

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROB DARI TEMPE SORGUM COKLAT (*Sorghum bicolor*) SERTA POTENSINYA DALAM MENDEGRADASI PATI DAN PROTEIN

### *Isolation and Identification of Microorganism in Brown Sorghum Tempeh (*Sorghum bicolor*) and Its Potency for Degrading Starch and Protein.*

Pratidina Andayani, Agustin Krisna Wardani\*, Erni Sofia Murtini

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fakultas Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran Malang

\*Penulis korespondensi: email wardani8@yahoo.com

#### **ABSTRACT**

*Brown sorghum (*Sorghum bicolor*) is rarely used for food product due to lower digestibility level of starch and protein compared to other cereal. Fermentation is one of the method for increasing the cereal digestibility. The fermentation can be optimized when the condition are under controlled. To achieve such kind of condition, the contribution of a certain microorganism should be identified. Thus, the aim of this research was to isolate and to identify the microorganism during sorghum fermentation. Furthermore, the potency of isolates for degrading the starch and protein was also investigated.*

*The isolation and identification of microorganism in sorghum tempeh resulted 25 isolates of lactic acid bacteria from genus *Lactococcus* sp, *Enterococcus* sp or *Streptococcus* sp, 10 isolates of yeast from genus *Saccharomyces* sp, and 1 isolate of mold from genus *Rhizopus* sp. Three isolates showed the potency for degrading starch i.e. two isolates of lactic acid bacteria and one isolate of mold. The potency for degrading protein was shown by mold isolate. It was found that the amylolytic activity of two bacteria isolates were 0.401 U/ml and 0.343 U/ml, whereas mold isolate was 2.406 U/ml. Mold isolate showed proteolytic activity of 1.007 U/ml.*

*Keywords: sorghum, isolation, identification, microorganism, starch, protein*

#### **PENDAHULUAN**

Sorghum merupakan tanaman sereal utama dunia sejajar dengan padi, gandum terigu, dan jagung. Biji sorgum biasa dimanfaatkan sebagai bahan pangan, pakan ternak, dan bahan baku industri. Sebagai bahan pangan dunia, sorgum berada pada urutan ke-5 setelah gandum, padi, jagung dan barley (FAO, 1991).

Menurut Lorenz dan Kulp (2000), sorgum mempunyai kesamaan komposisi dengan jagung. Pati merupakan komponen utama diikuti dengan protein. Menurut Soeranto (2006), kandungan gizi dalam sorgum coklat cukup tinggi namun daya cerna protein dan pati sorgum

lebih rendah dibanding sereal yang lain. Rendahnya daya cerna ini menurut Woo *et al.* (2004) disebabkan oleh resistensi kafirin, protein utama sorgum, yang memiliki lebih banyak ikatan inter dan intra disulfida. Pati dalam sorgum dapat membentuk kompleks dengan protein selama proses pemasakan. Selain itu, sorgum mengandung senyawa tanin yang dapat berikatan dengan protein.

Upaya peningkatan daya cerna sereal yang banyak dilakukan adalah melalui fermentasi. Fermentasi sereal secara alami melibatkan campuran beberapa organisme seperti bakteri, kapang, dan jamur (Hamaker, 1987). Menurut Parveen dan Hafiz (2003), pembuatan produk dalam bentuk

terfermentasi memiliki beberapa keuntungan antara lain mudah dikerjakan, biaya murah, produk lebih mudah dicerna, dan dapat diterima sebagai produk pangan.

Tempe telah terbukti mampu meningkatkan daya cerna (Reedy, 1989). Proses pengolahan tempe menurut Garbutt (1997), meliputi perendaman, perebusan, dan penginkulasian ragi yang melibatkan berbagai macam mikrob yakni bakteri, khamir, dan jamur.

Menurut Sumanti (2007), bakteri yang berperan dalam fermentasi tempe adalah *Lactobacillus sp*, *Streptococcus sp*, *Pediococcus sp*, dan *Bacillus sp*. Di samping itu, mikrob yang berperan dalam fermentasi berbasis sorgum coklat (*Kunun zaki*) yang telah dibuktikan oleh Gaffa, (2004), adalah bakteri *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Corynebacterium*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus cerevisiae*, dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*.

Pada penelitian ini dicoba adopsi teknologi fermentasi tempe sebagai usaha meningkatkan daya cerna sorgum, namun karena bahan dasar yang berbeda belum diketahui kemampuan mikrob-mikrob tersebut untuk tumbuh pada sorgum yang mengandung tanin tinggi. Selain itu, penelitian ini ditujukan untuk mengidentifikasi mikrob yang dapat tumbuh pada fermentasi tempe sorgum dan memiliki kemampuan mendegradasi pati serta protein sorgum sehingga diharapkan didapat isolat murni yang dapat digunakan untuk fermentasi secara terkontrol.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan adalah sorgum coklat yang diperoleh dari daerah Grati, Kabupaten Pasuruan dan ragi tempe merek "RAPRIMA" yang diproduksi LIPI Bandung.

Media pertumbuhan dan bahan kimia yang digunakan adalah: MRSA (Merck), MRSB (Merck), PDA (Merck), PDB (Oxoid) dan pepton (Oxoid), *lacto fenol*

*cotton blue*, *methilen blue*, *tween 80*, *asam Tartrat*, *larutan iodin*, kristal violet, *methil red*, alkohol teknis 95%, safranin, amil alkohol, kristal asam oksalat, hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) teknis 30%, KOH, *phenol red*, NaCl, HCl, NaOH, pati, kasein, TCA, akuades, dan spiritus.

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, *autoclave* (YXQ602), dan *autoclave* (Hirayama HL 36 AE), *vortex* (VM-2000), *laminar*, timbangan (Mettler Toledo Denver M-310), kompor listrik (Maspion), *waterbath*, spektrofotometer (UV-2100), mikroskop (Olympus optical Co. Ltd), sentrifusa dingin (Hettich Zentrifugen Mikro 22R), pH-meter (Hana), inkubator (Binder), *shaker waterbath* (Julabo SW22), kuvet, dan peralatan gelas.

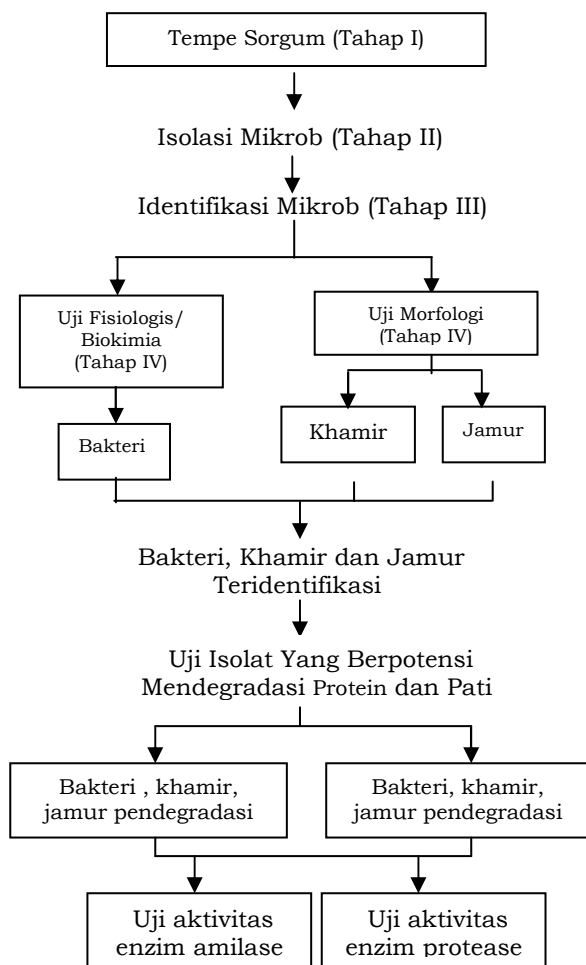
### Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dibagi dalam lima tahap. Tahap pertama adalah pembuatan tempe sorgum. Tahap kedua adalah isolasi bakteri, khamir dan jamur yang tumbuh pada tempe sorgum dengan metode Benson (2002). Isolasi dilakukan dengan teknik sebaran (*spread plate*), kemudian dilakukan pemurnian dengan metode cawan gores kuadran hingga diperoleh satu koloni tunggal yang terpisah. Isolasi dilakukan pada hari kedua fermentasi.

Tahap ketiga adalah identifikasi bakteri (Buchanan dan Gibson, 1974 dalam Purwadaria dkk, 2003), khamir, dan jamur (Miszkiwicz, 2007) dari hasil isolasi. Identifikasi mikrob yang tumbuh dalam tempe sorgum coklat meliputi uji morfologi yaitu pengamatan bentuk sel, bentuk koloni bakteri, pembedaan gram, dan motilitas bakteri (Benson, 2002). Uji biokimia meliputi uji katalase (Lay, 2004), tipe fermentasi menggunakan 6 jenis gula yang berbeda yaitu arabinosa, glukosa, fruktosa, laktosa, sorbitol dan sukrosa, ketahanan terhadap garam (konsentrasi 3%, 6% dan 9%), ketahanan terhadap pH (pH 3; 4,5; 6; dan 9), dan ketahanan terhadap suhu (10°C, 30°C, 45°C, dan 50°C), serta metabolisme karbohidrat. Tahap keempat adalah

pengujian bakteri, khamir dan jamur yang berpotensi dalam mendegradasi pati dan protein. Pengujian ini meliputi uji pemecahan komponen pati dan protein (Hadioetomo, 1990), ekstraksi enzim amilase kasar dari bakteri (Mimesota dalam Nurazizah, 1999) dan jamur (Ekunsaumi, 2007), enzim protease kasar dari jamur (Ekunsaumi, 2007), uji aktivitas enzim amilase (Ekunsaumi, 2007), dan protease ekstrak kasar jamur (Sumantha *et al.*, 2006).

Tahap kelima adalah uji kimia tempe sorgum meliputi kadar pati (AOAC dalam Sudarmadji, 1997) dan kadar N-amino (Meyer, 1960 dalam Sudarmadji, 1990). Hasil yang diperoleh dari berbagai pengujian dianalisis secara deskriptif dan dipilih isolat terbaik yang berpotensi dalam mendegradasi pati dan protein.



Gambar 1. Diagram alir isolasi dan identifikasi mikrob

## HASIL DAN PEMBAHASAN

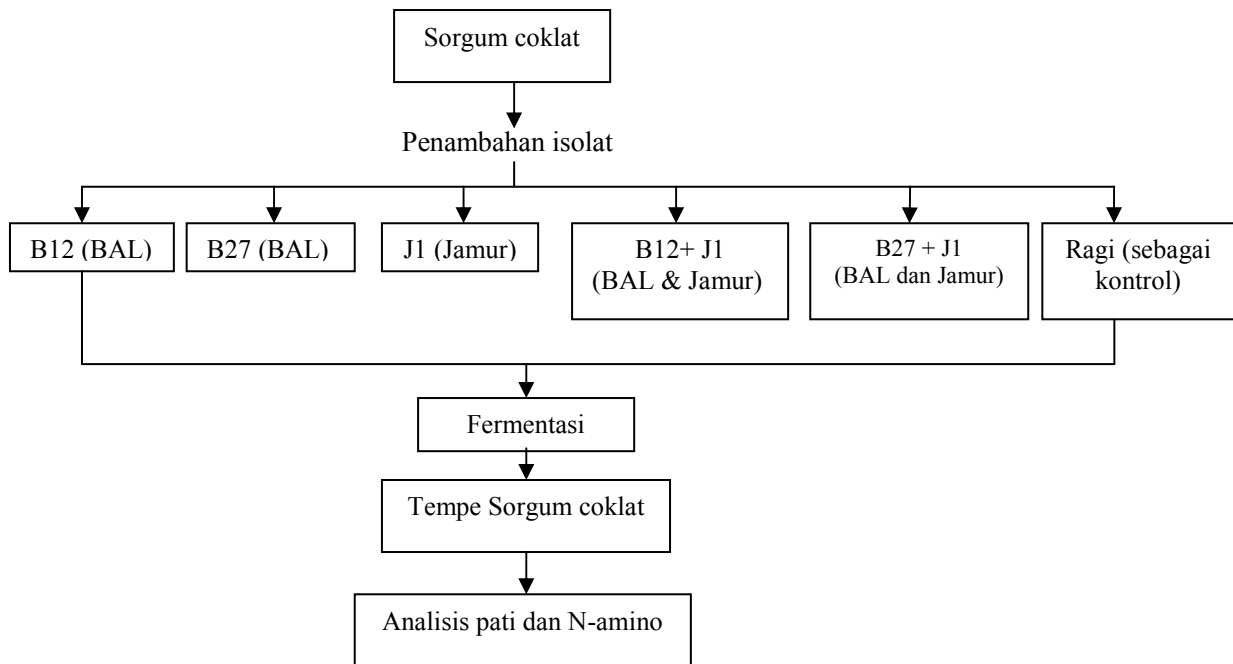
### Isolasi Mikrob dari Tempe Sorgum Coklat

Dari hasil isolasi awal yang berjumlah 300 isolat, kemudian diambil 36 isolat terdiri dari 25 isolat bakteri, 10 isolat khamir, dan 1 isolat jamur untuk diidentifikasi.

### Identifikasi Mikrob dari Fermentasi Tempe Sorgum Coklat

Dari hasil pengamatan morfologi koloni didapat 25 isolat bakteri menunjukkan bentuk koloni bulat, permukaan cembung, bentuk tepi rata, warna koloni putih susu dan krem, bentuk penggandengan sel berupa diploid, tetrad, dan rantai pendek. Pengamatan bentuk sel bakteri berdasarkan pengamatan mikroskopis pada perbesaran 1000x menunjukkan bahwa semua isolat bakteri memiliki sel berbentuk bulat (*coccus*). Pengujian gram menunjukkan bahwa semua isolat merupakan bakteri gram positif, motilitas negatif, artinya hasil isolasi bakteri dari tempe sorgum tidak memiliki alat gerak. Hal ini ditunjukkan dengan tidak menyebarnya pertumbuhan bakteri dalam medium dalam tabung reaksi. Hasil ini didukung oleh pendapat Ray (1996) yang menyatakan bahwa bakteri asam laktat tidak memiliki organ penggerak.

Pengujian biokimia, yaitu uji itu katalase, menunjukkan bahwa 25 isolat bakteri merupakan katalase negatif. Uji katalase dan uji gram merupakan uji tahap awal yang sangat penting dalam menentukan pengelompokan jenis bakteri. Bakteri asam laktat umumnya termasuk gram positif dan tidak mampu memproduksi hidrogen peroksida melalui transpor aktif melalui bantuan enzim (Anonymous, 2006). Dari hasil uji katalase dan uji gram maka pendugaan sementara untuk semua isolat bakteri adalah bakteri asam laktat. Uji ketahanan terhadap garam menunjukkan bahwa, semua isolat bakteri memiliki ketahanan terhadap konsentrasi garam 3% dan 6%, dan tidak tahan terhadap konsentrasi garam 9%.



Gambar 2. Diagram alir uji kimia tempe sorgum

Uji ketahanan terhadap pH menunjukkan hasil bahwa seluruh isolat bakteri tidak memiliki ketahanan terhadap pH 3 namun mampu bertahan pada pH 4,5, 6, dan 9. Bakteri tidak tahan terhadap pH rendah karena membran sel dapat mengalami kerusakan dan berakibat pada hilangnya komponen-komponen intraseluler seperti Mg, K dan lemak dari sel (Wong *et al.*, 1999). Uji ketahanan terhadap suhu menunjukkan bahwa 25 isolat bakteri tumbuh baik pada suhu 30° C, dan dapat tumbuh pada suhu 10° C dan 45° C tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu 50° C.

Uji fermentasi karbohidrat ditujukan untuk membedakan strain bakteri. Uji tersebut mengamati perubahan warna media dan terbentuknya gelembung gas didalam tabung durham, yang menandakan adanya produksi gas oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi. Media yang digunakan adalah MRSB yang ditambahkan indikator *Phenol Red* 1,6 % 1 ml. Medium akan berubah menjadi kuning ketika kondisi medium menjadi asam.

Berdasarkan hasil uji fermentasi karbohidrat, 25 isolat bakteri positif

terhadap pembentukan asam (warna media berubah dari merah menjadi kuning) dan tidak dapat membentuk gas. Dengan demikian semua isolat bakteri asam laktat tempe sorgum bersifat homofermentatif. Gilliland (1986) mengatakan, bahwa asam laktat yang dihasilkan sebagai hasil fermentasi mampu menurunkan pH media, sehingga warna media berwarna kuning. Hasil uji morfologi dan biokimia bakteri, selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari pengujian yang telah dilakukan dapat diduga isolat bakteri pada tempe sorgum adalah *Lactococcus*, *Enterococcus* atau *Streptococcus*. Pendugaan terhadap isolat didasarkan adanya kesamaan bentuk morfologi, sifat fisik dan biokimia.

Kunci taksonomi "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology-9*" menyatakan bahwa, bakteri yang mendekati genus *Lactococcus* ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni bundar atau bulat besar, sel berbentuk bola yang berukuran 0,5-1,2 x 0,5-1,5 µm,

Tabel 1. Uji fisik dan biokimia isolat bakteri tempe sorgum coklat

Isolat Bakteri **	Be-n tuk	Permu- kaan	Bentuk Tepi	Warna koloni	Pengan- dangan sel	Gram	Mo- tili- tas	Kata- lase	Tipe Fermentasi *	Uji Fermentasi Gula				Uji Ketahanan Garam (b/v)			Uji Ketahanan pH				Uji Ketahanan Suhu (°C)					
										Asam	Gas	G	Sk	F	S	L	A	3%	6%	9%	3	4,5	6	9	10	30
B 2	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 3	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 4	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 9	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 10	Coccus	Cembung	Rata	Krem	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 11	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 12	Coccus	Cembung	Rata	Krem	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 13	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 17	Coccus	Cembung	Rata	Krem	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 18	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 19	Coccus	Cembung	Rata	Krem	Dua	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 23	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 24	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 25	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 26	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 27	Coccus	Cembung	Rata	Krem	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 28	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 30	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 34	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 39	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 40	Coccus	Cembung	Rata	Krem	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 41	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 42	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Rantai pendek	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 45	Coccus	Cembung	Rata	Putih susu	Dua	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B 46	Coccus	Cembung	Rata	Krem	Dua/ empat	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-

Keterangan :

G = Glukosa ; Sk = Sukrosa ; F = Fruktosa ; S= Sorbitol ; L = Laktosa ; A= Arabinosa

(+) : Terdapat pertumbuhan bakteri dalam medium

(-) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri dalam medium

Motilitas (-) : Tidak terdapat alat gerak pada bakteri

Katalase (-) : Tidak terdapat gelembung gas pada bakteri saat penetasan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

\* Homofermentatif

\*\* Semua Isolat Bakteri Hasil Isolasi Tempe Sorgum Diduga Genus *Lactococcus/Enterococcus/Streptococcus*

berpasangan dan membentuk rantai pendek dalam media cair, endospora tidak terbentuk, gram positif, tidak motil.

Kemampuan untuk menghasilkan katalase dan oksidase adalah negatif, sedangkan uji metil red memberikan hasil positif. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri genus ini adalah 30-37°C, dapat tumbuh pada suhu 10°C dan tidak dapat tumbuh diatas suhu 45°C, tumbuh baik pada 1-3% NaCl, fakultatif anaerob, tanpa kapsul. Bakteri ini memanfaatkan senyawa kimia dengan menguraikannya secara fermentasi. Salah satunya memfermentasikan karbohidrat, dan produk yang dihasilkan sebagian besar adalah L (+) asam laktat tapi tidak dalam bentuk gas. Untuk pertumbuhannya, bakteri ini memerlukan syarat-syarat gizi yang lengkap. Biasanya banyak terdapat di pabrik pengolahan susu dan produk makanan dari tumbuh-tumbuhan.

Disamping itu, bakteri yang mendekati genus *Enterococcus* ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: sel berbentuk bola, atau seperti telur, berukuran 0,6-0,2 x 0,6-0,25µm, dalam media cair berbentuk sepasang atau rantai pendek. Non motil, bersifat fakultatif anaerob, gram positif, Salah satunya memfermentasikan karbohidrat dengan produk yang dihasilkan sebagian besar adalah L (+) asam laktat tapi tidak dalam bentuk gas. pH optimum pada 4,2-4,6. memerlukan nutrisi yang kompleks, katalase negatif, biasanya tumbuh pada suhu 10-45°C tetapi optimum pada suhu 37°C. Tumbuh pada pH 9,6 dan 6,5% NaCl, serta tahan pada 40% garam empedu. Banyak spesies biasanya ditemukan di saluran pencernaan, tanah, tumbuhan, dan makanan.

Sedangkan, bakteri yang mendekati genus *Streptococcus* mempunyai ciri-ciri sel berbentuk bola, atau bulat telur, pada media cair berbentuk rantai atau sepasang. Nonmotil, tidak mempunyai spora, gram positif. Beberapa spesies ada yang berkapsul, bersifat Fakultatif anerob, membutuhkan nutrisi komplek untuk tumbuh. Memproduksi asam laktat tetapi bukan gas. Katalase negatif. Tumbuh pada suhu 25-45°C (optimum 37°C) , pH optimum 6,8 dan bersifat

termofilik yang mampu tumbuh pada suhu 40-50 °C tidak tumbuh pada pH 9,6 dan pada suhu 10°C.

### Uji Morfologi Isolat Khamir dari Tempe Sorgum Coklat

Uji morfologi isolat khamir meliputi bentuk koloni, dan morfologi sel (pengamatan bentuk sel menggunakan mikroskop). Dari hasil pengamatan diketahui bahwa semua koloni isolat khamir berbentuk bulat dan berwarna putih susu, tepian berbentuk seperti tetesan, dan permukaan koloni licin. Bentuk sel khamir bervariasi yaitu seperti telur dan oval. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengamatan morfologi isolat khamir dari tempe sorgum coklat

Iso lat	Bentuk koloni	Tepi an	Warna koloni	Ben tuk sel	Repro- duksi
K1	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K2	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K3	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K4	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K5	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K6	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K7	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K8	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K9	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>
K1	Bulat	Licin	Putih susu	Oval	<i>Budding</i>

Dari hasil uji morfologi isolat khamir dapat diduga isolat khamir digolongkan ke dalam genus *Saccharomyces*. Pelczar (1958), menjelaskan bahwa *Saccharomyces*, adalah khamir yang memiliki jumlah askus 1-4 buah, bereproduksi dengan *budding*, berbentuk oval sampai bulat.

### Uji Morfologi Isolat Jamur dari Tempe Sorgum Coklat

Uji morfologi jamur meliputi pengamatan warna koloni, bentuk sporangia, bentuk spora, rizoid, warna dan letak sporangia, serta bentuk miselium jamur yang diamati dibawah mikroskop. Pengamatan hifa jamur yaitu dengan mengambil satu ose hifa jamur dan ditambahkan reagen *Lactofenol Cotton Blue*. Hasil pengamatan morfologi jamur tempe sorgum dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Morfologi koloni jamur hasil isolasi tempe sorgum coklat

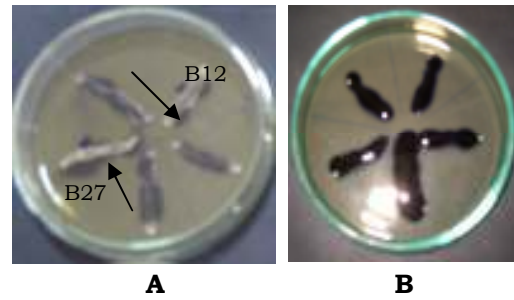
Spesifikasi	Keterangan
Warna koloni	Abu -abu
Bentuk Sporangia	kecoklatan
Warna sporangia	Bulat
Letak	Coklat sampai hitam
Sporangiospora	Diatas Rhizoid
Spora	Sel tunggal
Bentuk spora	Bulat sampai elips
Rizoid	Ada
Bentuk Misellium	Kapas

Hasil pengamatan morfologi menunjukkan warna koloni jamur abu-abu kecoklatan, bentuk sporangia bulat, warna sporangia abu-abu kecoklatan mempunyai spora tunggal, terdapat rhizoid dan bentuk misellium seperti kapas. Kemudian hasil pengujian tersebut dibandingkan dengan literatur dan disimpulkan bahwa jamur tempe sorgum diduga termasuk genus *Rhizopus sp* karena ciri-ciri yang dimiliki sesuai dengan *Rhizopus*. Frazier, (1989) menjelaskan bahwa *Rhizopus* memiliki ciri-ciri sebagai berikut :

1. Koloni nampak pucat berwarna abu-abu kecoklatan
2. Sporangiospora muda berwarna transparan (*subhyalia*) yang berangsur-angsur menjadi kecoklatan.
3. Sporangia yang telah masak berbentuk bulat berwarna coklat sampai hitam dengan diameter 100-180 mm dan didalam sporangia terbentuk spora-spora sebagai alat perkembangbiakan
4. Spora berupa sel tunggal, bentuk tidak beraturan antara bulat sampai elips (oval) dengan diameter 7-10 mm, berwarna kecoklatan dengan dinding halus.

#### Uji Kualitatif Pemecahan Pati

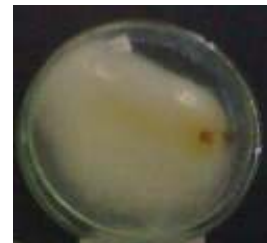
Hasil menunjukkan bahwa dari 25 isolat BAL pada tempe sorgum coklat, hanya terdapat 2 isolat yang memiliki aktivitas amilolitik, yaitu bakteri B12 dan B27. Hal ini telah dibuktikan melalui uji kualitatif dengan terbentuknya zona bening ketika ditambahkan indikator yodium (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil uji kualitatif pemecahan pati. oleh isolat BAL, B12; B27 (A) dan khamir (B)

\* Tanda panah menunjukkan positif mendegradasi pati

Pada isolat khamir tidak ditemukan zona bening, karena khamir hasil isolasi tempe sorgum tidak mampu memecah pati (kompleks karbohidrat). Khamir pada umumnya memanfaatkan substrat monosakarida dan disakarida yakni glukosa ataupun fruktosa. Sementara itu, isolat jamur memiliki kemampuan untuk memecah pati yang ditunjukkan dengan pertumbuhan kapang dalam medium (Gambar 4). Menurut Simone (2003), jamur jenis *Rhizopus* merupakan penghasil amilase yang baik.



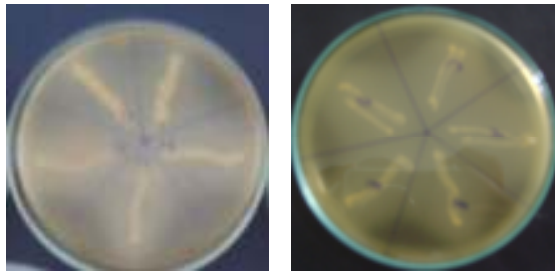
Gambar 4. Hasil uji kualitatif pemecahan pati oleh isolat jamur (J1)

#### Uji Kualitatif Komponen Protein

Hasil penelitian menunjukkan tidak terbentuknya zona bening oleh isolat tempe sorgum coklat baik oleh isolat bakteri maupun khamir (Gambar 5), hal ini membuktikan bahwa isolat tersebut diduga tidak mempunyai enzim protease yang mampu mendegradasi protein menjadi asam amino.

Penelitian Gelais *et al.* (1993), mengatakan bahwa bakteri asam laktat kelompok *Lactococcus lactis* spp *lactis* tergolong bakteri nonproteolitik yakni tidak dapat menghidrolisa kasein susu. Lebih lanjut penelitian Gonzales (2004), menunjukkan bahwa yeast

*Saccharomyces cerevisiae bayanus* dan *Saccharomyces cerevisiae* tidak menghasilkan zona bening pada media skim milk agar yang disuplementasi kasein susu



**A** **B**

Gambar 5. Hasil uji kualitatif pemecahan protein, oleh bakteri asam laktat (A), dan khamir (B)

\* Tidak ada zona bening pada isolat khamir dan bakteri

Hasil pengujian pemecahan protein oleh isolat jamur menunjukkan bahwa isolat jamur memiliki potensi memecah protein, terbukti dengan terbentuknya zona bening tipis disekitar koloni jamur (Gambar 6).



Gambar 4. Hasil uji kualitatif pemecahan protein oleh jamur (J1).

Terdapat zona bening tipis pada isolat jamur

#### Aktivitas Enzim Amilase

Pengukuran aktivitas enzim merupakan uji kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui sampai sejauh mana kemampuan amilolitik dari isolat. Hasil uji aktivitas enzim amilase dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai aktivitas enzim amilase bakteri

Sampel	Aktivitas (Unit/ml)
B12	0,401
B27	0,343
Kontrol ( <i>Bacillus subtilis</i> )	2,195
J1	2,406

Kemampuan isolat bakteri dari tempe sorgum dalam memecah pati dari tempe sorgum cenderung lebih rendah dari kontrol. Adanya perbedaan aktivitas ini dikarenakan enzim diekstrak dari jenis isolat bakteri yang berbeda. Selain itu, rendahnya aktivitas enzim diduga dipengaruhi oleh kemampuan isolat BAL menghasilkan enzim ekstraseluler, sehingga berpengaruh pada besarnya aktivitas enzim. Namun secara umum menurut Giraud *et al.*, (1994) BAL dapat menghasilkan enzim yang mampu memecah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Selanjutnya diketahui bahwa BAL memiliki aktivitas amilase rendah, sehingga secara alami tidak akan menyebabkan hidrolisis pati secara total.

Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa isolat jamur tempe sorgum mempunyai aktivitas 2,406 U/mL. Pada penelitian Simone (2003), menunjukkan bahwa *Rhizopus microsporus* mempunyai aktivitas 2,45 U/mg. Perbedaan aktivitas ini menandakan bahwa jamur memiliki kemampuan untuk memecah pati menjadi gula dengan tingkat kemampuan untuk memecah yang berbeda yang semuanya dikontrol oleh genom masing-masing mikrob.

#### Aktivitas Enzim Protease

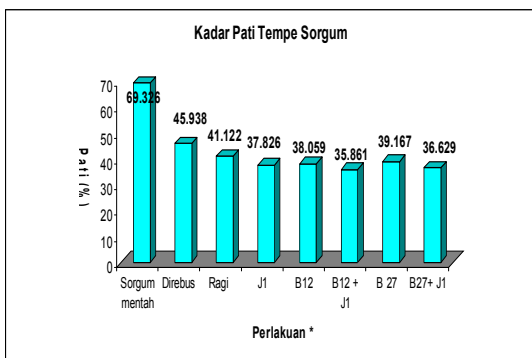
Pengukuran aktivitas enzim merupakan uji kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui sampai sejauh mana kemampuan proteolitik dari isolat. Hasil pengukuran aktivitas enzim protease kasar jamur tempe sorgum ini sebesar 1,007 U/mL, jumlah yang kecil untuk aktivitas protease. Pada penelitian Sumantha (2006), aktivitas protease menggunakan buffer phosphat pH 7, dan hasilnya menunjukkan *Rhizopus microsporus* memiliki aktivitas lebih tinggi daripada *Rhizopus oligosporus*.

#### Pengujian Pati Tempe Sorgum

Kandungan pati sorgum mentah adalah sebesar 69,326%. Setelah difermentasikan menjadi tempe dengan menggunakan beberapa macam inokulum maka terjadi penurunan jumlah pati dengan kisaran persentase akhir



35,861%-41,122%. Semakin rendah kadar pati menunjukkan semakin banyak pati yang didegradasi oleh mikroba selama fermentasi. Proses perebusan dapat menurunkan persentase kadar pati dari 69,326% menjadi 45,938% dikarenakan kadar air sorgum setelah mengalami proses perebusan lebih tinggi dari pada sorgum mentah, dan ini yang mempengaruhi proporsi kadar pati sorgum yang telah direbus mengalami penurunan. Hasil analisis pati selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Kadar pati tempe sorgum coklat dengan berbagai perlakuan

Keterangan :

- \* J1 : ditambahkan isolat jamur J1
- B12 : ditambahkan isolat bakteri B12
- B12+J1 : ditambahkan isolat bakteri B12 dan isolat jamur J1
- B27 : ditambahkan isolat bakteri B27
- B27+J1 : ditambahkan isolat bakteri B27 dan isolat jamur J1

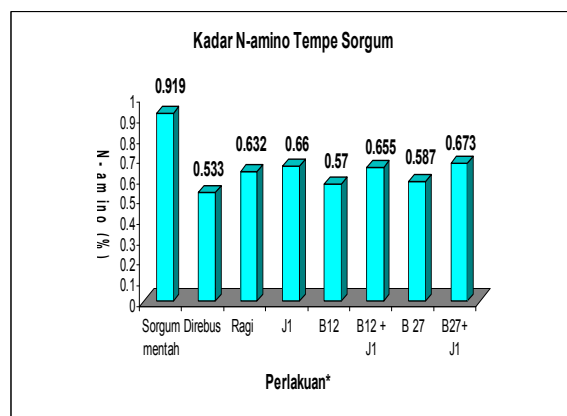
Beberapa macam inokulum yaitu ragi tempe, jamur dan bakteri ditambahkan untuk memfermentasi sorgum. Perebusan terhadap sorgum mentah juga dilakukan untuk membuktikan bahwa penurunan pati merupakan kontribusi dari aktivitas mikroba. Dari hasil analisis menunjukkan bahwa kadar pati tempe sorgum yang diinokulasi dengan isolat lebih rendah dibanding kadar pati sorgum yang diperlakukan dengan perebusan. Hal ini membuktikan bahwa komponen pati atau gula-gula sederhana telah dimetabolisme oleh mikroba. Diperkuat oleh pernyataan El Tinay (1979), bahwa selama proses fermentasi sereal akan terjadi penurunan kadar pati.

Isolat yang efektif untuk mendegradasi pati adalah campuran dari isolat B12 dan jamur J1, dengan kadar pati paling rendah. Hal ini diduga karena terjadi sinergisme antara bakteri dan jamur dalam mendegradasi pati.

Hasil analisis pati menunjukkan isolat hasil isolasi tempe sorgum dapat menghasilkan produk fermentasi yang lebih berkualitas (kadar pati rendah) dan diasumsikan memiliki daya cerna lebih tinggi dibanding tempe sorgum dengan penambahan ragi tempe. Muchtadi (1992), mengatakan daya cerna pati dapat ditunjukkan dengan jumlah gula-gula sederhana yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh tinggi.

### Pengujian N-Amino Tempe Sorgum

Kandungan N-amino pada sorgum mentah adalah 0,919%, setelah difermentasikan terjadi peningkatan jumlah N-amino dengan kisaran persentase akhir 0,570%-0,673%. Selain itu, proses perebusan dapat menurunkan persentase kadar N-amino menjadi 0,533%. Hal ini disebabkan proses perebusan dapat meningkatkan kadar air, sehingga akan mempengaruhi proporsi N-amino sorgum yang telah direbus mengalami penurunan. Hasil analisis pati selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kadar N-amino tempe sorgum coklat dengan berbagai perlakuan

Keterangan :

- \* J1 : ditambahkan isolat jamur J1
- B12 : ditambahkan isolat bakteri B12
- B12+J1 : ditambahkan isolat bakteri B12 dan isolat jamur J1
- B27 : ditambahkan isolat bakteri B27
- B27+J1 : ditambahkan isolat bakteri B27 dan isolat jamur J1

## KESIMPULAN

Persentase kadar N-amino tempe sorgum yang diinokulasikan dengan ragi tempe menunjukkan angka yang lebih rendah dari pada tempe sorgum yang diinokulasi isolat bakteri asam laktat B12 dan B27 serta jamur J1. Hal ini menunjukkan jamur dan bakteri asam laktat mampu menghidrolisis protein yang ada pada tempe sorgum. Pernyataan tersebut didukung oleh Frazier (1989), bahwa jamur genus *Rhizopus* mempunyai kemampuan menghidrolisis protein menjadi asam-asam amino

Persentase N-amino paling tinggi adalah tempe sorgum yang diinokulasi dengan campuran isolat B27 dan jamur J1, hal ini diduga terjadi sinergisme dari kedua mikrob tersebut dalam menghidrolisis protein menjadi asam-asam amino. Semakin tinggi kadar N-amino menunjukkan semakin banyak protein yang dihidrolisis oleh mikrob selama fermentasi menjadi asam-asam amino. Kim (2003) dalam Maulidinah (2006) menyatakan bahwa selama proses hidrolisis protein akan dihasilkan senyawa yang sebagian besar terdiri dari komponen nitrogen terlarut yang didalamnya termasuk asam amino, peptida, dan hasil dekomposisi lainnya.

Hasil analisis N-amino menunjukkan isolat hasil isolasi tempe sorgum dapat menghasilkan produk fermentasi yang lebih berkualitas, dan diasumsikan mempunyai daya cerna protein yang lebih tinggi dari pada tempe sorgum dengan penambahan ragi. Muchtadi (1992), menyatakan bahwa suatu protein dapat dicerna ditunjukkan oleh tingginya jumlah asam-asam amino yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh tinggi, sebaliknya suatu protein sukar dicerna dapat ditunjukkan oleh rendahnya jumlah asam-asam amino yang dapat diserap tubuh karena sebagian besar dibuang oleh tubuh bersama feses.

Mikroorganisme yang dapat tumbuh pada tempe sorgum coklat adalah bakteri asam laktat, khamir dan jamur. Hasil isolasi bakteri asam laktat diperoleh 25 isolat bakteri asam laktat yang diduga genus *Lactococcus sp*, *Enterococcus sp* atau *Streptococcus sp*, 10 isolat khamir diduga jenis khamir genus *Saccharomyces sp*, dan 1 isolat jamur diduga genus *Rhizopus sp*. Selain itu, potensi amilolitik isolat tempe sorgum coklat terdapat pada isolat bakteri B12, dan B27, serta isolat jamur J1. Aktivitas amilolitik isolat B12 sebesar 0,401 U/mL, isolat B27 sebesar 0,343 U/mL, dan isolat jamur J1 sebesar 2,406 U/mL. Potensi proteolitik isolat tempe sorgum, didapat dari isolat jamur J1 dengan aktivitas protease sebesar 1,007 U/mL. Hasil pengujian kimia tempe sorgum menunjukkan bahwa tempe sorgum hasil fermentasi isolat campuran (B12+J1) dan (B27+J1) memiliki kualitas lebih baik dibanding tempe sorgum dengan perlakuan lain. Tempe sorgum yang dihasilkan memiliki kadar pati paling rendah yaitu 35,861% dan kadar N-amino paling tinggi yaitu 0,673%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous 2006. Catalase Activity. <http://www.umn.edu/Microbiology/lab/supplement/catalase.html>
- Benson, H. 2002. Microbiology Application Laboratory Manual II General Microbiology. 8th ed. Mc Graw Hill, Boston
- Ekunsaumi, T. 2007. Laboratory Production and Assay of Amylase by Fungi and Bacteria. UW Washington County
- Frazier, C. W. and Westhoff. 1989. Food Microbiology. Mc. Graw Hill Company, New York
- Gaffa, T., dan A.T. Gaffa. 2004. Microbial Succession During "Kunun zaki" production with sorgum (*Sorghum bicolor*) grains. World Journal of Microbiology and Biotechnology 20: 449-453
- Garbutt, J 1997. Essentials of Food Microbiology. Arnold, London
- Gelais, D.S.T, D. Roy, S. Hachc, and M/L/ Desjardins. 1993. Growth of nonproteolytic *Lactococcus lactis* In

- culture medium supplemented with different casein hydrolyzates. *Journal Dairy Sci* 76: 3327-3337
- Gilliland, S.E. 1986. *Bacterial Starter Cultures for Food*. CRC Press Inc., Florida
- Giraud, G.R. and C.M. Williams. 2000. *Functional Foods: Concept to Product*. CRC Press, New York
- González, J.A., C.S. Gallardo, A. Pombar, P. Rego, and L.A. Rodriguez. 2004. Determination of enzymatic activities in ecotypic *saccharomyces* and non *saccharomyces* yeasts. *Electronic Journal Environment Agricultural Food Chemistry* 3(5): 743-750
- Hadioetomo, R. S. 1990. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. PT Gramedia, Jakarta
- Hamaker, B.R., A.W. Kirleis, L.G. Butler, J.D. Axtell and E.T. Mertz. 1987. Improving *in vitro* digestibility of sorghum with reducing agents. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84:626-628
- Kim, S. 2003. Characteristic of salt fermented sauces from shrimp processing by product. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 51:785-792
- Lay, B.W. *Analisis Mikrobiologi di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta
- Lorenz, K. J. and K. Kulp. 2000. *Hand Book of Cereal Science and Technology*. Marcel Dekker, Inc. New York
- Muchtadi, D., N. S. Palupi dalam Astawan. 1992. *Enzim Dalam Industri Pangan*. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Dan Gizi, IPB. Bogor
- Nurazizah. 1996. *Penaruh Varietas dan Lama Perendaman Uji Aktivitas Enzim Amilolitik pada Biji Sorgum*. Skripsi. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang
- Parveen, S and F. Hafiz. 2003. Fermented cereal from indigenous raw materials. *Pakistan Journal of Nutrition* 2(5): 289-291
- Pelczar, J. R. M. and R. D. Reid. 1958. *Microbiology*. Mc Graw- Hill Book Company, New York
- Ray, B. 1992. Cells of Lactic Acid Bacteria as Food Biopreservatives dalam B. Ray. dan Daeschel, M. (eds). *Food Biopreservatives of Microbial Origin*. CRC Press Inc., New York
- Reedy, N.R. 1989. Tempeh in *CRC Handbook of World Food Legumes. Nutritional Chemistry Processing Technology and Utilization* 2:201-210
- Simone C. P. J. A., H. F. Terenzi, M. de Lourdes, and Y. M. Polizeli. 2003. *Rhizopus microsporus* var. *Rhizopodiformis*: A thermotolerant fungus with potential for production of thermostable amylase. *Jurnal Research*
- Soeranto, 2006. *Pemuliaan Tanaman Sorgum di PETIR-BATAN*. <http://www.batan.go.id/patir/berita/pertanian/sorgum/sorgum.htm>. Tanggal akses : 12 Oktober 2007.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Liberty, Yogyakarta
- Sumantha, A., P. Deepa, C. Sandhya, Szakacs, C. Soccol, Ricardo, and A. Pandey. 2006. Rice bran as substrat for proteolitik enzyme production. *Brazilian Archives of Biology and Technology. An International Journal Brazil* 49(5): 843-851
- Sumanti, D. 2007. *Cara Pembuatan Tempe*. [Http://endick.wordpress.com/](http://endick.wordpress.com/) fermentasi. Tanggal Akses : 17 Januari 2007
- Woo, H. D., S. J. Choi, H. J., H. R. B. Hamaker and T. W. Moon. 2004. *In Vitro Protein and Starch Digestibility of Sorghum in the Presence of Sodium Bisulfite*. IFT Annual Meeting, July 12-16 Las Vegas, NV