempe EMP dibandingkan WJB. Demikian juga bakteri berspora, sekitar  $3 \times 10^2$  kali lebih banyak pada tempe EMP dibandingkan WJB. Pada tempe segar, total bakteri mesofil, *Enterobacteria*, dan bakteri berspora secara berturut-turut sekitar  $5 \times 10^2$ ,  $2 \times 10^2$ , dan  $2 \times 10^1$  kali lebih banyak pada tempe EMP dibandingkan WJB.

Jenis bakteri dominan yang berhasil dikultur selama proses pengolahan tempe EMP adalah *Acetobacter indonesiensis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*., dan *Flavobacterium* sp., dan selama proses pengolahan tempe WJB adalah *Klebsiella* sp., *Bacillus pumilus*, *Brevundimonas* sp., *Acinetobacter* sp., dan *Pseudomonas putida*. *Bacillus* pada kedua jenis tempe tersebut bersifat proteolitik, dan kelimpahannya sekitar  $9 \times 10^4$  kali lebih banyak pada air rendaman tempe EMP dibandingkan dengan WJB.

Kelimpahan sel bakteri selama proses pengolahan tempe EMP lebih banyak dibandingkan dengan tempe WJB ditemukan juga berdasarkan analisis komunitas bakteri dengan teknik T-RFLP. Kelimpahan sel bakteri air rendaman kedelai tempe EMP lebih banyak sekitar 40%-119%. Perbedaan terbesar (119%) ditemukan setelah tujuh jam perendaman kedelai. Demikian juga kelimpahan sel bakteri tempe segar EMP ditemukan lebih banyak sekitar 62% dibandingkan dengan tempe segar WJB. Analisis komunitas bakteri dengan teknik T-RFLP menunjukkan bahwa jenis bakteri yang terdapat selama proses pengolahan tempe EMP dan WJB pada umumnya berbeda. Perbedaan intensitas rasa pahit antara tempe EMP dan WJB kemungkinan besar disebabkan karena perbedaan kelimpahan dan perbedaan jenis bakteri yang terdapat selama proses pengolahan berlangsung.

Berdasarkan analisis komunitas bakteri dengan teknik T-RFLP ditemukan bahwa jenis bakteri yang terdapat selama proses pengolahan tempe EMP dan

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



tempe WJB terdiri atas jenis bakteri yang bersifat *culturable* dan *unculturable*, dan jenis bakteri yang bersifat *unculturable* lebih dominan dibandingkan dengan jenis bakteri yang bersifat *culturable*.

Kata kunci: tempe, rasa pahit, komunitas bakteri, T-RFLP

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## RINGKASAN (Sebelum perbaikan dari ibu Hanny W)

TATI BARUS. Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism*(T-RFLP). Dibimbing oleh ANTONIUS SUWANTO, ARIS TRI WAHYUDI, dan C. HANNY WIJAYA.

*Tempe merupakan makanan tradisional masyarakat Indonesia yang diolah melalui proses fermentasi. Berbagai-bagai bahan baku dapat diolah menjadi tempe, namun yang paling terkenal adalah kedelai. Tempe yang dimaksud pada tulisan ini adalah tempe kedelai yang selanjutnya disebut tempe.*

*Cita rasa tempe sangat beragam, namun pada jenis tempe tertentu dapat ditemukan cita rasa yang tidak disenangi oleh konsumen. Salah satu diantaranya ialah rasa pahit. Intensitas rasa pahit pada tempe dapat berbeda antar jenis tempe yang diproduksi pengrajin dan belum pernah dilaporkan faktor penyebabnya.*

Mikroorganisme utama yang berperan pada proses pembuatan tempe adalah *Rhizopus oligosporus*, namun bakteri juga sangat berperan. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji apakah bakteri berperan dalam pembentukan rasa pahit pada tempe. Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk meningkatkan cita rasa tempe.

Serangkaian eksperimen dilakukan, yaitu untuk: mendapatkan contoh tempe "pahit" dan "tidak pahit" melalui uji sensori terhadap beberapa jenis tempe, menguji pengaruh perbedaan cara pengolahan terhadap rasa pahit pada tempe, menganalisis pengaruh jenis kapang terhadap terbentuknya rasa pahit pada tempe, dan menganalisis pengaruh komunitas bakteri terhadap rasa pahit pada tempe. Metode analisis komunitas bakteri dilakukan dengan teknik pengkulturan (konvensional) dan teknik molekular, yaitu dengan teknik T-RFLP. Teknik T-RFLP ini digunakan untuk menganalisis komunitas bakteri melalui analisis gen 16S rRNA.

Hasil uji sensori rasa pahit lima jenis tempe (EMP, WJB, CLR, DRG, dan MLB) menunjukkan bahwa tempe EMP memiliki skor intensitas rasa pahit

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



tertinggi (2.3) dan signifikan berbeda dibandingkan dengan skor intensitas rasa pahit tempe WJB yang memiliki skor terendah (1.3).

***Perbedaan intensitas rasa pahit antara tempe EMP dan WJB tidak disebabkan oleh jenis kedelai sebab kedua jenis tempe diproduksi oleh pengrajin dari jenis kedelai yang sama.*** Perbedaan intensitas rasa pahit antara kedua jenis tempe tersebut bukan ***juga*** disebabkan oleh perbedaan cara pengolahan. ***Hal ini karena hasil uji sensori dua jenis tempe yang diproduksi pada skala laboratorium dengan cara pengolahan tempe EMP dan WJB menunjukkan skor intensitas rasa pahit yang tidak signifikan berbeda, yaitu masing-masing dengan skor 1.1 dan 1.2.***

Perbedaan skor intensitas rasa pahit antara tempe EMP dan WJB bukan disebabkan oleh kapang, sebab jenis kapang pada tempe EMP dan WJB sama. Pada tempe EMP ditemukan *R. oligosporus* ( $3.4 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$ ) dan *Mucor* sp. ( $3.5 \times 10^3$  CFU  $g^{-1}$ ), dan pada WJB ditemukan *R. oligosporus* ( $3.8 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$ ) dan *Mucor* sp. ( $4.8 \times 10^3$  CFU  $g^{-1}$ ). ***Hasil uji sensori tempe yang diproduksi menggunakan inokulum dari pengrajin tempe EMP dan WJB menunjukkan skor intensitas rasa pahit yang tidak signifikan berbeda, yaitu masing-masing dengan skor 1.1 dan 1.2.***

Kelimpahan sel bakteri selama proses pengolahan tempe EMP lebih banyak dibandingkan dengan tempe WJB. Berdasarkan analisis komunitas bakteri secara konvensional pada air rendaman ditemukan kelimpahan *Enterobacteria* sekitar  $5 \times 10^3$  kali lebih banyak pada EMP dibandingkan WJB. Demikian juga bakteri berspora, sekitar  $3 \times 10^2$  kali lebih banyak pada EMP dibandingkan WJB. Pada tempe segar, total bakteri mesofil, *Enterobacteria*, dan bakteri berspora secara berturut-turut sekitar  $5 \times 10^2$ ,  $2 \times 10^2$ , dan  $2 \times 10^1$  kali lebih banyak pada tempe EMP dibandingkan tempe WJB.

Jenis bakteri dominan yang berhasil dikultur selama proses pengolahan tempe EMP adalah *Acetobacter indonesiensis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*., dan *Flavobacterium* sp., dan selama proses pengolahan tempe WJB adalah *Klebsiella* sp., *Bacillus pumilus*, *Brevundimonas* sp., *Acinetobacter* sp., dan *Pseudomonas putida*. *Bacillus* pada kedua jenis tempe tersebut bersifat

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.





proteolitik, dan kelimpahannya sekitar  $9 \times 10^4$  kali lebih banyak pada air rendaman tempe EMP dibandingkan dengan WJB.

Kelimpahan sel bakteri selama proses pengolahan tempe EMP lebih tinggi dibandingkan dengan tempe WJB ditemukan juga berdasarkan analisis komunitas bakteri dengan teknik T-RFLP. Kelimpahan sel bakteri air rendaman kedelai tempe EMP lebih tinggi sekitar 40%-119%. Perbedaan terbesar (119%) ditemukan setelah tujuh jam perendaman kedelai. Demikian juga kelimpahan sel bakteri tempe segar EMP ditemukan lebih tinggi sekitar 62% dibandingkan dengan tempe segar WJB. Analisis komunitas bakteri dengan teknik T-RFLP menunjukkan bahwa jenis bakteri yang terdapat selama proses pengolahan tempe EMP dan tempe WJB pada umumnya berbeda. Perbedaan intensitas rasa pahit antara tempe EMP dan tempe WJB disebabkan karena perbedaan kelimpahan dan jenis bakteri yang terdapat selama proses pengolahan berlangsung.

Berdasarkan analisis komunitas bakteri dengan teknik T-RFLP ditemukan bahwa jenis bakteri yang terdapat selama proses pengolahan tempe EMP dan tempe WJB terdiri atas jenis bakteri yang bersifat *culturable* dan *unculturable*, dan jenis bakteri yang bersifat *unculturable* lebih dominan dibandingkan dengan jenis bakteri yang bersifat *culturable*.

Kata kunci: tempe, rasa pahit, komunitas bakteri, T-RFLP

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



©Hak Cipta milik IPB, tahun 2008  
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh Karya tulis dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



# **Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP)**

**TATI BARUS**

Disertasi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Doktor pada  
Program Studi Biologi

**SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2008**

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Penguji pada Ujian Tertutup : Dr. Anja Meryandini, MS.

Penguji pada Ujian Terbuka : Prof. Dr. Indrawati Gandjar  
Dr. Ir. Gayuh Rahayu



Judul Penelitian : Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP)  
Nama : Tati Barus  
NIM : G361030111

Disetujui  
Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Antonius Suwanto, M.Sc  
Ketua

Dr. Aris Tri Wahyudi, MSi  
Anggota

Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, M.Sc  
Anggota

Mengetahui

Ketua Program Studi Biologi

Dekan Sekolah Pascasarjana

Dr. Ir. Dedy Duryadi S., DEA

Prof. Dr.Ir. Khairil Anwar Notodiputro, M.S

Tanggal Ujian: 14 Juli 2008

Tanggal Lulus: 14 Juli 2008



## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala karuniaNya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Penelitian ini dilaksanakan sejak Oktober 2005 sampai dengan Desember 2007 dengan judul Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP).

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Antonius Suwanto, MSc., Dr. Aris Tri Wahyudi, MSi., dan Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, MSc. selaku pembimbing yang telah banyak memberikan masukan yang sangat berharga selama penelitian berlangsung hingga penulisan disertasi ini. Selain itu, kepada Prof. Dr. Ir. Antonius Suwanto, MSc. penulis mengucapkan terima kasih atas segala bantuan dana, bahan, dan alat yang digunakan untuk penelitian ini. Selanjutnya, penulis mengucapkan terima kasih juga kepada: Dr. Ir. Suharyadi, MS dan semua pimpinan Universitas Mercu Buana yang telah berkenan memberikan bantuan dana penelitian, Dr. Any Fitriani, MSi atas kerjasamanya yang baik selama bekerja di laboratorium *Research Center for Microbial Diversity* (RCMD), dan Bapak Husen sebagai laboran di RCMD. Ungkapan terima kasih yang tulus dan setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada suamiku tercinta Drs. Kuasa Sembiring, MM., anaku: Dian, Atan dan Amelia, kedua orang tuaku tercinta dan saudara-saudaraku khususnya kakak Rasmi Barus (alm), serta semua keluarga atas segala dorongan semangat, pengertian, dan doanya. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Jakarta, Juli 2008

Tati Barus



## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Lubuk Pakam pada tanggal 5 Nopember 1964 dari pasangan Ngulih Barus dan Rohani br. Tarigan. Pendidikan sarjana ditempuh di Program Studi Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, lulus pada tahun 1989. Pada tahun 1997, penulis diterima di Program Studi Agronomi dan Hortikultura pada Sekolah Pascasarjana IPB dan menamatkannya pada tahun 2000. Kesempatan untuk melanjutkan ke program doktor pada Program Studi Biologi, Subprogram Studi Mikrobiologi pada perguruan tinggi yang sama diperoleh pada tahun 2003. Beasiswa pendidikan pascasarjana diperoleh dari Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia dan Universitas Mercu Buana.

Penulis bekerja sebagai dosen tetap di Fakultas Pertanian Universitas Mercu Buana di Jakarta sejak tahun 1990 sampai Oktober 2007. Sejak Nopember 2007 penulis bekerja sebagai dosen tetap di Fakultas Teknobiologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya di Jakarta.

Selama mengikuti program S3, penulis menjadi anggota Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Karya ilmiah berjudul *Role of bacteria in tempeh bitter taste formation: microbiological and molecular biological analyses based on 16S rRNA gene* akan diterbitkan pada jurnal *Microbiology Indonesia* Volume 2, No. 1, 2008. Karya ilmiah tersebut merupakan bagian dari disertasi S3 penulis.



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
PENDAHULUAN.....	1
Latar Belakang.....	1
Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	3
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
Keunggulan Tempe Sebagai Bahan Makanan.....	5
Proses Pembuatan Tempe.....	6
Mikroorganisme pada Tempe.....	8
Peran Bakteri dalam Cita Rasa Bahan Pangan Fermentasi.....	9
Analisis Komunitas Bakteri dengan <i>Terminal Restriction     Fragment Length Polymorphisms</i> .....	12
BAHAN DAN METODE.....	16
Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
Bahan dan Alat.....	16
Metodologi.....	17
Pengadaan Sampel Tempe.....	18
Uji Sensori Rasa Pahit Tempe.....	18
Pengolahan Tempe .....	20
Analisis Kapang.....	20
Analisis Bakteri Secara Konvensional.....	20
Identifikasi Bakteri yang dapat Dikulturkan Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA.....	21
Isolasi DNA Genom Langsung dari Sampel.....	22
Amplifikasi Gen 16S rRNA.....	22
Pemotongan Amplikon dengan Enzim Restriksi.....	23
Analisis T-RFLP.....	23
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
Uji Sensori Rasa Pahit Tempe.....	25
Pengaruh Perbedaan Proses Pembuatan terhadap Rasa Pahit Tempe .....	26
Kondisi Umum Proses Pembuatan Tempe EMP dan Tempe WJB.....	28
Jumlah dan Jenis Kapang.....	31
Analisis Komunitas Bakteri Secara Konvensional.....	34
Analisis Komunitas Bakteri dengan Teknik T-RFLP.....	38
KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
Kesimpulan.....	59
Saran.....	60





DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN.....	67

**Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
1. Keadaan umum proses pengolahan tempe EMP dan tempe WJB.....	29
2. Kelimpahan beberapa jenis bakteri yang terdapat pada air rendaman dan tempe segar EMP dan WJB.....	35
3. Dua jenis bakteri yang dominan dari EMP dan WJB yang tumbuh pada media PCA.....	37
4. Jenis TRF (bp) gen 16S rRNA komunitas bakteri dari air rendaman dan tempe segar EMP dan WJB yang dipotong dengan enzim restriksi <i>Bst</i> UI.....	47
5. Jenis TRF yang sama yang ditemukan pada tempe EMP dan tempe WJB .....	48
6. Persentase ketinggian kelimpahan bakteri tempe EMP dibandingkan tempe WJB. ....	50
7. Kemungkinan jenis bakteri yang dominan pada tempe EMP berdasarkan analisis T-RFLP menggunakan enzim <i>Bst</i> UI.....	54
8. Kemungkinan jenis bakteri yang dominan pada tempe WJB berdasarkan analisis T-RFLP menggunakan enzim <i>Bst</i> UI.....	55
9. Persentase kelimpahan dua jenis bakteri tempe EMP hasil pengkulturan pada media PCA yang terdapat pada kemungkinan jenis bakteri hasil pencocokan TRF dengan <i>database</i> .....	57
10. Persentase kelimpahan dua jenis bakteri tempe WJB hasil pengkulturan pada media PCA yang terdapat pada kemungkinan jenis bakteri hasil pencocokan TRF dengan <i>database</i> .....	57

### Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
1. Bagan alir teknologi pembuatan tempe (Hermana & Karmini 1996)...	7
2. Ilustrasi prinsip kerja analisis komunitas mikroorganismen menggunakan analisis <i>Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism</i> ( <a href="http://www.bibliographics.com/LAB/T-RFLP.htm">http://www.bibliographics.com/LAB/T-RFLP.htm</a> )...	14
3. Tahapan kerja penelitian.....	17
4. Skor intensitas rasa pahit beberapa jenis tempe.....	25
5. Skema pembuatan tempe yang dilakukan oleh pengrajin tempe EMP, DRG, MLB, CLR (A) dan WJB (B).....	27
6. pH air rendaman kedelai tempe EMP dan tempe WJB selama 14 jam proses perendaman.....	30
7. Penampilan kedelai tempe EMP yang telah direndam (A), kedelai tempe WJB yang telah direndam (B), tempe segar EMP (C), dan tempe segar WJB (D).....	31
8. Elektroforesis gel agarose (0.8%) DNA gen penyandi 16S rRNA komunitas bakteri dari tempe EMP dan WJB.....	39
9. Contoh hasil analisis komunitas bakteri dengan T-RFLP. Sumbu x adalah ukuran TRF (bp) dan sumbu y adalah intensitas pendaran TRF (unit fluoresens).....	41
10. Profil TRF gen 16S rRNA bakteri AE1 (1 jam perendaman kedelai tempe EMP) dan AW1 (1 jam perendaman kedelai tempe WJB) yang dipotong dengan enzim restriksi <i>Bst</i> UI. Sumbu x adalah ukuran TRF (bp) dan sumbu y adalah intensitas pendaran TRF (unit fluoresens).....	43
11. Profil TRF gen 16S rRNA bakteri AE2 (7 jam perendaman kedelai tempe EMP) dan AW2 (7 jam perendaman kedelai tempe WJB) yang dipotong dengan enzim restriksi <i>Bst</i> UI. Sumbu x adalah ukuran TRF (bp) dan sumbu y adalah intensitas pendaran TRF (unit fluoresens).....	44
12. Profil TRF gen 16S rRNA bakteri AE3 (14 jam perendaman kedelai tempe EMP) dan AW3 (14 jam perendaman kedelai tempe WJB) yang dipotong dengan enzim restriksi <i>Bst</i> UI. Sumbu x adalah ukuran TRF (bp) dan sumbu y adalah intensitas	

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



pendaran TRF (unit fluoresens).....	45
13. Profil TRF gen 16S rRNA bakteri Tempe segar EMP dan tempe segar WJB yang dipotong dengan enzim restriksi <i>Bst</i> UI. Sumbu x adalah ukuran TRF (bp) dan sumbu y adalah intensitas pendaran TRF (unit fluoresens). .....	46
14. Persentase kelimpahan jenis bakteri tempe EMP dan tempe WJB.....	48
15. Total intensitas TRF pada air rendaman kedelai dan tempe segar EMP dan WJB yang dipotong dengan <i>Bst</i> UI.....	49

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Hasil analisis T-RFLP air rendaman pertama (AE1) tempe EMP yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	68
2. Hasil analisis T-RFLP air rendaman kedua (AE2) tempe EMP yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	69
3. Hasil analisis T-RFLP air rendaman ketiga (AE3) tempe EMP yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	70
4. Hasil analisis T-RFLP tempe segar EMP (TE) yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	71
5. Hasil analisis T-RFLP air rendaman pertama (AW1) tempe WJB yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	72
6. Hasil analisis T-RFLP air rendaman kedua (AW2) tempe WJB yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	73
7. Hasil analisis T-RFLP air rendaman ketiga (AW3) tempe WJB yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	74
8. Hasil analisis T-RFLP tempe segar WJB (TW) yang dipotong dengan enzim <i>Bst</i> UI.....	75
9. Contoh formulir pengujian intensitas rasa pahit tempe.....	76
10. Contoh formulir uji penentuan rasa dasar.....	77
11. Contoh formulir uji segitiga rasa.....	78
12. Contoh formulir uji ranking rasa pahit.....	79