

# **Produksi Inokulum Tempe dari Kapang *R. oligosporus* dengan Substrat Limbah Industri Keripik Singkong**

Nur Hidayat, Wignyanto, Sri Suhartini dan Novena Aprin Noranita  
Jur. Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya

Makalah pada Seminar Nasional Hasil-hasil Penelitian di LSIH UB Malang 26 Juli 2009

## **ABSTRACT**

The objective of research is to know the concentration *R. oligosporus* in making tempe inoculum, to improve the potency of industrial disposal of cassava flaky and to determine the layout facility. Hypothesis of the research is assumed that concentration of pure culture have an effect on the mould amount of tempe inoculum.

Experimental design used is Complete Randomized Design with treatment is pure culture concentration *R. oligosporus*, that consisted of 5 treatment; 0.1% w/w, 0,3 % w/w, 0,5 % w/w, 0,7 % w/w and 0,9 % w/w. Analysis conducted cover the rate irrigate, rendemen, water conten, the amount of mould and bacterium, and the amount of mould after one month.

The result of this research indicate that pure culture bconcentration 0,5 % w/w give the best result with the water content 6.57%, yield 41.699%, number of the mould 7.9 log cfu/g with the percentage of the mould live after 1 month 89.52%, the number of the mould from the inoculum that mixed with rice powder 6.9 log cfu/g with the percentage mould live after 1 month 90.92%, and the percentage of bacterium 41.74%.

Key words : cassava, Inoculum, *R. oligosporus*

## **PENDAHULUAN**

Tempe merupakan produk hasil fermentasi kedelai yang sudah lama dikenal di Indonesia. Faktor terpenting dalam pembuatan tempe adalah inokulum atau laru yang mengandung kapang *Rhizopus* sp. Jenis kapang yang berperan dalam fermentasi tempe adalah *R. oligosporus* dan *R. oligosporus* dan kapang lain seperti *R. stolonifer* dan *R. arrhizus*. Inokulum tempe digunakan sebagai agensia pengubah kedelai yang telah mengalami proses perebusan dan perendaman menjadi tempe (Kasmidjo, 1990).

Inokulum tempe yang telah dikenal oleh masyarakat saat ini adalah usar dan inokulum bubuk buatan LIPI. Usar merupakan inokulum tempe yang dibuat dari kedelai yang telah diberi ragi dan diletakkan diantara dua lapis daun waru. Dalam pembuatan usar, proses pengeringannya dilakukan di tempat terbuka sehingga jumlah bakteri kontaminan pada usar lebih banyak dibandingkan inokulum bubuk. Inokulum bubuk buatan LIPI merupakan biakan *R. oligosporus*

yang dibiakan pada media beras yang telah masak kemudian dikeringkan lalu digiling (Kasmidjo, 1990).

Secara tradisional, inokulum dibuat dengan berbagai cara. Ada yang menggunakan bekas pembungkus tempe, atau menggunakan tempe itu sendiri, menggunakan tempe yang dikeringkan ataupun tempe yang diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Metode lainnya adalah menggunakan daun pisang, daun waru, daun jati yang ditumbuhi dengan jamur tempe kemudian dikeringkan. Penggunaan beras dan singkong juga pernah dilaporkan (Hermana, and Roejito. 1971).

Penentu kualitas ragi adalah konsentrasi spora yang aktif karena hal ini dapat mempengaruhi kemampuan ragi dalam memfermentasi kedelai. Konsentrasi mikroorganisme pada media fermentasi akan mempengaruhi jumlah sel yang hidup dan aktif. Oleh karena itu perlu diketahui berapa konsentrasi kultur murni yang terbaik untuk pembuatan inokulum tempe.

Jawa Timur khususnya Malang merupakan salah satu daerah penghasil ubi kayu sehingga banyak terdapat usaha pengolahan ubi kayu, salah satunya adalah industri keripik singkong. Pada sentra industri kecil keripik singkong di daerah Mojorejo Kecamatan Junrejo Malang, ubi kayu yang dibutuhkan untuk produksi rata – rata 4 – 6 kwintal/hari dan limbah padat yang dihasilkan sekitar 25%–30% dari berat bahan baku. Limbah padat tersebut berupa kulit dan umbi bagian ujung yang tidak terpakai dan dijual untuk makanan ternak. Melihat besarnya ketersediaan limbah pada industri keripik singkong tersebut, maka dapat dilakukan pemanfaatan limbah sehingga dapat meningkatkan potensi, khususnya potongan ubi kayu bagian ujung sebagai substrat untuk pertumbuhan kapang *R. oligosporus* karena bagian ini masih mengandung karbohidrat yang merupakan nutrisi untuk pertumbuhan kapang.

Produksi inokulum tempe dari kapang *R. oligosporus* dengan substrat potongan ubi kayu bagian ujung merupakan industri baru, sehingga pengembangan usaha dilakukan dalam skala industri kecil. Menurut Subanar (2001) industri kecil merupakan tipe usaha yang cocok untuk mengelola produk, jasa atau proyek perintisan yang baru atau belum pernah ada yang mencobanya. Perencanaan tata letak fasilitas pada perusahaan perlu dilakukan untuk memperlancar proses produksi. Kegiatan ini dilakukan dengan memperhatikan proses-proses produksi inokulum tempe sehingga dapat ditentukan peralatan yang dibutuhkan dan kegiatan mana saja yang penting untuk didekatkan, dengan demikian kegiatan produksi dapat berjalan dengan lancar dan tidak terjadi kesimpangsiuran proses.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioindustri dan Pengelolaan Limbah, Jurusan Teknologi Industri Pertanian Universitas Brawijaya.

Alat yang digunakan yaitu Cawan Petri, Pemanas Bunsen, tabung reaksi, pipet volume, jarum ose, timbangan analitik, timbangan digital, panci, blender, loyang, penangas air, kompor gas, oven, ayakan 120 mesh, rak pengering.

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi potongan ubi kayu bagian ujung, biakan kapang *R. oligosporus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang, aquades, alkohol 70%, *Potato Dextrose Agar (PDA)*, *Nutrient Agar (NA)*, *Rose Bengal*.

Penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu konsentrasi kultur murni *R. oligosporus* yang terdiri dari 5 (lima) perlakuan, masing-masing diulang 3 (tiga) kali. Perlakuan percobaan yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

- K1 : Konsentrasi 0,9% b/b
- K2 : Konsentrasi 0,7% b/b
- K3 : Konsentrasi 0,5% b/b
- K4 : Konsentrasi 0,3% b/b
- K5 : Konsentrasi 0,1 % b/b

Jumlah spora kapang *R. oligosporus* pada starter awal mengandung  $1,3 \times 10^7$  cfu/g.

### **Pembuatan Inokulum**

Potongan ubi kayu bagian ujung dikupas, dicuci kemudian diparut kasar. Ubi yang telah diparut, dikukus selama 30 menit kemudian didinginkan (diangin-anginkan). Setelah dingin diinokulasi dengan kultur murni *R. oligosporus*. Biakan murni *R. oligosporus* dari tabung reaksi diambil satu ose dan diinokulasikan pada ubi kayu dan diinkubasi selama 48 jam. Ubi kayu yang telah ditumbuhi *R. oligosporus* dikeringkan pada suhu  $40^0-45^0C$  selama 48 jam, kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan 120 mesh.

### **Pembuatan Inokulum Bubuk**

Potongan ubi kayu bagian ujung dikupas dan dicuci bersih. Potongan ubi diparut kasar untuk pengecilan ukuran kemudian dikukus selama 30 menit, didinginkan kemudian diinokulasi

dengan starter sesuai dengan perlakuan yaitu sebanyak 0,1%b/b, 0,3%b/b, 0,5%b/b, 0,7%b/b dan 0,9%b/b dari berat total substrat., kemudian diinkubasi selama 48 jam, kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan 120 mesh. Hasil yang tidak lolos ayakan dihaluskan kembali sehingga dapat lolos ayakan.

Tepung beras digoreng tanpa minyak (disangrai) selama 15 menit kemudian didinginkan. Proses penyangraian bertujuan untuk mematikan mikroba yang tercampur dalam tepung agar tidak menimbulkan gangguan terhadap mikroba fermentasi.

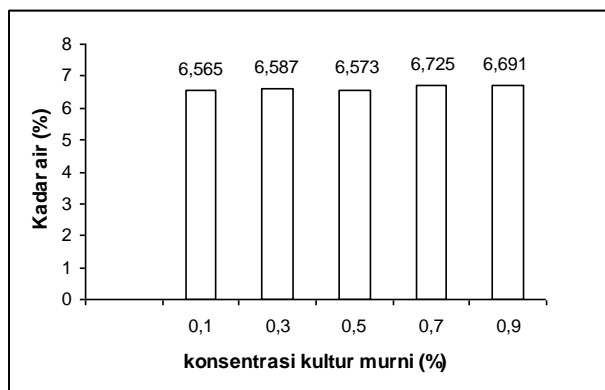
Inokulum bubuk ditimbang sebanyak 20% dari berat total tepung beras. Inokulum bubuk dicampur dengan tepung beras.

Analisa yang dilakukan meliputi rendemen, kadar air, jumlah kapang, jumlah bakteri kontaminan dan jumlah kapang yang hidup setelah satu bulan. Perhitungan jumlah kapang dilakukan dengan hitungan cawan metode *pour plate*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Air

Kadar air inokulum tempe berkisar antara 6,56% sampai 6,69% (Gambar 1). Hasil analisis ragam memperlihatkan tidak adanya beda nyata antar perlakuan.

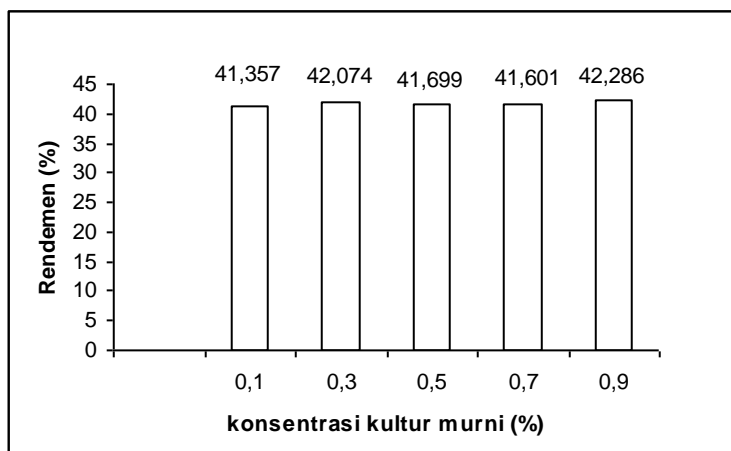


**Gambar 1. Kadar Air Inokulum Tempe pada Berbagai Konsentrasi Kultur Murni**

Pengeringan antar perlakuan pada penelitian ini dilakukan pada suhu yang sama yaitu 40<sup>0</sup>-45<sup>0</sup>C selama 48 jam (2 hari) sehingga akan diperoleh nilai kadar air yang relatif sama. Nilai kadar air inokulum tempe yang diperoleh dengan waktu pengeringan 48 jam, relatif kecil yaitu antara 6,565% sampai dengan 6,691% (kurang dari 10%).

## Rendemen

Nilai rendemen pada masing-masing perlakuan berkisar antara 41,357% hingga 42,286% (Gambar 2). Uji rendemen menunjukkan tidak ada beda nyata antar perlakuan.

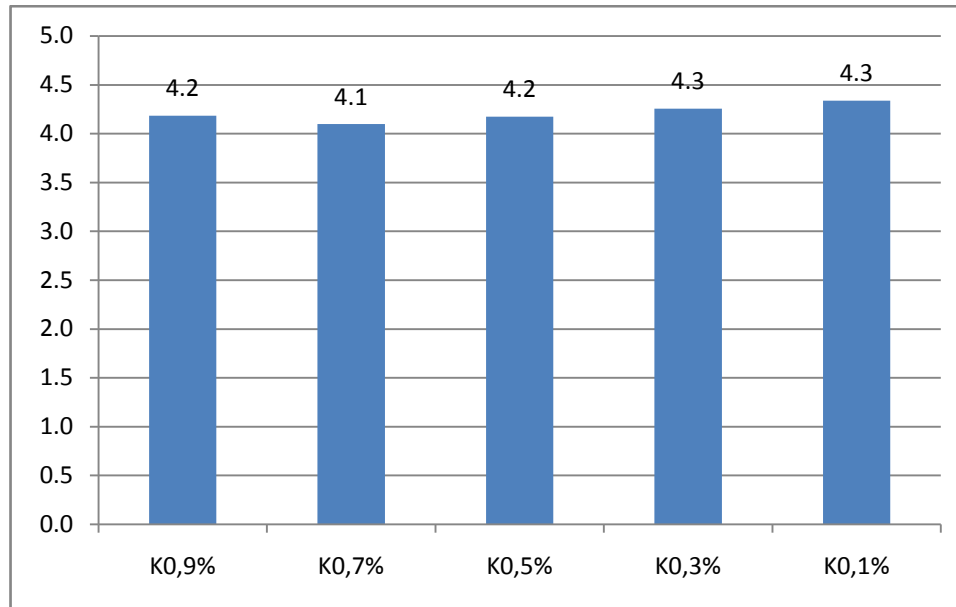


**Gambar 2. Rendemen Inokulum Tempe pada Berbagai Konsentrasi Kultur Murni**

Nilai dari rendemen dipengaruhi oleh kadar air bahan. Aktivitas pertumbuhan tidak mempengaruhi rendemen karena metabolisme yang terjadi tidak menunjukkan perbedaan.

## Bakteri Kontaminan

Persentase bakteri kontaminan pada masing-masing perlakuan berkisar antara 40,97% sampai dengan 43,38% (gambar 3). Berdasarkan hasil analisa ragam, menunjukkan tidak adanya beda nyata antar perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi kultur murni tidak berpengaruh pada bakteri kontaminan. Tidak adanya perbedaan ini disebabkan tidak adanya sifat antagonis atau metabolit yang dihasilkan jamur terhadap bakteri kontaminan. Dalam tempe ditemukan adanya antibakteri yang disebut rhizocin, namun antibakteri ini bukanlah dihasilkan oleh jamur namun oleh *Bacillus* (Fukuda, *et al*, 2008).



**Gambar 3. Jumlah Bakteri Kontaminan (dalam log CFU/g) pada Berbagai Konsentrasi Kultur Murni.**

Pada inokulum mengandung sekitar 40,86% sampai dengan 43,38% bakteri kontaminan. Hasil ini juga tidak beda dengan penelitian yang dilakukan oleh Hermana dan Ko (1974) yang menggunakan kondisi aseptis. Kontaminan yang sering ada pada inokulum adalah *Bacillus mycoides*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas cocovenenans*, *Pseudomonas pyoceanea*, dan *Proteus* sp. Namun demikian, menurut Kasmidjo (1990), keberadaan bakteri kontaminan tidak akan mengganggu proses fermentasi asalkan populasinya tidak melebihi jumlah kapang dalam inokulum tempe.

### **Total Kapang Inokulum Tempe**

Total kapang pada inokulum tempe yang telah dicampur dengan tepung beras menunjukkan penurunan dari jumlah awal sebelum pencampuran. Total kapang setelah pencampuran dengan tepung beras yaitu Tabel 1 di bawah ini menunjukkan rata-rata total kapang setelah dicampur dengan tepung beras.

**Tabel 1. Rata-rata Total Kapang Setelah Dicampur Tepung Beras**

Konsentrasi kultur murni (%)	Rata-rata (log cfu/g)	Notasi	BNT 5%
0,1	6,432	a	0,548
0,3	6,524	a	
0,5	6,893	ab	
0,7	7,398	bc	
0,9	7,539	c	

Keterangan : Rata-rata yang didampingi notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNT ( $\alpha = 5\%$ )

Perbedaan jumlah kapang ditunjukkan pada pemberian konsentrasi 0,9 % dengan 0,5%, 0,3% dan 0,1% dan 0,7% dengan 0,1% dan 0,3%.

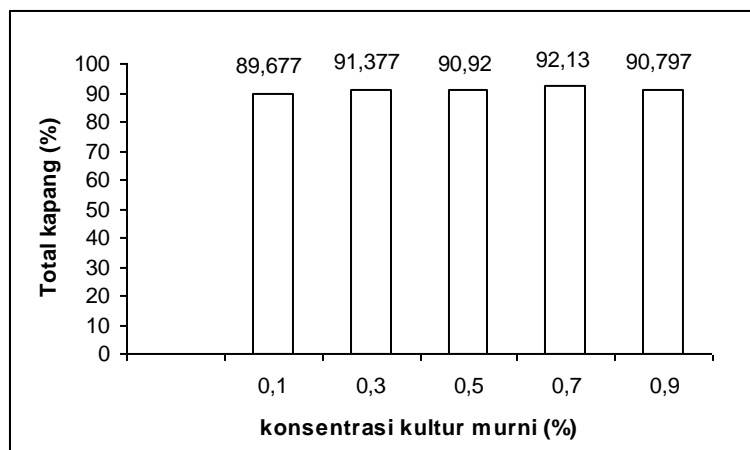
Tabel 1 menunjukkan kenaikan total kapang pada penambahan konsentrasi kultur murni yang semakin tinggi. Kenaikan jumlah kapang terlihat jelas pada pemberian konsentrasi 0,3 dan 0,5 %, tetapi pada pemberian konsentrasi 0,7% kenaikan terjadi relatif kecil dan stabilitas akan terjadi jika pemberian konsentrasi di atas 0,9%. Hal ini sesuai dengan Buckle (1987), bahwa pertumbuhan populasi mikroorganisme tidak selamanya terjadi secara eksponensial, apabila jumlah mikroorganisme telah mencapai maksimum maka pertumbuhan tidak lagi mengalami kenaikan, melainkan cenderung menurun dan akhirnya terhenti.

Jumlah kapang pada inokulum yang dicampur tepung beras dipengaruhi oleh jumlah kapang inokulum tempe awal yaitu sebelum dicampur tepung beras. Tepung beras berfungsi sebagai bahan pengisi atau *filler* agar warna inokulum tempe menjadi lebih putih, selain itu agar dapat dijual dalam jumlah yang banyak Menurut Suprpti (2003), penambahan tepung beras juga dapat meningkatkan kemampuan ragi dalam melunakkan biji kedelai, tetapi jika jumlah tepung beras yang digunakan sebagai media tidak sesuai dengan ketentuan, misalnya terlalu banyak, maka konsentrasi spora rendah. Menurut Anonymous (2000) pencampuran antara inokulum dan

tepung beras adalah 10 gram inokulum untuk setiap 50 gram tepung beras, atau jumlah inokulum 20% dari berat bahan pengisi.

### **Persentase Jumlah Kapang Hidup Setelah 1 Bulan pada Inokulum Tempe**

Hasil dari perhitungan persentase jumlah kapang hidup setelah satu bulan pada inokulum tempe berkisar antara 89,68% sampai 92,13% (Gambar 4). Berdasarkan hasil analisa ragam, menunjukkan tidak adanya beda nyata antar perlakuan. Penurunan jumlah kapang hidup lebih dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan daripada jumlah kapang yang terdapat dalam inokulum.



**Gambar 4. Persentase Jumlah Kapang yang Hidup dalam Inokulum Tempe setelah 1 Bulan pada Berbagai Konsentrasi Kultur murni**

Jumlah kapang inokulum tempe setelah satu bulan mengalami penurunan tetapi relatif kecil. Faktor yang berpengaruh pada jumlah kapang yang hidup setelah satu bulan adalah suhu lingkungan, kelembaban dan cara penyimpanan. Penyimpanan inokulum dilakukan dalam plastik tertutup agar tidak terkontaminasi oleh udara luar. Hal ini sesuai dengan Rusmin dan Ko (1976) dalam Shurtleff dan Aoyagi (1979) bahwa jumlah spora hidup akan mengalami penurunan yang relatif rendah pada minggu-minggu awal jika disimpan dalam plastik tertutup pada suhu dan kelembaban yang rendah. Inokulum tempe tersebut akan mengalami penurunan sekitar 35% setelah 12 hingga 14 Minggu.



## KESIMPULAN DAN SARAN

### 1. Kesimpulan

1. Konsentrasi kultur murni yang terbaik pada pembuatan inokulum tempe dari biakan murni *R. oligosporus* adalah 0,5% dari berat substrat dengan total kapang inokulum bubuk  $8,02 \times 10^7$  cfu/g ( $7,902 \log \text{ cfu/g}$ ) dengan persentase jumlah kapang yang hidup setelah 1 bulan pada inokulum awal 89,52%, jumlah kapang inokulum tempe ( setelah dicampur dengan tepung beras )  $3,04 \times 10^7$  cfu/g ( $6,893 \log \text{ cfu/g}$ ) dengan persentase jumlah kapang hidup pada inokulum tempe sebesar 90,92% dan persentase bakteri kontaminan 41,748%.
2. Potongan ubi kayu bagian ujung dapat digunakan sebagai substrat pada produksi inokulum tempe dari biakan murni *R. oligosporus* dengan nilai rendemen sebesar 41,699% dan kadar air 6,573%.

### Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai perlakuan untuk meminimalkan jumlah bakteri kontaminan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2000. **Pembuatan Laru (Ragi Tempe)**. <http://www.indomedia.com/intisari/2000/april/tempe4.htm>. Tanggal akses 22 Juli 2005
- Fukuda, T., S. Yamamoto, and H.i Morita. 2008. **Changes in the antibiotic production by co-culture of *Rhizopus peka* P8 and *Bacillus subtilis* IFO3335**. World J Microbiol Biotechnol. 24:1893–1899
- Hermana and S.W. Roejito. 1971. **Pembuatan Inokulum Tempe dan Kajian Aktivasnya Selama Penyimpanan**. Penelitian Gizi dan Makanan 1: 52 – 60.
- Kasmidjo, R.B. 1990. **Tempe Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan Serta Pemanfaatannya**. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta
- Rusmin, S and S. D. Ko. 1974. **Rice-Grown *Rhizopus oligosporus* Inoculum for Tempeh Fermentation**. Appl.Microbiol, 28(3): 347-350

Shurtleff, W and A. Aoyagi. 1979. **The Book of Tempeh**. Harper and Row. New York

Subanar, H. 2001. **Manajemen Usaha Kecil**. Edisi ke-1. PT.BPFE-Yogyakarta. Yogyakarta

Suprpti, M.L. 2003. **Pembuatan Tempe**. Kanisius. Yogyakarta