

MIKROFLORA PADA TEMPOYAK

The Microflora of Tempoyak

Hasanuddin

Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu,
Jl. Raya Kandang Limun, Bengkulu 38371. Tel. 0736-21170
Email: hasanudin_2@unib.ac.id

ABSTRAK

*Tempoyak adalah makanan khas Bengkulu, yang dibuat dari fermentasi spontan daging buah durian (Durio zibethinus) oleh mikroorganisme liar. Tempoyak juga bisa dijumpai di berbagai daerah Indonesia di sepanjang pulau Sumatera dengan nama yang berbeda, bahkan sampai ke Malaysia. Istilah tempoyak berasal dari terminologi Melayu yang artinya adalah durian fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang terdapat pada tempoyak. Data dari penelitian ini adalah data primer dari analisa laboratorium. Sampel tempoyak diambil dari pasar-pasar tradisional yang ada di Bengkulu. Sampel diambil selama satu bulan dengan kisaran waktu satu kali seminggu. Mikroorganisme diisolasi dari sampel, dibedakan atas bakteri, khamir dan jamur. Mikroorganisme dimurnikan dan diidentifikasi. Ada empat species bakteri asam laktat pada tempoyak yaitu *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus* dan *Leuconostoc mesentroides*. Ada dua species bakteri, terdapat pada tempoyak yang tidak tergolong kedalam bakteri asam laktat, yaitu *Staphylococcus saprophyticus* dan *Micrococcus varians*. Ada satu species dari khamir yang teridentifikasi yaitu *Kluyveromyces marxianus*. Jamur yang teridentifikasi adalah *Rhizopus oryzae*, *Monilia sitophila*, *Mucor roxii*, *Aspergillus repens* dan *Penicillium sp.* Diantara species-species tersebut tiga species mampu memproduksi asam laktat yaitu *Rhizopus oryzae*, *Monilia sitophila*, dan *Mucor roxii*. Sedangkan *A. ripens* dan *Penicillium sp.* tidak memproduksi asam laktat. Dua species ini tergolong species yang tidak menguntungkan dalam proses fermentasi tempoyak.*

Kata kunci: Mikroflora, tempoyak, durian, Bengkulu

ABSTRACT

*Tempoyak is a traditional Bengkulu fermented food prepared from spontaneous fermentation of durian (Durio zibethinus) by wild microorganisms. Tempoyak is found not only in Bengkulu but also as long as Sumatera island with different names, and also in Malaysia. Tempoyak is a Melayu term meaning fermented durian. The research was conducted to identify microflora in tempoyak, and to select the species of microorganisms which were able to ferment durian effectively. The data in this study were laboratory analysis. Samples were collected weekly in a month from productions centre of tempoyak and traditional markets, and analyzed microbiologically to determine and identify the bacteria, yeasts and molds in tempoyak. There were four specieses of lactic acid bacteria found in fermented durian namely *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* *Lactobacillus curvatus* and *Leuconostoc mesentroides*. While two specieses which were not lactic acid bacteria namely *Staphylococcus saprophyticus* and *Micrococcus varians*. One species of yeast was *Kluyveromyces marxianus*. The molds were identified as *Rhizopus oryzae*, *Monilia sitophila*, *Mucor roxii*, *Aspergillus repens* and *Penicillium sp.* Among these specieses three specieses were produced lactic acid namely *Rhizopus oryzae*, *Monilia sitophila*, and *Mucor roxii*. While *Aspergillus ripens* and *Penicillium sp* did not produce lactic acid so these specieses might not function in fermentation process.*

Keywords: Microflora, tempoyak, durian, Bengkulu

PENDAHULUAN

Tempoyak adalah salah satu jenis makanan tradisional Bengkulu dengan bahan dasar daging buah durian. Proses pembuatannya adalah secara fermentasi spontan oleh mikroorganisme liar yang terdapat di alam bebas. Proses pembuatannya yang sangat sederhana, pemeraman daging buah durian pada kondisi anaerob, kontaminasi dengan mikroorganisme liar menyebabkan terjadinya proses fermentasi yang akan merombak biomolekul daging buah durian menjadi biomolekul asam respektifnya. Menurut Dyson dan McShane (2009), keuntungan yang tinggi dari proses fermentasi adalah *low-cost, low-energy process*, efisiensi dalam preservasi dan produksi makanan. Tempoyak, durian fermentasi, sejalan dengan penyebaran buah durian yang terdapat di Asia Tenggara, kemungkinan tempoyak juga terdapat di berbagai negara ASEAN. Sedangkan menurut Leisner dkk., (2001), tempoyak merupakan makanan tradisional musiman Malaysia, yang dibuat dari pulp durian dengan atau tanpa penambahan garam. Lebih lanjut Mat Amin dkk., (2004), tempoyak biasanya di Malaysia dibuat dari daging buah durian kualitas jelek, kelewat masak atau dari buah sisa dengan penambahan garam 1,3 % dan dibiarkan terfermentasi selama 3-7 hari pada temperature kamar.

Pengolahan durian biasanya menggunakan cara tradisional dan sering disebut sebagai makanan tradisional. Makanan tradisional adalah bahan pangan, bahan penyusun makanan (ingredients) alami termasuk bumbu-bumbu, makanan jadi, serta minuman yang diolah atau disiapkan secara tradisional dan daerah yang dikonsumsi masyarakat Indonesia (Anonim, 1995). Penanganan pasca panen durian biasanya dilakukan dengan memanfaatkan buah durian yang rusak, terasa hambar, tekstur lunak dan tidak matang sebagai bahan olahan. Khasiat makanan tradisional dapat dijadikan pendukung dalam perbaikan gizi masyarakat, terutama yang berkaitan dengan perkembangan otak, pertumbuhan dan perkembangan anak, kesehatan, kesegaran, kecantikan, kebugaran, diet dan penyakit degeneratif, usia lanjut serta aspek-aspek promosi dan pemasaran (DRN, 1995).

Tumbuh dan berkembangnya industri pengolahan makanan secara komersial disebabkan oleh beberapa hal diantaranya: (1) Untuk meningkatkan tingkat ketersediaan buah-buahan yang bersifat musiman. (2) Fermentasi buah-buahan dan sayur-sayuran memberikan suatu mekanisme yang menyebabkan bahan segar tertransformasi ke komponen-komponen asam respektifnya, tanpa menurunkan nilai nutrisi dan sifat-sifat fisik yang berarti. (3) Dapat diterapkan dengan peralatan minimal secara mekanis dan ekonomis sehingga proses pengolahannya dapat diterapkan pada skala mikro sekalipun (Fleming, 1988; Prescott dan Dunn, 1959).

Menurut Stamer (1979), istilah bakteri asam laktat mencakup suatu kelompok mikroorganisme yang mempunyai kemampuan untuk memproduksi asam laktat dari sumber karbohidrat yang dapat terfermentasi. Bakteri asam laktat berperan pada berbagai fermentasi makanan, meliputi buah-buahan, sayur-sayuran, susu dan daging. Lebih lanjut Dyson dan McShane (2009), melaporkan bahwa suatu perubahan biokimia yang fundamental dalam proses fermentasi adalah menjadikan lingkungan yang asam, sehingga menyebabkan banyak mikroba yang berbahaya tidak dapat eksis pada lingkungan tersebut, namun bakteri asam laktat dan lingkungan yang asam, cocok untuk preservatif dan perubahan flavor alami dari makanan. Bakteri asam laktat juga dapat merubah komponen-komponen sianida menjadi gas sianida yang dapat dilepaskan dari makanan fermentasi sehingga makanan tadi tidak menjadi berbahaya lagi.

METODA PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di lab. Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Sampel tempoyak didapatkan dari berbagai pasar tradisional Bengkulu. Pengambilan sampel selama satu bulan dengan selang waktu sekali seminggu. Sampel diencerkan dengan air destilasi dengan berbagai serial pengenceran. Pada setiap sampel dilakukan pengisolasian mikroorganisme, dilakukan pemisahan terhadap mikroorganisme utama yaitu bakteri, ragi dan jamur. Sampel homogen diambil 20 gram diencerkan dalam 180 ml air destilasi steril, selanjutnya dibuat berbagai serial pengenceran. Dari berbagai serial pengenceran tersebut diambil 1 ml, ditumbuhkan pada masing-masing medium agar dalam cawan petri dengan metoda tuang. Pada medium *Glucose Yeast Peptone* (GYP agar) untuk Total Plate Count Bacteria (TPC), medium DeMan Rogosa Sharpe (MRS agar) untuk bakteri asam laktat, medium Sabouraud (Dextrose Agar) untuk ragi, dan medium Potato Dextrose Agar untuk jamur. Cawan-cawan petri tersebut diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 35°C untuk bakteri dan ragi, 30°C untuk jamur. Koloni tunggal yang tumbuh dengan keragaman tipe, diambil dan dimurnikan dengan metode *Streak Plate Technique*, selanjutnya diisolasikan pada agar miring, untuk bakteri agar miring Brome Creosol Purple supaya bisa dibedakan antara bakteri asam laktat dengan bakteri lainnya, sedangkan untuk ragi dan jamur dengan agar miring yang sama dengan medium cawan petrinya masing-masing. Isolat pada agar miring diberi label dan disimpan di dalam refrigerator untuk pengamatan. Pengamatan dilakukan terhadap karakteristik mikroorganisme yang diisolasi dari sampel. Masing-masing kelompok mikroorganisme diamati secara morfologis, fisiologis dan biokimia. Isolat dari berbagai sampel, diidentifikasi

reaksi gram, bentuk, ukuran, dan susunan selnya, ada atau tidak adanya spora, kapsul dan flagella (Buhanan dan Gibbon 1976; Speck 1976). Selanjutnya dilakukan tes uji temperature, katalis, larutan NaCl, homo/hetero fermentasi, kebutuhan oksigen, dan produksi asam dari berbagai sumber karbon, untuk ragi ditambah dengan uji fermentasi dan asimilasi dari bedrbagai sumber karbon dan NO₃. Berdasarkan hasil tes maka isolat tadi dikelompokkan berdasarkan karakteristik yang sama. Data yang diperoleh adalah data deskriptif, berdasarkan data karakteristik yang sama dari sifat morfologi, fisiologi dan biokimia maka dilakukan pengelompokan isolat (Speck 1976, Harley dan Prescott 1959, Collins dan Lyne's 1989, dan John dan Prescott 1993). Maka berdasarkan literatur perbandingan tersebut dapat ditarik kesimpulan atas spesies-spesies mikroorganisme yang terdapat pada tempoyak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat bakteri dianalisa berdasarkan kenampakan secara morfologi, aspek fisiologi dan biokimia, ada beberapa kultur isolat yang tidak tumbuh. Nomor kultur isolat tersebut adalah 6, 7, 8, 12, 14, 17, 21, 26, 32, 39, 40, 42, 43, 44, 52, 54, 60, 64, 65, 99, 101, 105, 107, dan 108. Hasil pengamatan dari bentuk sel, reaksi gram, katalis, gas dari glukosa, kemampuan hidup pada 15 % NaCl, kemampuan hidup pada suhu 10 °C, 45 °C dan 50 °C dan produksi asam dari berbagai sumber karbon, maka kultur bakteri yang diperoleh dapat dikelompokkan atas 6 kelompok. Keenam kelompok bakteri tersebut adalah seperti terlihat pada Tabel 1, 2, 3, 4, 5, dan 6.

Berdasarkan hasil identifikasi maka didapatkan enam spesies bakteri yang terdapat pada tempoyak yaitu; *Pediococcus acidilactisi*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc mesentroides*, *Staphylococcus saprophyticus* dan *Micrococcus varians*. Dari ke enam spesies tersebut, empat species dengan jumlah isolat terbanyak secara berurutan yaitu *P. acidilactisi*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, dan *Leu. Mesentroides*. Dua species yaitu *S. saprophyticus* dan *Micrococcus varians* adalah species yang tidak dominan dari jumlah isolat.

Menurut Stammer (1988) dan Wood (1981) genus *Pediococcus* dan *Leuconostoc* merupakan jenis bakteri asam laktat yang umum dijumpai pada fermentasi buah-buahan dan sayur-sayuran. *L. plantarum* dan *L. curvatus* adalah species dari genus *Lactobacillus* yang mempunyai kemampuan memfermentasi gula menjadi asam laktat, yang dapat digunakan dalam industri fermentasi hasil pertanian dan produk hewani (Frazier dan Westhoff 1987). *S. saprophyticus* dan *Micrococcus varians* adalah spesies-spesies bakteri yang sangat sedikit terisolasi. Kalau diperhatikan dari tabel di atas terlihat bahwa kedua spesies ini tidak mempunyai karakteristik yang unggul dalam melakukan fermentasi. Spesies-spesies ini adalah

spesies yang tidak bermanfaat dalam proses fermentasi, dan tidak tergolong kepada bakteri asam laktat. Dengan ditemuinnya spesies ini pada tempoyak, ini mengindikasikan bahwa kemungkinan selama pemasaran telah terjadi kontaminasi, karena kondisi pasar tradisional yang tidak higienis. Tempoyak dijual tanpa dikemas kondisi selama pembuatan sudah berbeda dari anaerob ke aerob, itulah sebabnya kenapa spesies bakteri yang sifatnya aerob ini bisa bertahan hidup pada tempoyak. Hal ini juga bisa disebabkan oleh species-spesies bakteri katalis positif memproduksi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida ini akan dibebaskan menjadi H₂O dan O₂, O₂ inilah yang dimanfaatkan oleh kedua spesies ini untuk respirasi.

Khamir diisolasi dengan menggunakan medium agar *Sabouraud (Dextrose)*. Kultur isolat ditumbuhkan pada stab agar. Kultur dikelompokkan berdasarkan pencirian sifat morfologi, biokimia dan fisiologi yang sama. Ternyata hanya ada satu kelompok kultur yang mempunyai sifat pencirian yang sama. Tabel 7 memperlihatkan bahwa karakter fisiologis khamir hampir sama dengan ciri-ciri *Saccharomyces cerevisiae*, namun ada perbedaan pada kemampuan melakukan fermentasi laktosa. *S. cerevisiae* tidak dapat melakukan fermentasi laktosa, sedangkan kelompok khamir ini dapat melakukan fermentasi laktosa, demikian juga dengan asimilasi nitrat *Saccharomyces cerevisiae* tidak mampu, namun kelompok ini mampu. Maka berdasarkan sifat fisiologis tersebut maka kelompok khamir yang hanya satu tipe terdapat pada kultur isolasi tempoyak yaitu *Kluyveromyces marxianus*.

Hasil pengamatan morfologi jamur secara mikroskopis seperti terlihat pada Gambar 5, mengindikasikan bahwa jamur tersebut adalah dari genus *Rhizopus*. Hal ini bisa diketahui dari posisi tumbuhnya *rhizoid* tepat terletak di bawah tangkai spora (*Sporangiophore*). Frazier dan Westhoff (1987), melaporkan bahwa *Rhizopus oryzae* dapat memproduksi asam laktat dari medium glukosa bergaram. Lebih lanjut Prescott dan Dunn (1959), menyebutkan bahwa produksi asam laktat dari jamur, yang disebut dengan jamur *Lactomyces*, adalah mikroorganisme yang diyakini adalah suatu species dari *Rhizopus*. Kondisi tempoyak yang dalam proses pembuatannya dengan penambahan garam dengan produk yang terbentuk adalah asam, maka jamur dari genus *Rhizopus* ini adalah *Rhizopus oryzae*.

Pengamatan morfologis dari jamur berikutnya, yang terisolasi dari tempoyak seperti terlihat pada Gambar 6. Hifa terlihat panjang dan berseptata, konidia berbentuk oval merupakan fragmentasi dari hifa fertil dari cabang bagian atas *dari aerial hyphae*. Genus yang sesuai dengan ciri-ciri *Monilia* (Frazier dan Westhoff 1987). *Monilia* adalah jamur yang penyebarannya sangat luas di alam, dia dapat tumbuh pada bahan makanan yang berkadar gula tinggi dan pada berbagai macam makanan. Menurut Judoamidjojo dkk., (1992), jamur

merupakan mikroorganisme yang agak mudah untuk diidentifikasi, dengan melihat langsung dibawah mikroskop sering kali sudah cukup memadai untuk pengidentifikasian. Prescott dan Dunn (1959) melaporkan bahwa *Monilia* tergolong jamur yang dapat memproduksi asam laktat. Berdasarkan pada karakter morfologis dan medium tumbuh serta kemampuan memproduksi asam laktat maka jamur yang teridentifikasi seperti terlihat pada gambar 6 adalah *Monilia sitophila*.

Gambar 7 menunjukkan ciri-ciri dari genus *mucor*. Pertumbuhan *mycellium* pada petridish kultur PDA berwarna putih, hifa tidak bersekat, *sporangiospora* bulat sampai oval, spora berwarna hitam dan tidak mempunyai *stolon* dan *rhizoid*. Menurut Judoamidjojo dkk., (1992), *Mucor roxii* adalah satu-satunya spesies dari genus *Mucor* yang dapat mensakarifikasi pati dari medium pertumbuhannya sedangkan Frazier dan Westhoff (1987) mengemukakan bahwa spesies ini selain luas penyebarannya, dia juga bermanfaat dalam industri keju dalam proses penuaan. Prescott dan Dunn (1959) melaporkan bahwa beberapa spesies dari *Mucor* dapat memproduksi asam laktat. Berdasarkan kepada sifat morfologis dan medium tumbuh serta produksi asam laktat maka jamur yang teridentifikasi pada Gambar 7 adalah *Mucor roxii*.

Gambar 8 secara morfologis, nampak batang *conidio-phores*, *vesicle*, *primary sterigmata*, *secondary sterigmata* dan *conidia*, dengan bentuk bulat, muncul dari *sterigmata* berbentuk rantai. Menurut Raper dan Fennell dalam *Microorganisms important in food microbiology* (Frazier dan Westhoff, 1987), bahwa *Aspergillus repens* tumbuh baik dalam medium dengan konsentrasi gula dan garam yang tinggi. Namun menurut Prescott dan Dunn (1959) tidak ada indikasi dari *Aspergillus* bisa memproduksi asam laktat. Dengan demikian maka dapat dikatakan bahwa *Aspergillus repens* adalah jamur yang dapat tumbuh baik pada tempoyak, namun dia tergolong kepada jamur yang tidak dapat memproduksi asam laktat.

Gambar 9 secara morfologis mengindikasikan jamur dari genus *Penicillium*. Pelzcar dkk. (1986) menyatakan bahwa genus *Penicillium* amat erat kaitannya dengan *Aspergillus*. Selain bermanfaat dalam penuaan berbagai keju *Penicillium* juga bermanfaat dalam industri farmasi untuk produksi antibiotik, namun beberapa spesies juga penyebab kerusakan pada buah-buahan, makanan dan sayuran. Menurut Collins dkk. (1989) *Penicillium* juga dapat memproduksi *mycotoxin* dalam makanan. Prescott dan Dunn (1959) mengatakan bahwa *Penicillium* tidak dapat memproduksi asam laktat. Menurut Ekowati (2006) jamur yang dominan di dalam tempoyak adalah *Aspergillus* dan *Penicillium*.

KESIMPULAN

Isolat bakteri yang teridentifikasi pada tempoyak sebanyak enam spesies yaitu: *P. acidilactici*, *L. plantarum*, *L.*

curvatus, *Leu. mesentroides*, *S. saprophyticus* dan *M. varians*. Dari ke enam spesies tersebut empat spesies yang berperan positif pada fermentasi tempoyak yaitu *P. acidilactici*, *L. plantarum*, *L. curvatus* dan *Leu. mesentroides*. Dua spesies yang merugikan adalah *Staphylococcus saprophyticus* dan *Micrococcus varians*. Karena adanya dua spesies bakteri yang tidak menguntungkan pada tempoyak disarankan agar masyarakat jangan mengonsumsi langsung tempoyak tanpa dimasak. Khamir yang teridentifikasi dari tempoyak adalah *K. marxianus*. Ada tiga species jamur yang terlibat dalam proses fermentasi tempoyak dalam memproduksi asam laktat yaitu: *Rhizopus oryzae*, *Monilia sitophila*, dan *Mucor roxii*. *Aspergillus repens* adalah species jamur yang terdapat pada tempoyak yang tidak memproduksi asam laktat, namun species ini mempunyai kemampuan untuk mensakarifikasi gula. Jamur lain yang terisolasi dari tempoyak adalah *Penicillium*, merupakan species yang belum bisa diketahui keterlibatannya dalam proses fermentasi tempoyak. Terdapatnya *Penicillium* dalam tempoyak perlu diwaspadai karena jamur ini ada yang menghasilkan *mycotoxin*. Perlu kajian yang mendalam tentang peranan *Penicillium* dalam tempoyak. Diperlukan penelitian lebih lanjut identifikasi spesies *Penicillium* pada tempoyak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Ditjen Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional atas pembiayaan penelitian ini melalui Peneliti dengan No. Kontrak: 5005/94/J30.2/PG/2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (1995). Susunan Resep Makanan Tradisional Spesifik Bengkulu Dalam Rangka Lomba Menu Masakan Tradisional Tingkat Propinsi Bengkulu 1995. Tim Penggerak PKK Propinsi Dati I, Bengkulu.
- Anonim (1995). Kasiat Makanan Tradisional. Widya Karya Nasional Makanan Tradisional 6-7 Juli 1995. Kantor Menteri Negara Urusan Pangan, Jakarta.
- Buahan, R.E dan Gibbons, N.E. (1976). Bergey's Manual of determinative Bacteriology, 8th Ed. Baltimore: The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Dewan Riset Nasional (1995). Makanan Tradisional. Widya Karya Nasional Makanan Tradisional 6-8 Juni 1995. Jakarta.
- Dyson, S. dan McShane, R. (2009). Fermented Food: The benefits and necessity of fermenting as a process. Food

- Article/commentary: 1-4. 2009.<http://www.foodtourist.com/FTGuide/Content/1477.htm>.
- Ekowati, C.N. (2006). Suksesi Mikrobial dan Pembentukan Asam Organik Pada Fermentasi Buah Durian (*Durio Zibethinus* Murr). Research Report dari LAPTUNI-LAPP. UNILA. Lampung
- Fleming, H.P. (1988). Fermented Vegetable. Dalam: Rose, A.H. (ed). *Economic Microbiology, Fermented Food*. Academic Press. New York.
- Frazier, W. C dan Westhoff, D.C. (1987). *Food Microbiology*, 4th Ed. McGrawHill Book Company. New York.
- Leisner, J.J., Vancanneyt, M., Rusul, B., Pot, K., Lefebvre, Fresi, A. dan Tee, L.K. (2001). Identification of lactic acid bacteria constituting the predominating microflora in an acid-fermented condiment (tempoyak) popular in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology* **63**: 149-157.
- Mat Amin, A., Jaafar, Z. dan Ng, L.K. (2004). Effect of salt on tempoyak fermentation and sensory evaluation. *Journal of Biological Science* **4**: 650-653.
- Prescott, S.C. dan Dunn (1959). *Industrial Microbiology*. 3Ed. Internasional Student Edision. McGrawHill Book Company. New York.
- Speck, M. L. (1976). *Compedium of Methods for the Microbiological Examination of Food*. American Public Health Association Washington D.C.
- Stamer, J.R. (1979). The lactic acid bacteria: Microbes of diversity. *Food Technology* **1**: 60-65.