

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Rhizopus oligosporus* DAN *Rhizopus oryzae* PADA TEMPE ASAL BEKASI

*Isolation and Identification of Rhizopus oligosporus and Rhizopus oryzae
In Tempeh from Bekasi*

Nisa Nurholipah* dan Qurrota Ayun

Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam As-Syafiyah

Jl Raya Jatiwaringin No 12 Pondok Gede 17411

*email:nisanurholipah@gmail.com

ABSTRAK

Tempe yang berkualitas memiliki kandungan gizi tinggi seperti protein, lemak, karbohidrat, dan vitamin yang sangat diperlukan oleh tubuh. Dalam proses fermentasi tempe terdapat kapang *Rhizopus sp.* yang paling dominan. Adanya *Rhizopus sp.* sebagai agen untuk menghasilkan berbagai macam enzim yang dapat mengurai senyawa kompleks protein menjadi lebih sederhana. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kapang *Rhizopus sp.* dari beberapa tempe di Bekasi. Metode yang digunakan dengan cara tanam langsung pada media PDA. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati warna konidia dan miselium, sedangkan pengamatan mikroskopik dilakukan dengan teknik *slide culture* yaitu mengamati bentuk Spora, kolumela, Sporangiospora dan hifa. Hasil penelitian menunjukkan terdapat isolat kapang *R. oligosporus* dan *R. oryzae*. Inokulum tempe didominasi oleh kapang *R. oligosporus*.

Kata kunci: tempe, isolasi, identifikasi, R. oligosporus, R. Oryzae

ABSTRACT

Quality tempeh has a high nutritional content such as protein, fats, carbohydrates, and vitamins that are indispensable to the body. In the process of fermentation of tempeh there is a *Rhizopus sp.* the most dominant. The presence of *Rhizopus sp.* As an agent to produce a wide range of enzymes that can break down protein complex compounds become simpler. This study aims to isolate the strains of *Rhizopus sp.* from some tempeh in Bekasi. The method is used by planting directly on the PDA media. Macroscopic observations are carried out by observing the colors of conidia and mycelium, while microscopic observations are carried out with slide culture techniques that are observing the form of spores, columela, sproangiospora and hyphae. The results showed that there are isolates of *R. oligosporus* and *R. oryzae*. The tempeh inoculum is dominated by *R. oligosporus* type.

Keyword: Tempeh, isolation, identification, R. oligosporus, R. oryzae

PENDAHULUAN

Tempe merupakan produk olahan masyarakat Indonesia yang berasal dari kedelai. Tempe menjadi sumber protein nabati yang

populer di Indonesia. Beberapa faktor pendukung dalam proses pembuatan tempe diantaranya bahan baku yang dipakai (kedelai), mikroorganisme (kapang tempe), dan keadaan

lingkungan tumbuh (suhu, pH, dan kelembaban). Tempe di Indonesia pada umumnya terbuat dari kedelai yang direbus dan difermentasi dengan kapang *Rhizopus* sp. Hasil dari proses fermentasi kapang mampu menghasilkan beberapa enzim diantaranya enzim protease yang menguraikan protein menjadi peptida dan asam amino bebas, enzim lipase yang menguraikan lemak menjadi asam-asam lemak dan enzim amilase yang menguraikan karbohidrat kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana (Radiati & Sumarto, 2016). Selain, menghasilkan protein yang tinggi, tempe juga merupakan sumber serat pangan yang dapat mencegah berbagai penyakit degeneratif serta mengandung isoflavon yang dapat menangkal radikal bebas (Li & Manfred, 2010; Utari *et al.*, 2010).

Ragi mengandung sediaan mikro-organisme hidup (kapang) yang merupakan bahan baku penunjang dalam fermentasi pembuatan tempe yang sering disebut sebagai "ragi tempe". Spesies Kapang yang terlibat diantaranya adalah *Rhizopus oligosporus*, *R. oryzae*, *R. stolonifer* (kapang roti), dan *R. arrhizus*. Kapang yang tumbuh pada kedelai menyerupai benang-benang halus berwarna putih (miselium) yang akan menghidrolisis senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh tubuh. *Rhizopus* merupakan kapang yang penting dalam industri makanan sebagai penghasil berbagai macam enzim dan dalam fermentasi tempe tidak memproduksi racun, bahkan kapang itu melindungi tempe terhadap kapang penghasil

afatoksin. Selain itu, tempe yang ditambahkan ekstrak etanol dan etil asetat bersifat antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (Mambang *et al.*, 2014).

Menurut Hartanti *et al.*, (2015) tempe Indonesia mengandung kapang *R. delemar* dan *R. microsporus*. Namun, sering dijumpai adanya kapang yang berbeda berdasarkan asal atau lokasi pembuatan tempe. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *Rhizopus* sp serta untuk mengetahui jenis-jenis *Rhizopus* sp pada tempe yang berada di daerah Bekasi.

METODOLOGI PENELITIAN

Pengambilan sampel

Sampel tempe diambil dari tiga pasar di Bekasi Utara yaitu pasar PCL, SRJ, dan BKS. Tempe yang digunakan adalah yang masih segar. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam As-Syafi'iyah.

Isolasi Kapang

Isolasi kapang dari tempe dilakukan dengan cara mengambil secara aseptik miselium tempe yang diinokulasikan pada media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5x24 jam. Inokulasi sampel dilakukan di atas cawan petri dan dilakukan duplo. Isolat kapang yang menunjukkan karakteristik morfologi *Rhizopus* dipindahkan media PDA miring.

Identifikasi Kapang

Pengamatan karakteristik isolat kapang dilakukan dengan cara makroskopis dimana diamati warna konidia dan miselium isolat kapang, sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara diambil 1 ose isolat kapang, digoreskan di atas *object glass* yang telah disterilkan, selanjutnya ditetesi pewarna safranin dan ditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan mikroskop pada perbesaran 100 kali. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk spora, kolumela, sporangiospora dan hifa. Isolat-isolat yang diperoleh dari hasil isolasi dikarakterisasi dan kemudian diidentifikasi menggunakan buku identifikasi (Pitt & Hocking, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dan identifikasi *Rhizopus* secara makroskopis

Hasil isolasi kapang dari ketiga sampel tempe setelah dilakukan pengamatan selama 5 hari diperoleh 2 jenis *Rhizopus*. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis, karakter ke-6 isolat tersebut menunjukkan 4 isolat dengan miselium berwarna abu-abu kecoklatan dan 2 isolat lainnya putih keabu-abuan yang menyerupai koloni kapang *R. oligosporus* dan *R. oryzae* (Pitt & Hocking, 2009). Dalam penelitian ini ternyata

kapang *R. oligosporus* yang selalu dijumpai dari setiap inokulum tempe yang digunakan.

Tabel 1 menunjukkan pertumbuhan miselia dan konidia *R. oligosporus* sangat lebat dibandingkan dengan *R. oryzae*. Hal ini disebabkan *R. oligosporus* tumbuh cepat dengan suhu optimum 37°C. Faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan kapang karena adanya nutrisi yang terkandung di dalam media PDA. *R. oligosporus* dilaporkan Sine & Soetarto (2018) tumbuh lebih awal dalam fermentasi tempe biji gude dan yang paling dominan dalam proses fermentasi.

R. oligosporus dapat menghasilkan enzim protease lebih banyak dibandingkan *R. oryzae*. Kapang *R. oligosporus* dapat digunakan sebagai kultur tunggal dalam ragi untuk memproduksi tempe yang berkualitas karena mampu menghasilkan antibiotik dan biosintesis vitamin-vitamin B (Wipradnyadewi et al., 2011). Aktivitas protease mempengaruhi pembentukan peptida bioaktif karena sebab itu, tempe lebih mudah dicerna dan zat gizinya mudah terserap oleh tubuh. Sebaliknya *R. oryzae* cenderung lebih banyak menghasilkan enzim amilase dan dilaporkan oleh Retnoningtyas et al., (2013) bahwa *R. oryzae* dapat menghasilkan metabolit primer yaitu asam laktat.

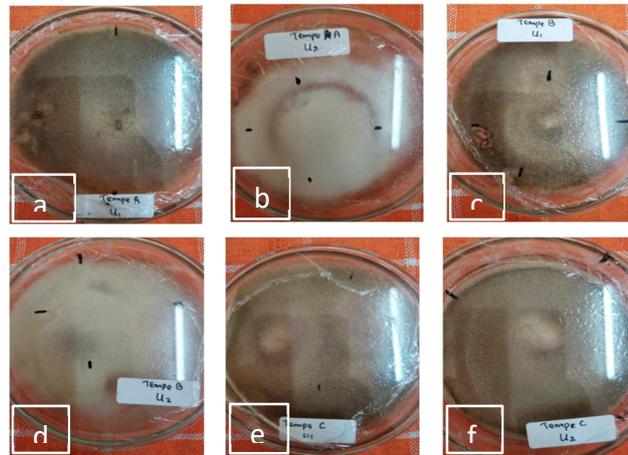
Tabel 1. Hasil isolasi makroskopis *Rhizopus*

Asal	kode isolate	Warna konidia	Pengamatan pada media PDA		Hasil identifikasi
			Miselium	Konidia	
PCL	TAU1	Abu-abu kecoklatan	+++	+++	<i>R. oligosporus</i>
	TAU2	Putih keabu-abuan	++	++	<i>R. oryzae</i>
SRJ	TBU1	Abu-abu kecoklatan	+++	+++	<i>R. oligosporus</i>
	TBU2	Putih keabu-abuan	++	++	<i>R. oryzae</i>
BKS	TCU1	Abu-abu kecoklatan	+++	+++	<i>R. oligosporus</i>
	TCU2	Abu-abu kecoklatan	+++	+++	<i>R. oligosporus</i>

Keterangan : +++ : sangat lebat (menutupi seluruh media PDA), ++ : lebat (menutupi $\frac{3}{4}$ media PDA)

Berdasarkan Gambar 1. *R. oligosporus* tumbuh lebih cepat pada lama inkubasi 5x24 jam dibanding *R. oryzae*. Miselium *R. oligosporus* pada semua sampel terlihat menutupi seluruh permukaan media PDA dan konidia berbentuk globose (Pitt & Hocking, 2009). Sebaliknya miselium *R. Oryzae* tidak seluruhnya menutupi seluruh permukaan cawan petri, awalnya koloni berwarna putih dengan diameter 8 mm kemudian

menjadi keabu-abuan dengan bertambahnya usia biakan berwarna hingga coklat kekuningan. Pola pertumbuhan miselium yang semakin hari semakin besar, cepat dan lebat ini berhubungan dengan besarnya aktivitas protease. Menurut Gandjar & Sjamsuridzal (2006) miselium *Rhizopus* terdiri dari dua jenis, satu tertanam dalam lapisan dan yang lainnya seperti antena membentuk stolon.



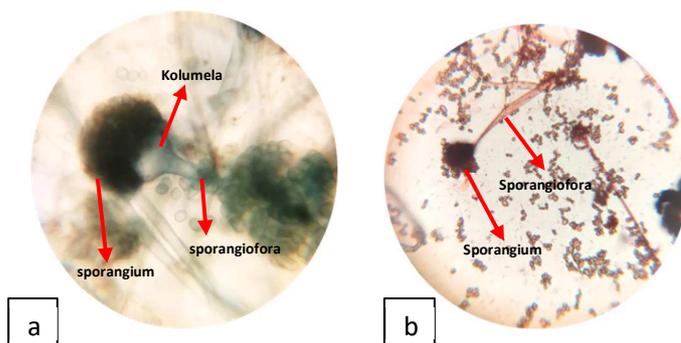
Gambar 1. Hasil isolasi koloni *Rhizopus* pada permukaan media PDA : (a) *R. oligosporus* tempe PCL, (b) *R. oryzae* tempe PCL (c) *R. oligosporus* tempe SRJ (d) *R. oryzae* tempe SRJ (e) *R. oryzae* tempe BKS (f) *R. oryzae* tempe BKS

Identifikasi *Rhizopus* secara mikroskopis

Hasil identifikasi secara mikroskopis pada semua isolat menunjukkan ciri-ciri *Rhizopus*, terlihat adanya stolon dan rhizoid yang warnanya gelap, kolumela agak bulat dan apofisis seperti payung, sporangia hitam dan besar pada ujung sporangiospora, hifa tidak bersepta dimana ada dua tipe hifa, yaitu hifa negatif dapat menetrasi substrat dan hifa fertile dapat memproduksi sporangia.

Warna sporangiospora *R. Oligosporus* hitam kecoklatan dengan panjang 7-10 μm . bentuk kolumela globuse, umumnya memiliki rhizoid yang pendek, panjang sporangiosfor sekitar 150-400 μm lebih pendek dari *R. oryzae* dan bertekstur halus, sporangium dengan diameter 80-120 μm dan pada saat 7 hari akan

pecah sehingga spora keluar kolumela. *R. oryzae* memiliki panjang sporangiospora lebih dari 1500 μm , diameter sporangium lebih dari 150 μm , rizoid berwarna kecoklatan dan bercabang berlawanan arah dengan sporangiofor. Sporangiofor tunggal dan ada yang berkelompok hingga 5, kadang-kadang membentuk struktur seperti percabangan garpu, ber dinding halus, memiliki panjang 150-2000 μm dan berdiameter 6-14 μm . Sporangia berbentuk bulat, dinding berduri, berwarna coklat gelap hingga coklat kehitaman, dan berdiameter 50-200 μm . Kolumela berbentuk avoid. khalmidiospora berbentuk bulat, berdiameter 10-35 μm dan kolumela dengan diameter lebih dari 100 μm . Hal ini sesuai dengan pendapat (Gandjar & Sjamsuridzal, 2006).



Gambar 2. Hasil identifikasi mikroskopis (a) *R. oligosporus* (b) *R. oryzae*

Berdasarkan hasil penelitian ini pembuatan tempe asal Bekasi umumnya menggunakan inokulum *R. oligosporus* dan *R. oryzae* dan tidak ditemukan varian spesies *Rhizopus* lainnya. Umumnya *R. oligosporus* paling sering ditemukan pada tempe Indonesia. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *R. oligosporus* berhasil diisolasi dari tempe yang berasal dari kabupaten Banyumas, Bogor, Jember, dan Mataram (Dewi & Aziz, 2011; Prihatna & Suwanto, 2007). Hasil yang sama juga dilaporkan oleh (Hernawati & Meylani, 2019) yang mengisolasi *R. oligosporus* dari berbagai macam merk ragi tempe yang berasal dari kedelai dan bungkil kacang tanah. Hal ini sesuai dengan penjelasan Pitt & Hocking (2009) yang menyatakan bahwa *R. oligosporus* adalah kapang yang umumnya digunakan untuk membuat tempe di Indonesia. Hal tersebut dimungkinkan karena *R. oligosporus* memiliki kemampuan yang baik sebagai starter dalam proses fermentasi untuk menghasilkan tempe yang berkualitas.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dari 3 (tiga) sampel tempe diperoleh isolat kapang *R. oligosporus* dan *R. oryzae*. Pertumbuhan *R. Oligosporus* lebih cepat dan sangat lebat dibandingkan *R. Oryzae* dan merupakan kapang yang dominan dijumpai pada inokulum tempe Bekasi. Pada penelitian ini tidak ditemukan variasi spesies anggota genus *Rhizopus* lainnya. Untuk selanjutnya perlu dilakukan identifikasi secara molekuler agar dapat diketahui dengan cepat spesies yang ada pada tempe.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, R. S., & Aziz, S. 2011. Isolasi *Rhizopus oligosporus* Pada Beberapa Inokulum Tempe Di Kabupaten Banyumas. *Molekul*, 6(2), 93–104. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2011.6.2.97>.
- Gandjar, I., & Sjamsuridzal, W. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Hartanti, A. T., Rahayu, G., & Hidayat, I. 2015. *Rhizopus* Species from Fresh Tempeh Collected from Several Regions in Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*,

- 22(3), 136–142.
<https://doi.org/10.1016/j.hjb.2015.10.004>.
- Hernawati, D., & Meylani, V. 2019. Variasi Inokulum *Rhizopus sp.* pada Pembuatan Tempe Berbahan Dasar Kedelai dan Bungkil Kacang Tanah. *J Bioma*, 4(1), 58–67.
- Li, Y. D., & Manfred, P. 2010. The Impact of Soy Oligosaccharides on digestion and intestinal Health in Weaning Piglets. *Livestock Science*, 134(1–3), 187–189.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.137>.
- Mambang, D. E. P., Rosidah, R., & Suryanto, D. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 25(1), 115–118.
<https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.1.115>
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. 2009. Fungi and Food Spoilage. In *Springer* (3rd Edition, Vol. 53, Issue 9). Springer Dordrecht Heidelberg.
<https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- Prihatna, C., & Suwanto, A. 2007. Phenotypic, Metabolic, and Genetic Diversity of the Indonesian Isolates of *Rhizopus oligosporus*. *Microbiology Indonesia*, 1(1), 27–32. <https://doi.org/10.5454/mi.1.1.7>.
- Radiati, A., & Sumarto. 2016. Analisis Sifat Fisik, Sifat Organoleptik, dan Kandungan Gizi pada Produk Tempe dari Kacang Non-Kedelai. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5(1), 2016.
<https://doi.org/10.17728/jatp.v5i1.32>.
- Retnoningtyas, E. S., Ayucitra, A., Maramis, F., Yong, O. W., Pribadi, F. W., & Tanti, N. K. (2013). Fermentasi Substrat Padat dan Substrat Cair untuk Produksi Asam Laktat dari Kulit Pisang dengan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 12(1), 208.
<https://doi.org/10.5614/jtki.2013.12.1.5>.
- Sine, Y., & Soetarto, E. S. 2018. Isolasi dan Identifikasi Kapang *Rhizopus* pada Tempe Gude (*Cajanus cajan* L.). *Savana Cendana*, 3(4), 67–68.
<https://doi.org/10.32938/sc.v3i04.487>.
- Utari, D. M., Rimbawan, R., Riyadi, H., Muhilal, M., & Purwastyastuti, P. 2010. Pengaruh Pengolahan Kedelai Menjadi Tempe dan pemasakan Tempe Terhadap Kadar Isoflavon. *Pgm*, 33(2), 148–153.
- Wipradnyadewi, P. A. S., Rahayu, E. S., & Raharjo, S. 2011. Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus oligosporus* pada Beberapa Inokulum Tempe. *Jurnal Agrotekno*, 3(2), 1–9.