

PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIBAKTERIAL PADA TEMPE
TERHADAP BAKTERI PENYEBAB DIARE

Oleh: Erwin Affandi dan Mien K. Mahmud

ABSTRAK

Tempe adalah bahan makanan yang sudah populer di Indonesia. Selain sumber zat gizi yang bernilai tinggi, tempe juga diduga mempunyai khasiat lain.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari daya hambat zat antibakterial dalam tempe terhadap beberapa jenis bakteri termasuk bakteri penyebab diare.

Pada prinsipnya dalam penelitian ini dipelajari pengaruh penambahan ekstrak tempe terhadap pertumbuhan bakteri. Jenis bakteri penguji diambil dua jenis gram-positif dan empat jenis gram-negatif. Tempe sebagai sumber zat antibakterial, berupa tempe yang dibuat dengan menggunakan *Rhizopus oligosporus* dalam bentuk biakan murni, usar dan laru; dua jenis yang terakhir ini dibeli dari pedagang tempe. Pengukuran pertumbuhan bakteri dilakukan dengan menggunakan *Spectronic-20*, *Bausch* dan *Lomb*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam tempe yang dibuat dengan biakan murni terdapat zat antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Shigella flexneri*. Dalam tempe yang dibuat dengan laru, daya hambat hanya terlihat pada bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Dalam tempe yang dibuat dengan usar daya hambat terlihat pada bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Sedangkan dalam tempe campuran (kedelai dan gaplek) yang dibuat dengan usar sama sekali tidak menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri-bakteri penguji.

Dihasilkannya zat antibakterial tersebut pada proses fermentasi, sangat dipengaruhi oleh kemurnian jenis kapang dan media tempat pertumbuhan kapang.

PENDAHULUAN

Tempe adalah hasil fermentasi kedelai yang sudah cukup populer di Indonesia sebagai bahan makanan yang bernilai gizi tinggi. Tempe mempunyai nilai *Protein Efficiency Ratio* (PER) 2,43 dan *Net Protein Utilization* (NPU) 56% (1). Para ahli berpendapat bahwa proses fermentasi akan mengubah protein menjadi asam amino yang mudah diserap oleh tubuh.

Tempe selain sebagai sumber zat gizi, diduga mempunyai khasiat lain. Van Veen dan Schaefer (2), telah mengamati penderita-penderita disentri di penjara tawanan perang dunia II di Pulau Jawa. Penderita-penderita tersebut setiap hari diberi ransum tempe. Berdasarkan pengamatannya, mereka mengatakan bahwa ada pengaruh dari tempe yang bersifat menyembuhkan penderita-penderita disentri tersebut.

Wang, Ruttle dan Hesseltine (3), mengekstraksikan tempe, kemudian ekstrak tempe ini secara *in vitro* diuji terhadap bermacam-macam bakteri gram-positif, gram-negatif, kapang dan khamir. Mereka mengatakan bahwa *Rhizopus oligosporus* (33930) yang ditumbuhkan pada substrat kedelai menghasilkan zat antibakterial yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram-positif. Dan mereka berpendapat bahwa meskipun zat tersebut bukan suatu antibiotika seperti yang terdapat dalam obat namun zat tersebut dapat menghambat infeksi dan dapat menstimulasikan pertumbuhan hewan.

Fermentasi kedelai menjadi tempe yang dilakukan oleh pengusaha-pengusaha tempe, tidak menggunakan biakan murni *Rhizopus oligosporus* Tetapi menggunakan laru atau usar. Pada umumnya dalam laru atau usar terdapat beberapa jenis mikroorganisme.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari daya hambat zat antibakterial dalam tempe yang dibuat dengan biakan murni kapang *Rhizopus oligosporus*, laru, dan usar terhadap pertumbuhan beberapa jenis bakteri penyebab diare. Dipelajari pula pengaruh pemasakan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri tersebut.

BAHAN DAN CARA

Pada prinsipnya dalam penelitian ini dipelajari pengaruh penambahan ekstrak tempe terhadap pertumbuhan bakteri penyebab diare. Sebagai pembanding dipelajari pula pengaruh penambahan ekstrak tempe terhadap beberapa bakteri gram-positif yang telah dipelajari oleh Wang, Ruttle dan Hesselstine (3).

Jenis bakteri penyebab diare yang digunakan pada penelitian ini ialah *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Shigella flexneri*. Pemilihan jenis bakteri tersebut didasarkan pada hasil penelitian mengenai aspek mikrobiologis di bangsal Gastroenterologi Anak FKUI - RSCM; ditemukan jenis-jenis bakteri tersebut merupakan penyebab diare pada bayi dan anak.

Jenis bakteri yang digunakan sebagai pembanding adalah *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*. Ketiga jenis bakteri tersebut diperoleh dari bagian Mikrobiologi FKUI Jakarta. Sedangkan tempe yang dipelajari sebagai substrat yang menghasilkan zat antibakterial yaitu tempe kedelai yang dibuat di laboratorium Puslitbang Gizi dengan menggunakan biakan murni *Rhizopus oligosporus*. Pada percobaan digunakan tempe mentah, tempe rebus dan tempe goreng. Selain tempe tersebut, diteliti pula tempe yang dibuat dengan menggunakan laru, dan tempe yang menggunakan usar sebagai inokulum.

Pembuatan Suspensi Kapang

Kapang *Rhizopus oligosporus* dipelihara dalam biakan agar miring *Potato Dextrose Agar* (PDA), disimpan pada suhu 4°C. Biakan kapang tersebut dipindahkan ke agar miring *Tauge Ekstrak Agar* (TEA) dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 7 hari. Kemudian ie dalam setiap tabung ditambahkan 5 ml aquadest steril dan dikocok dengan ose sampai semua suspensi spora tercampur rata. Setiap ml suspensi ini digunakan untuk inokulasi 100 gram kedelai yang telah direbus.

Pembuatan Ekstrak Tempe

Ditimbang 60 gram tempe, kemudian dihaluskan, dan ditambahkan 100 ml aquadest, diaduk rata sampai membentuk bubur tempe yang sempurna. Bubur tempe diputar dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit, dipisahkan antara larutan atas dan endapannya. Larutan atas diputar kembali dengan kecepatan 20.000 rpm selama 15 menit. Larutan atas diambil dan disterilkan dengan menggunakan *Millipore filter* (0,45 μ m). Larutan yang diperoleh adalah suspensi zat antibakterial yang akan diuji.

Cara Pengujian

Media pengujian yang digunakan ialah *Nutrient Broth*. Ke dalam setiap tabung uji diisi 6 ml media pengujian dan ditambahkan suspensi zat antibakterial dengan seri pengenceran sebagai berikut : 0.0 ml, 1.0 ml, 1.5 ml dan 2.0 ml. Kemudian ke dalam masing-masing tabung uji dimasukkan 0.1 ml larutan bakteri pengujian.

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *Speotronic-20 Bausch dan Lomb* dan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 550 nm. Pengukuran dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi (0 jam dan 20 jam) Media pengujian yang tidak diinokulasikan digunakan sebagai blanko dengan absorbansi 0 (100% *transmittance*). Kemudian semua tabung teruji diukur. Ulangan pengujian pada percobaan ini dilakukan sebanyak 3 kali. Perbedaan absorbansi tabung kontrol dan tabung teruji dinyatakan sebagai besarnya hambatan yang terjadi akibat aktivitas zat antibakterial terhadap pertumbuhan bakteri pengujian. Persentase aktivitas zat antibakterial =

$$\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi teruji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak tempe mentah dari tempe yang dibuat dengan menggunakan biakan murni kapang

Rhizopus oligosporus menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Shigella flexneri*. Besarnya hambatan dalam persen dapat dinyatakan sebagai persen aktivitas zat antibakterial yang terdapat dalam tempe sebagai hasil fermentasi kedelai oleh *Rhizopus oligosporus*, sesuai Wang dkk. (1969).

Hasil perhitungan disajikan dalam Tabel 1, sedangkan Tabel 2 menunjukkan hasil pengujian kualitatif aktivitas antibakterial pada tempe yang dibuat dengan biakan murni *Rhizopus oligosporus*.

Tabel 1. Persentase Daya Hambat Zat Antibakterial dari Tempe Murni Mentah

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.0
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	40.8	48.2	48.8	31.2
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	0	0	0	0
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	21.8	29.5	20.4	29.1
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	0	0	0	0
5.	<i>Salmonella typhi</i>	-	12.2	6.9	9.7	10.9
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	8.4	10.5	7.1	16.5

Tabel 2. Daya Hambat Pertumbuhan Secara Kualitatif dari Zat Antibakterial dari Tempe Murni Mentah

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.0
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+++	+++	+++	+++
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+++	+++	+++	+++
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	-	-	-	-
5.	<i>Salmonella typhi</i>	-	+++	+++	+++	+++
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	++	++	++	++

Keterangan:

- +++ = Setiap kali pengujian menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan.
- ++ = Kurang dari 3 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
- + = 3-6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
- ± = Lebih dari 6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
- = Setiap pengujian tidak menunjukkan hambatan pertumbuhan.

Berdasarkan hasil yang disajikan dalam kedua tabel di atas, jelas bahwa hasil yang diperoleh menunjukkan beberapa perbedaan dengan hasil yang telah diperoleh Wang dkk. (1969). Hasil Wang dkk. menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan pada *Bacillus subtilis* B. 765 dan *Klebsiella pneumoniae* B. 117, mencapai 100% dengan penambahan hanya 1.8 ml ekstrak tempe, dan *Staphylococcus aureus* dinyatakan sama sensitipnya dengan *Bacillus subtilis*, sedangkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan angka yang lebih rendah, di mana daya hambat terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* masih di bawah 50%, sedangkan terhadap *Klebsiella pneumoniae* tidak ada daya hambat. Keadaan tersebut mungkin disebabkan karena strain yang digunakan berbeda dengan yang digunakan oleh Wang, dkk.

Perbedaan tersebut dapat pula disebabkan oleh penurunan aktivitas antibakterial, yang pada penelitian ini ekstraksi dilakukan pada suhu ruang. Menurut Wang dkk. aktivitas antibakterial pada ekstrak tempe akan mudah rusak pada suhu ruang.

Dalam penelitian ini ditemukan adanya aktivitas antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* dan *Shigella* sebagai jenis bakteri penyebab diare pada bayi dan anak. Meskipun besarnya aktivitas antibakterial secara kuantitatif relatif kecil namun secara kualitatif dapat dikatakan tinggi. Hal ini memberikan petunjuk adanya kemungkinan tempe dapat digunakan sebagai bahan pembuatan formula makanan anak, untuk diberikan kepada anak penderita diare.

Aktivitas antibakterial cenderung akan menurun apabila tempe dipanaskan. Aktivitas antibakterial pada tempe yang direbus disajikan dalam Tabel 3 dan Tabel 4.

Tempe yang digoreng tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakterial yang aktif terhadap pertumbuhan ke enam jenis bakteri pengujian yang digunakan pada penelitian ini. Hal ini diduga akibat adanya perubahan ikatan zat antibakterial tersebut oleh suhu tinggi, dan ini akan menghilangkan kemampuan zat antibakterial tersebut.

Tabel 3. Persentase Daya Hambat Zat Antibakterial dalam Tempe Murni Rebus

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.5
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	0	0	6.6	9.8
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	0	0	0	0
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	0	2.5	7.2	8.5
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	0	0	0	0
5.	<i>Salmonella typhii</i>	-	0	0	0	0
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	6.7	0	0	0

Tabel 4. Daya Hambat Pertumbuhan Secara Kualitatif dari Zat Antibakterial dalam Tempe Murni Rebus

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.5
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	-	+++	+++
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	+++	++	+++
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	-	-	-	-
5.	<i>Salmonella typhii</i>	-	-	-	-	-
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	+	-	-	+

Keterangan:

- +++ = Setiap kali pengujian menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan.
 ++ = Kurang dari 3 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
 + = 3-6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
 + = Lebih dari 6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
 - = Setiap pengujian tidak menunjukkan hambatan pertumbuhan.

Hasil pengujian aktivitas antibakterial dalam tempe yang dibuat dengan laru secara kuantitatif dan kualitatif disajikan dalam Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5. Persentase Daya Hambat Zat Antibakterial dalam Tempe Laru Mentah

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.0
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	11.8	18.3	24.1	32.4
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	0	0	0	0
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	14.0	32.5	14.8	26.4
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	0	0	0	0
5.	<i>Salmonella typhii</i>	-	0	0	0	0
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	0	0	0	0

Tabel 6. Daya Hambat Pertumbuhan Secara Kualitatif dari Zat Antibakterial dalam Tempe Laru Mentah

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.0
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	++	++	++
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	++	++	+++	+++
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	-	-	-	-
5.	<i>Salmonella typhii</i>	-	-	-	-	-
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-

Keterangan:

- +++ = Setiap kali pengujian menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan.
- ++ = Kurang dari 3 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
- + = 3-6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
- ± = Lebih dari 6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
- = Setiap pengujian tidak menunjukkan hambatan pertumbuhan.

Dari Tabel 5 dan Tabel 6 di atas dapat dilihat bahwa zat antibakterial yang terdapat dalam tempe yang dibuat dengan laru, hanya aktif terhadap dua jenis bakteri gram-positif yaitu *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa kedua jenis bakteri gram-positif tersebut merupakan dua jenis bakteri yang sensitif terhadap suspensi zat antibakterial dari tempe, dan hal ini sesuai dengan pendapat Wang dkk. Kedua bakteri tersebut selalu memperlihatkan adanya hambatan pertumbuhan bila ke dalam perbenihannya ditambahkan ekstrak tempe, meskipun besarnya hambatan tadi bervariasi.

Berbeda dengan tempe yang dibuat dari biakan murni, tempe yang dibuat dengan laru tidak menunjukkan adanya zat antibakterial yang aktif terhadap bakteri gram-positif.

Hal tersebut di atas mungkin disebabkan karena mikroorganisme yang terkandung di dalam laru bukan hanya *Rhizopus oligosporus* yang menghasilkan zat antibakterial, namun tercampur dengan mikroorganisme lain, sehingga kemampuan kapang tersebut untuk menghasilkan zat antibakterial akan menurun.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam tempe yang dibuat dengan usar terdapat aktivitas antibakterial yang menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Hasil pengujian aktivitas antibakterial dalam tempe yang dibuat dengan usar secara kualitatif dan kuantitatif disajikan dalam Tabel 7 dan Tabel 8.

Dalam tempe campuran (kedelai dan gaplek) yang dibuat dengan usar, tidak terlihat adanya aktivitas antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri baik gram-positif maupun gram-negatif.

Ketiga hasil percobaan yang terakhir ini memberikan petunjuk bahwa kemungkinan besar jenis kapang dan media pertumbuhan sangat menentukan terbentuknya zat antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 7. Persentase Daya Hambat Zat Antibakterial dalam Tempe Usar Mentah

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.0
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	34.7	42.8	44.9	44.9
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	0	0	0	0
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	17.4	19.1	22.1	22.1
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	0	0	0	0
5.	<i>Salmonella typhii</i>	-	0	0	11.1	16.7
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	0	0	0	0

Tabel 8. Daya Hambat Pertumbuhan Secara Kualitatif dari Zat Antibakterial dalam Tempe Usar Mentah

No.	Bakteri penguji	Reaksi gram	ml ekstrak tempe/6 ml media			
			0.5	1.0	1.5	2.0
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+++	+++	+++	+++
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+++	+++	+++	+++
4.	<i>Escherchia coli</i>	-	-	-	-	-
5.	<i>Salmonella typhii</i>	-	-	-	++	++
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-

Keterangan:

- +++ = Setiap kali pengujian menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan.
 ++ = Kurang dari 3 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
 + = 3-6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
 - = Lebih dari 6 pengujian menunjukkan tidak terdapat hambatan pertumbuhan.
 - = Setiap pengujian tidak menunjukkan hambatan pertumbuhan.

Tempe hasil fermentasi menggunakan biakan murni kapang *Rhizopus oligosporus* mengandung zat antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri gram-positif dan gram-negatif, di antaranya bakteri penyebab diare.

Hal tersebut memberi peluang untuk memanfaatkan tempe sebagai bahan pembuatan formula makanan untuk penderita diare. Formula tersebut meskipun bukan untuk pengobatan, namun diharapkan dapat diberikan kepada penderita diare tanpa memperparah keadaan diarenya. Manfaatnya, penderita diare terutama anak-anak, akan tetap dapat mengkonsumsi sejumlah zat gizi, sehingga keadaan gizi kurang sebagai akibat diare dapat dihindarkan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Wang, H.L.; Ruttle, D.I. and Hesseltine, C.W. Antibacterial Compound from a Soybean Product Fermented by *Rhizopus oligosporus* (33930). Pro. Soc. Exp. Biol., Med. 131, 1969.
2. Shurtleff, W. and Aoyagi, A. The Book of Tempeh. Harver & Row, New York, 1979 : 29-35.
3. Van Veen, A.G. and Schaefer, G. The influence of the tempeh fungus on the soya bean. Documenta Neerlandica et Indonesica de Morbix Tropicis 2 : 270-281, 1950.