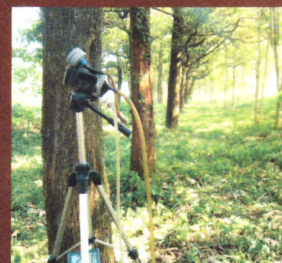
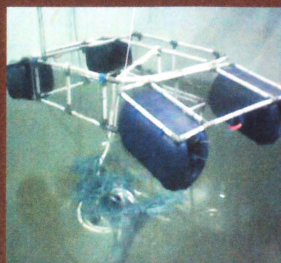




ISBN 978-602-8853-19-4
978-602-8853-20-0

PROSIDING SEMINAR HASIL-HASIL PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT INSTITUT PERTANIAN BOGOR 2013

Volume I
Bidang Pangan
Bidang Energi
Bidang Teknologi dan Rekayasa



PENGARUH JENIS INOKULUM *RHIZOPUS OLIGOSPORUS* DAN *RHIZOPUS ORYZAE* TERHADAP SIFAT FISIKO-KIMIA TEMPE KACANG MERAH

(Physicochemical Properties of Red Bean Tempeh Resulted from combined-culture Fermentation of *Rhizopus oligosporus* and *Rhizopus oryzae*)

**Antung Sima Firlienyanti^{1,2)}, Eko Hari Purnomo^{1,2)}, Feri Kusnandar^{1,2)},
Lulu Maknun¹⁾**

¹⁾Dep. Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB

²⁾Pusat Pengembangan ILTEK Pertanian dan Pangan Asia Tenggara (SEAFAST),
LPPM IPB

ABSTRAK

Tempe kacang merah diketahui memiliki kadar protein yang lebih rendah dibandingkan tempe kedelai. Upaya meningkatkan kadar protein dapat dilakukan melalui pendekatan optimasi kondisi fermentasi, antara lain jenis kapang dan waktu fermentasi. Tempe umumnya diproduksi dengan menggunakan kapang *R. oligosporus* sebagai kultur utama. Aplikasi *R. oligosporus* dan *R. oryzae* secara tunggal atau kombinasi diduga dapat menghasilkan tempe dengan karakteristik yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh komposisi inokulum (laru *R. oligosporus*, laru *R. oryzae*, laru *R. oligosporus*+*R. oryzae*, dan laru *R. oligosporus* + laru *R. oryzae*) dan waktu inkubasi (24, 36, dan 48 jam) terhadap sifat fisik dan kimia tempe kacang merah, terutama pengaruhnya terhadap peningkatan kadar protein tempe kacang merah. Kombinasi kapang *R. oligosporus* + *R. oryzae* (laru K1+K2) mampu menghasilkan tempe kacang merah dengan karakteristik yang lebih baik dibandingkan aplikasi kapang secara tunggal. Aplikasi laru K1+K2 menghasilkan tempe dengan miselium yang kompak dengan waktu fermentasi yang lebih cepat (24–36 jam) dibandingkan laru K2. Tempe laru K1+K2 juga memiliki kadar protein terlarut unggul dalam parameter kadar protein terlarut dibandingkan tempe laru K1.

Kata kunci: Kacang merah, tempe, kadar protein, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*.

ABSTRACT

Red kidney bean tempeh has been reported to contain less protein content as compared to soy bean tempeh. It is believed that protein content of tempeh depends not only on the protein content of the raw material but also processing parameters i.e. inoculum and fermentation time. Therefore, the objective of this research was to study the effect of different inoculum and fermentation time on the physicochemical properties of red kidney bean tempeh. Single and combined application of two types of mold normally used for tempeh fermentation (*R. oligosporus* and *R. oryzae*) and three different fermentation times (24, 36, and 48 hours) were studied. Mixed-culture inoculum of *R. oligosporus* and *R. oryzae* produces tempeh with improved physicochemical properties compared to their single application. Tempeh with mixed-culture inoculum shows good growth of mycelium and requires shorter fermentation time (24–36 hours), as compared to tempeh with *R. oryzae* inoculum. The tempeh also has higher soluble protein content (21,01%) than tempeh made by inoculum of *R. oligosporus*.

Keywords: Red bean, tempeh, protein content, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*.

PENDAHULUAN

Tempe merupakan produk pangan asli Indonesia yang sangat potensial sebagai sumber protein nabati. Tempe pada umumnya dibuat dari kedelai. Akan tetapi produksi kedelai nasional relatif stagnan dan impor kedelai semakin meningkat. Ketidakseimbangan ini mendorong pencarian sumber alternatif bahan baku tempe lain, di antaranya adalah kacang merah. Kacang merah dilaporkan memiliki nilai gizi yang setara dengan kedelai, walaupun Kereena dan Vishnuvardhan (2012) melaporkan bahwa kadar protein dan lemak kacang merah sedikit lebih rendah dari kedelai. Kacang merah juga dilaporkan memiliki kandungan natrium, kolesterol, dan asam lemak jenuh yang rendah akan tetapi kaya akan vitamin B kompleks, mineral, dan asam lemak tak jenuh (Barampama & Simard 1994; Guzman & Paredes-Lopez 1998).

Kacang merah sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku pembuatan tempe. Akan tetapi, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan protein kacang merah (16,36%–17,21% bk) lebih rendah dari tempe kedelai (21,28% bk) (Jaisan *et al.* 2012). Hal ini bisa menjadi kelemahan tempe kacang merah apabila tidak ditangani dengan baik. Rendahnya kadar protein tempe kacang merah diduga terkait dua faktor yaitu kadar protein kacang merah itu sendiri dan jumlah kapang yang tumbuh pada tempe kacang merah.

Fermentasi tempe umumnya menggunakan kapang *Rhizopus oligosporus* sebagai kultur utama dalam proses fermentasinya. Beberapa spesies kapang lain yang dapat digunakan dalam produksi tempe antara lain *R. oryzae*, *R. stolonifer*, *R. arrhizus*, *Aspergillus oryzae*, dan *Mucor javanicus* (Shurtleff & Akiko 1979). Aplikasi kapang secara kombinasi diduga dapat menghasilkan tempe dengan karakteristik yang berbeda. Penelitian ini bertujuan 1) mempelajari pengaruh komposisi inokulum *R. oligosporus* dan laru *R. oryzae*, dan 2) mempelajari pengaruh waktu fermentasi terhadap sifat fisik dan kimia tempe kacang merah, terutama pengaruhnya terhadap peningkatan kadar protein tempe kacang merah.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Laru

Laru dibuat dari nasi pera yang telah disterilkan. Nasi tersebut diinokulasi dengan suspensi kapang *Rhizopus oligosporus* atau *Rhizopus oryzae*, diinkubasi selama 3–4 hari, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama 2–3 hari dan kemudian dihaluskan.

Optimasi Jenis Kapang dan Waktu Fermentasi Tempe

Bahan baku yang digunakan adalah kacang merah kering. Proses pembuatan tempe meliputi tahap perebusan selama 10 menit, perendaman dalam larutan asam asetat pH 4.5 selama 7 jam, pengupasan kulit, pengukusan selama 10 menit, pengemasan dengan plastik yang diberi lubang berjarak 2 cm, penambahan laru (5 g/kg kacang merah), dan inkubasi pada suhu 30 °C. Jenis laru yang digunakan untuk pembuatan tempe terdiri atas laru kapang *R. oligosporus* (laru K1), laru kapang *R. oryzae* (laru K2), laru kapang *R. oligosporus*+*R. oryzae* (laru K1+K2), dan campuran laru kapang *R. oligosporus* + laru kapang *R. oryzae* (laru K1+laru K2). Waktu fermentasi yang digunakan bervariasi, yaitu 24, 36, 48 jam. Setelah waktu fermentasi yang telah ditentukan, kekompakan miselium pada tempe diamati secara visual. Selain itu juga dilakukan analisis untuk parameter kadar protein terlarut, tekstur/daya iris, warna, dan rendemen.

Metode Analisis

- **Kadar protein terlarut**

Kadar protein terlarut diukur menggunakan metode Bradford dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 520 nm.

- **Rendemen**

Rendemen dihitung sebagai perbandingan bobot tempe dengan bobot kacang merah setelah tahap perebusan, perendaman asam, dan pengukusan.

- **Tekstur/Daya Iris**

Tekstur dianalisis menggunakan TA-XT2i texture analyzer. *Probe* yang digunakan adalah tipe Knife blade HDP/BS. TAXT-2i diset dengan *pre test speed*

1.5 mm/s, *test speed* 1.5 mm/s, *post test speed* 10.0 mm/s, *distance* 10 mm, dan *force* 40 gram.

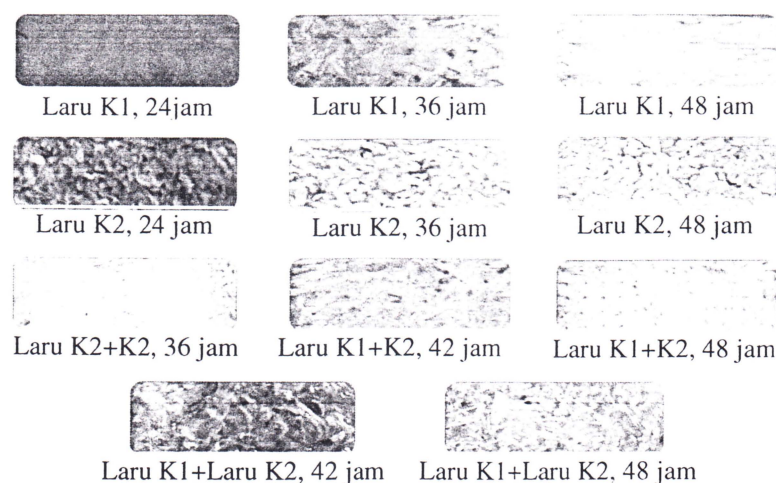
- **Warna**

Pengamatan warna tempe dilakukan dengan menggunakan alat Minolta Chromameter CR 200. Hasil pengukuran chromameter akan dikonversikan ke dalam sistem Hunter dengan lambang L (tingkat kecerahan), a (merah-hijau), dan b (biru-kuning).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Miselium Tempe Kacang Merah

Salah satu parameter mutu tempe adalah pertumbuhan miselium kapang pada substrat kacang. Pertumbuhan miselium yang baik akan menghasilkan tempe dengan tekstur yang kompak. Perbedaan jenis kapang yang digunakan sebagai starter dan waktu fermentasi pada produksi tempe kacang merah menghasilkan tempe dengan kekompakan yang bervariasi (Gambar 1). Pertumbuhan miselium terbaik ditunjukkan oleh tempe dengan laru K1+K2 sehingga diperoleh tempe dengan struktur yang kompak dan tekstur yang padat. Sedangkan pada tempe laru K2 tidak terlihat pertumbuhan kapang hingga waktu fermentasi 48 jam. Hal ini menunjukkan tempe dengan laru K1+K2 membutuhkan waktu fermentasi yang lebih singkat (24-36 jam) dibandingkan tempe dengan perlakuan lainnya.



Gambar 1 Penampakan tempe kacang merah dengan jenis laru dan waktu fermentasi yang berbeda.

Laru K1 menggunakan kapang *Rhizopus oligosporus* yang merupakan spesies kapang utama dalam pembuatan tempe. Penelitian Srapinkornburee *et al.* (2009) juga menyebutkan *R. oligosporus* digunakan dalam pengembangan tempe kacang merah secara komersial. *R. oligosporus* memiliki aktivitas protease dan lipase tertinggi dibandingkan kapang tempe lainnya sehingga ideal untuk memecah protein dan lemak yang terkandung pada kacang merah maupun bahan lain yang digunakan sebagai bahan baku tempe. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan tempe dengan laru K1 dan laru K1+K2 yang mengandung *R. oligosporus* menunjukkan pertumbuhan miselium kapang yang lebih cepat dan lebih baik dibandingkan tempe yang hanya menggunakan kapang *R. oryzae* (laru K2).

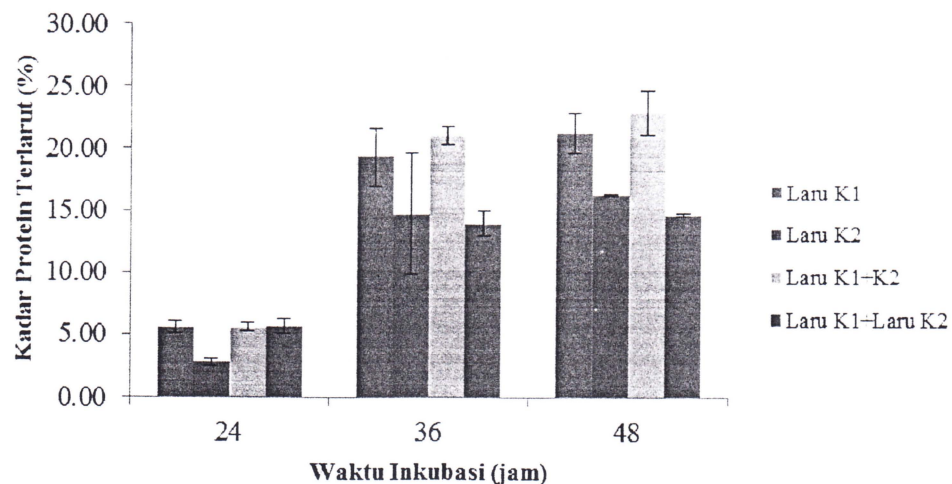
Pertumbuhan kapang pada suatu media dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain komposisi komponen nutrisi pada media dan aktivitas kapang pada laru. Setelah penyimpanan, kapang pada laru umumnya berada pada kondisi dorman dan memerlukan tahap aktivasi sebelum dapat bergerminasi dan tumbuh pada media baru. Proses aktivasi dapat didukung oleh kondisi lingkungan seperti adanya cahaya dan peningkatan suhu. Peningkatan aktivitas kapang juga dipengaruhi oleh keberadaan sumber C dan N pada media. Penelitian Thanh (2004) menunjukkan asam amino L-alanine dapat mempercepat aktivasi kapang *R. oligosporus* dengan berperan sebagai sumber N sekaligus sumber C. Kombinasi asam amino alanin-leusin-isoleusin juga menghasilkan pertumbuhan kapang dari kondisi dorman. Kacang merah sebagai media pertumbuhan kapang yang digunakan pada penelitian ini mengandung asam amino yang cukup lengkap, termasuk Alanin (0,78%); leusin (1,50%); dan isoleusin (0,95%) (Purnomo *et al.* belum dipublikasikan). Kacang merah juga tidak mengandung L-proline yang diketahui dapat mengganggu intake Alanin oleh *R. oligosporus* sehingga dapat menghambat sporulasi dan pertumbuhan kapang *R. oligosporus* (Thanh 2004). Keberadaan gula sebagai sumber C juga berpengaruh terhadap germinasi spora dan pertumbuhan kapang. Glukosa merupakan sumber C yang sederhana dan sangat penting dalam proses aktivasi kapang pada laru (Thanh 2004). Kombinasi kapang *R. oligosporus* dan *R. oryzae* pada laru K1+K2 menunjukkan pertumbuhan kapang terbaik. *R. oryzae* yang bersifat amilolitik dapat memecah

karbohidrat kompleks yang banyak terkandung pada kacang merah sehingga menyediakan glukosa yang mendukung pertumbuhan kapang *R. oligosporus*.

Pertumbuhan miselium kapang pada tempe laru K1+K2 juga lebih baik dibandingkan dengan tempe laru K1+laru K2 meskipun keduanya sama-sama menggunakan laru campuran. Hal ini diduga disebabkan oleh proses kompetisi antara *R. oligosporus* dan *R. oryzae* pada tempe laru K1+laru K2 sehingga pertumbuhan kedua kapang tersebut terhambat. Pada laru K1+K2, kompetisi berlangsung lebih awal pada tahap pembuatan laru sehingga memungkinkan terjadinya proses adaptasi oleh kedua kapang tersebut.

Kadar Protein Terlarut Tempe Kacang Merah

Pada penelitian-penelitian sebelumnya, kadar protein tempe kacang merah berkisar antara 16–17% (Jaisan *et al.* 2012; Srapinkornburee 2009), lebih rendah dibandingkan tempe kedelai (21%). Berdasarkan hasil penelitian ini, aplikasi laru campuran kapang *R. oligosporus* dan *R. oryzae* mampu meningkatkan kadar protein terlarut pada tempe kacang merah dibandingkan dengan tempe laru *R. oligosporus* atau *R. oryzae* secara tunggal. Kadar protein terlarut tertinggi ditunjukkan oleh tempe laru K1+K2 yang difermentasi selama 48 jam, yaitu sebesar 22,83% (Gambar 2).



Gambar 2 Kadar protein terlarut tempe kacang merah dengan variasi jenis laru dan waktu inkubasi.

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa penggunaan kultur campuran dalam pembuatan tempe menghasilkan tempe dengan nilai gizi yang lebih baik.

Kombinasi *R. oligosporus*, *R. oryzae*, and *R. stolonifer* pada pembuatan tempe kedelai menghasilkan tempe dengan kandungan gizi yang lebih seimbang (Wiesel *et al.* 1997) dibandingkan tempe dengan laru kultur tunggal, demikian juga dengan tempe kedelai yang menggunakan laru campuran *R. oligosporus* dan *Aspergillus oryzae* (Chou & Rwan 1995). Penelitian Starzynska-Janiszewska *et al.* (2012) juga menyebutkan aplikasi *R. oligosporus* dan *A. oryzae* pada produksi tempe kacang uci (*grass pea seeds* atau *Lathyrus sativus* L.) menghasilkan tempe dengan kandungan protein terlarut lebih tinggi, bioavailability protein yang lebih baik, serta kadar thiamin dan riboflavin lebih tinggi dibandingkan tempe dengan laru *R. oligosporus* tunggal.

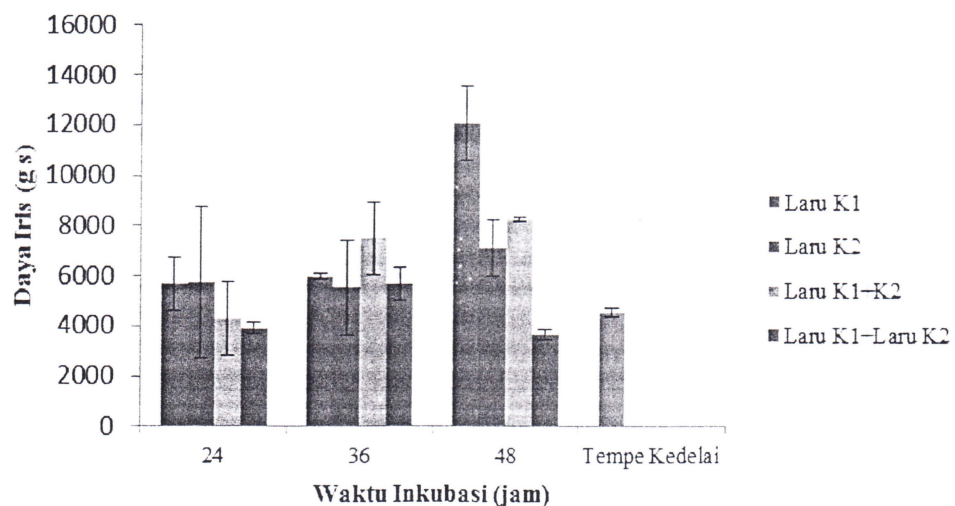
Kadar protein terlarut tempe kacang merah juga dipengaruhi oleh waktu fermentasi. Dari hasil penelitian (Gambar 2) diketahui bahwa kadar protein terlarut meningkat seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Menurut Beuchat di dalam (Babu *et al.* 2009), proses fermentasi diawali dengan tahap pertumbuhan kapang yang mengikat kacang hingga terbentuk struktur tempe yang kompak dan padat. Pada tahap selanjutnya terjadi pemecahan sebagian komponen gizi kompleks oleh enzim yang diproduksi oleh kapang, misalnya pemecahan protein menjadi peptida, asam amino, ammonia, dan komponen sederhana lainnya. Pada penelitian ini diduga hingga jam ke-48, proses yang terjadi adalah pertumbuhan kapang dengan menggunakan komponen nutrisi pada kacang merah. Pada fase ini, kapang menggunakan asam amino untuk pertumbuhannya dan mensintesa protein sehingga terjadi peningkatan kadar protein setelah 36 dan 48 jam.

Tekstur, Warna, dan Rendemen Tempe Kacang Merah

Faktor-faktor yang mempengaruhi tekstur, warna, dan rendemen tempe kacang merah antara lain adalah kadar air dan jumlah miselium kapang pada tempe. Kadar air tempe kacang merah pada semua perlakuan hampir sama, yaitu berkisar antara 60.32%–65.71%, sedangkan pertumbuhan kapang pada setiap tempe bervariasi sebagaimana telah dijelaskan pada bagian sebelumnya.

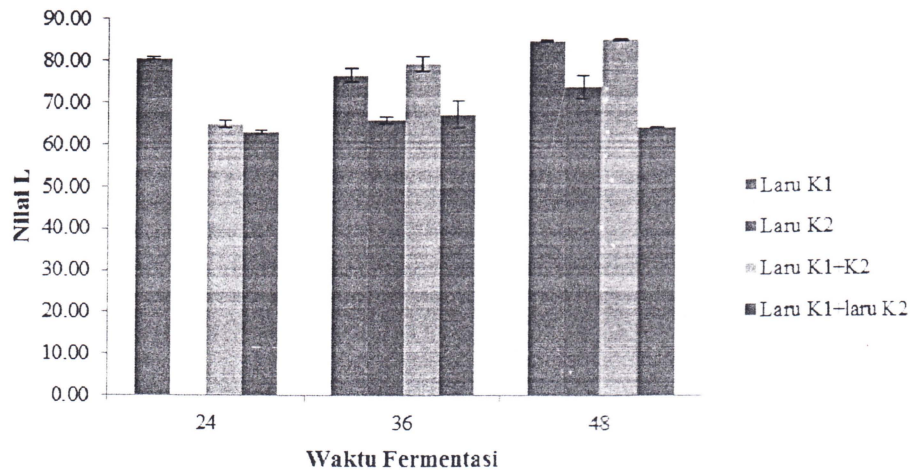
Data tekstur (daya iris) tempe kacang merah disajikan pada Gambar 3. Hampir semua tempe memiliki tekstur yang mirip dengan tempe kedelai sebagai

kontrol. Pada waktu fermentasi 36 dan 48 jam, tempe laru K1 dan tempe laru K1+K2 memerlukan daya yang lebih besar dibandingkan daya yang dibutuhkan untuk mengiris tempe dengan perlakuan lainnya. Hal ini berkorelasi positif dengan pertumbuhan kapang dan jumlah protein terlarut tempe. Pada tempe laru K1 dan tempe laru K1+K2, jumlah miselium yang terbentuk lebih banyak sehingga struktur tempe lebih kompak dan padat dan membutuhkan daya iris yang lebih besar. Pertumbuhan kapang pun menggunakan air yang terdapat pada kacang merah sehingga kandungan air pada tempe lebih rendah dibandingkan kadar air kacang merah. Menurunnya kadar air berimplikasi terhadap meningkatnya tingkat kekerasan atau daya iris tempe yang dihasilkan. Meskipun proses respirasi kapang juga menghasilkan air, akan tetapi sebagian besar uap air yang dihasilkan akan menguap melalui bukaan yang terdapat pada kemasan tempe sehingga tidak menyebabkan kenaikan kadar air tempe secara signifikan.



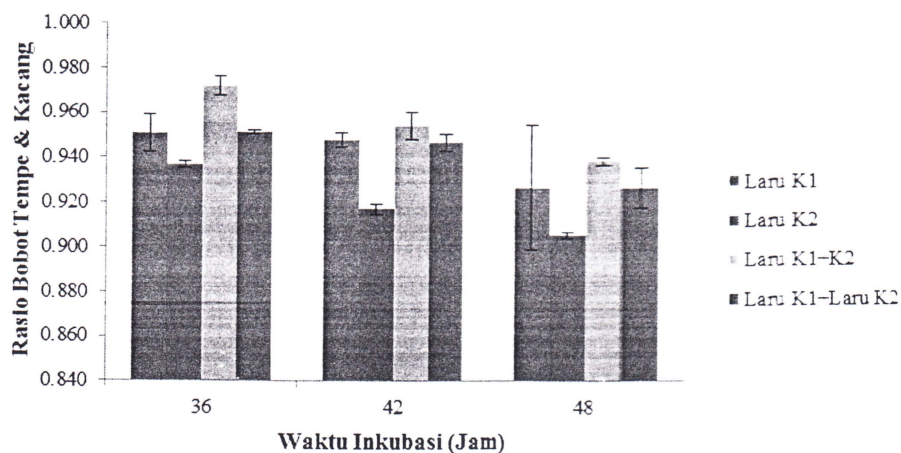
Gambar 3 Daya iris tempe kacang merah dengan variasi jenis laru dan waktu inkubasi.

Warna tempe selama proses fermentasi dengan menggunakan berbagai jenis laru disajikan pada Gambar 4. Warna tempe disajikan dalam tingkat kecerahan (L). Secara umum tingkat kecerahan tempe semakin meningkat dengan meningkatnya waktu fermentasi sebagai dampak dari pertumbuhan miselium tempe. Gambar 4 juga menunjukkan bahwa tempe yang difermentasi dengan menggunakan laru *R. oligosporus* (laru K1) dan kombinasinya dengan *R. oryzae* (Laru K1+K2) memiliki tingkat kecerahan paling tinggi dibanding jenis laru yang lain untuk semua waktu fermentasi.



Gambar 4 Tingkat kecerahan (nilai L) tempe kacang merah dengan variasi jenis laru dan waktu fermentasi.

Hasil penelitian mengindikasikan bahwa rendemen tempe kacang merah dipengaruhi oleh tingkat pertumbuhan kapang dan cenderung menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi (Gambar 5). Tempe dengan laru kombinasi *R. oligosporus* dan *R. oryzae* yang menunjukkan jumlah miselium terbanyak (laru K1+K2) memiliki rendemen tertinggi pada setiap waktu fermentasi.



Gambar 5 Rendemen tempe kacang merah dengan variasi jenis tempe dan waktu inkubasi.

KESIMPULAN

Kombinasi kapang *R. oligosporus* + *R. oryzae* (laru K1+K2) mampu menghasilkan tempe kacang merah dengan karakteristik yang lebih baik daripada

aplikasi kapang secara tunggal. Aplikasi laru K1+K2 menghasilkan tempe dengan miselium yang kompak dengan waktu fermentasi yang lebih cepat (24–36 jam) dibandingkan laru *R. oryzae* (laru K2). Tempe laru K1+K2 juga memiliki kadar protein terlarut tertinggi dibandingkan tempe dengan perlakuan lainnya pada waktu fermentasi 36 dan 48 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Institut Pertanian Bogor yang telah menyediakan dana penelitian melalui DIPA IPB tahun 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Babu PD, Bhakyaraj R, Vidhyalakshmi R. 2009. A Low Cost Nutritious Food “Tempeh”- A Review. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 4(1): 22–27.
- Barampama Z, Simard RE. 1994. Oligosaccharide, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. *Journal of Food Science*. 59:833–838.
- Chou CC, Rwan JH. 1995. Mycelial propagation and enzyme production in koji prepared with *Aspergillus oryzae* on various rice extrudates and steamed rice. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 79(5): 509–512.
- Guzman-Maldonado SH, Paredes-Lopez O. 1998. Functional Products of plants indigenous to Latin America: Amaranth, Quinoa, Common Beans, and Botanicals. In: Mazza (ed). *Functional foods: Biochemical's and processing Aspects*. Technomic Publishing, Pennsylvania. 308–312.
- Jaisan C, Kusumaningrum HD, Suliantari. 2013. Optimizing of Fermentation Process of Red bean Tempe. Research report, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Bogor Agricultural University.
- Kereena CH, Vishnuvardhan Z. 2012. Effect of Soya & Red Kidney Bean Supplementation on Nutrient Intakes of Head and Neck Cancer Patients. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences* ISSN: 2231-6345. Vol. 2(1) January- March, pp.266–275.
- Shurtleff W, Akiko A. 1979. *The Book of Tempeh*. New York : Harper & Row Publisher.
- Srapinkornburee W, Unnop T, Nipornram S. 2009. Commercial development of red kidney bean tempeh. *As. J. Food Ag-Ind*. 2(03): 362–372.

- Starzynska-Janiszewska A, Stodolak B, Dulinski R, Mickowska B. 2012. The influence of inoculum composition on selected bioactive and nutritional parameters of grass pea tempeh obtained by mixed-culture fermentation with *Rhizopus oligosporus* and *Aspergillus oryzae* strains. *Food Science and Technology International*. 18: 113.
- Thanh NV. 2004. Dormancy, Activation, and Viability of *Rhizopus oligosporus* sporangiospores. [Thesis]. Wageningen University, The Netherlands.
- Wiesel I, Rehm HJ, Bisping B. 1997. Improvement of tempe fermentations by application of mixed cultures consisting of *Rhizopus* sp. and bacterial strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 47(3): 218–225.