

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Fermentasi dan Tempe Gembus

1. Fermentasi

Fermentasi adalah penguraian atau degradasi senyawa kompleks (polimer) menjadi senyawa sederhana (monomer) oleh enzim mikroorganisme yang menggunakan senyawa organik sebagai aseptor terakhirnya. Enzim yang bekerja tersebut ada yang terletak diluar sel dan ada pula yang terletak di dalam sel (Saono, 1971, LKN-LIPI, 1975 dalam Pantjajani, 1998 ; Winarno, 1995 ; Timotius, 1982). Pada fermentasi tempe, enzim yang bekerja bersifat ekstraseluler, yaitu setelah diproduksi di dalam sel kemudian dikeluarkan ke substrat di sekelilingnya. Enzim ekstraseluler menghidrolisis senyawa kompleks di luar sel menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat diserap ke dalam sel (Timotius dan Farly, 1990, Saono, 1971 dalam Pantjajani, 1998 ; Winarno, 1984).

Fermentasi diklasifikasikan terutama berdasarkan pada hasil akhirnya dan jenis substratnya. Berdasarkan jenis substratnya dikenal fermentasi karbohidrat dan fermentasi senyawa nitrogen organik. Fermentasi karbohidrat dibeda-bedakan lagi berdasarkan hasil akhirnya (Timotius, 1982). Berdasarkan bentuk substrat yang diurai mikroorganisme, fermentasi dapat dibedakan menjadi fermentasi substrat padat dan fermentasi substrat cair (Saono, 1971 dalam Pantjajani, 1998).

2. Tempe Gembus

Tempe adalah produk fermentasi substrat padat yang merupakan makanan tradisional Indonesia dan amat dikenal oleh masyarakat Indonesia serta digemari pula oleh berbagai kelompok masyarakat barat (Suharto, 1995 ; Kasmidjo, 1990). Nama

tempe bila disebutkan tanpa disertai nama bahannya maka yang dimaksud ialah tempe kedelai, karena kedelai merupakan bahan yang paling banyak dikenal. Sedangkan untuk tempe dari bahan lain, identitasnya masih harus disertai dengan nama bahannya atau istilah lain yang sudah dikenal produsen atau konsumennya (Pawiroharsono, 1995 ; Kasmidjo, 1990).

Dari berbagai bahan yang ada selain kedelai, di Yogyakarta, Surakarta dan Semarang dijumpai tempe yang dibuat dari ampas tahu yang disebut tempe gembus (Kasmidjo, 1990). Tempe ini mempunyai kenampakan yang serupa dengan tempe kedelai, namun dengan tekstur yang lebih lembut. Tempe gembus dapat dikonsumsi sebagai makanan selingan atau kudapan, maupun lauk pauk dalam bentuk digoreng atau dibuat sayur (Cambel dan Platt, 1987 dalam Naruki 1991). Nama tempe ini tidak menggambarkan bahan asalnya yaitu ampas tahu. Istilah gembus menggambarkan keadaan fisik bahan dasar dan tekstur tempe yang dibuat dari ampas tahu. Istilah ini berasal dari bahasa jawa yang menggambarkan sesuatu yang lunak tetapi memiliki bentuk tetap (Kasmidjo, 1990).

Ampas tahu merupakan limbah padat pada proses pembuatan tahu. Pada proses pembuatan tahu, kedelai digiling secara basah hingga menjadi bubur kemudian direbus dan disaring serta diperas. Filtrat hasil penyaringan yang biasa disebut susu kedelai atau sari kedelai, kemudian digumpalkan dengan menambah *kecutan*, dipres dan dipotong dengan ukuran tertentu sehingga diperoleh tahu. Residu atau ampas sisa saringan dan perasan inilah yang disebut ampas tahu dan digunakan sebagai bahan tempe gembus (Triwitono, 1996 ; Kasmidjo, 1990). Kandungan zat gizi ampas tahu diketahui masih ada seperti yang dilaporkan oleh Triwitono (1996). Kedelai mengandung zat gizi cukup tinggi yaitu 34,9% protein, 18,1% lemak dan 35% karbohidrat. Namun setelah diproses menjadi tahu, ternyata komposisinya menjadi

7,8% protein, 44,6% lemak dan 1,6% karbohidrat. Dari perbandingan kandungan zat gizi dari kedelai menjadi tahu, maka diperkirakan kandungan zat gizi yang tertinggal dalam ampas tahu cukup tinggi. Ampas tahu mengandung 26,6% berat kering protein, 18,3% berat kering lemak dan 41,3% berat kering karbohidrat (Widya Karya Pangan dan Gizi, 1981 dalam Triwitono, 1996). Kandungan serat kasarnya adalah 12,0% - 14,5% (Shurtleff dan Aoyagi, 1979 dalam Triwitono, 1996). Protein ampas tahu mengandung asam amino isoleusin, leusin, lisin, metionin, sistein, fenilalanin, tirosin, threonin, dan valin dengan nilai PER atau *Protein Efficiency Ratio* cukup tinggi, yaitu 2,71 (Del Valle, 1981 dan Hackler *et. al.*, 1976 dalam Triwitono, 1996). Dengan demikian komposisi asam amino ampas tahu hampir sama dengan komposisi asam amino susu kedelai. Kasmidjo (1990), menyatakan bahwa ampas tahu masih kaya akan minyak, sehingga memiliki rasa yang gurih. Oleh karena itu memberikan peluang yang sangat besar untuk memanfaatkan ampas tahu diantaranya sebagai bahan pembuatan tempe gembus.

Proses pembuatan tempe gembus secara garis besar meliputi tahap pemerasan ampas tahu, pencampuran ampas tahu dengan bekatul beras, pengukusan ampas tahu dan bekatul tersebut, pendinginan, inokulasi dengan jamur, pembungkusan dengan daun pisang atau kantung plastik, kemudian penyimpanan pada suhu kamar selama 36 – 48 jam untuk berlangsungnya fermentasi. Setelah masa inkubasi tersebut, seluruh permukaan ampas tahu akan tertutup massa putih yang kompak yaitu miselia jamur tempe dan menandakan terjadinya penetrasi miselia jamur ke seluruh massa tempe (Triwitono, 1996 ; Naruki, 1991). Komposisi kimia tempe gembus adalah kadar air 81%, protein 4,9%, lemak 2,3%, karbohidrat 11% dan mineral 0,8% (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan, 1981 dalam Suwaryono dan Ismeini, 1988). Tempe gembus

dilaporkan bebas dari senyawa-senyawa racun aflatoksin B1, B2, G1 dan G2 (Gandjar dan Slamet, 1972 dalam Kasmidjo, 1990).

B. Mikroba Yang Berperan dalam Pembuatan Tempe Gembus

Berbeda dengan tempe kedelai, tempe bengkuk, maupun tempe lamtoro, tempe gembus dibuat tanpa melalui proses perendaman. Namun pada dasarnya, ampas tahu sebagai bahan dasar dalam pembuatan tempe gembus telah mengalami perlakuan perendaman yaitu saat kedelai diproses menjadi tahu atau susu kedelai. Dengan demikian aktivitas mikroorganisme dalam proses pembuatan tempe gembus yang utama terdapat pada proses fermentasi (pemeraman) oleh kapang *Rhizopus sp.* dan secara tidak langsung pada proses perendaman saat kedelai diproses menjadi tahu atau susu kedelai.

Bakteri yang dominan selama perendaman ialah *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecium*, *Stapylococcus epiderdis* dan *Streptococcus dysgalactiae*. Meskipun dengan tingkat populasi yang lebih rendah terdapat bakteri lain dalam perendaman yaitu Familia Enterobacteriaceae seperti *Klebsiella pneumoniae*, *K. ozaenas*, *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans* dan *Citrobacter diversus* serta beberapa khamir yaitu *Picha burtanii*, *Candida diddensiae* dan *Rhodotorulla rubra*. Dari bakteri yang ada selama perendaman telah diketahui bahwa *Lactobacillus casei*, *Streptococcus dysgalactiae*, dan *Stapylococcus epidermidis* memiliki kemampuan menurunkan pH. Dilaporkan pula bahwa sumber mikroorganisme dalam perendaman adalah berasal dari kedelai (Mulyowidarso, dkk., 1989 dalam Kasmidjo 1990).

Mikroorganisme yang berperan utama dalam fermentasi atau pemeraman tempe gembus adalah *Rhizopus sp.*. *Rhizopus sp.* sering disebut juga kapang roti karena sering tumbuh dan menyebabkan kerusakan pada roti. Beberapa spesies hidup sebagai

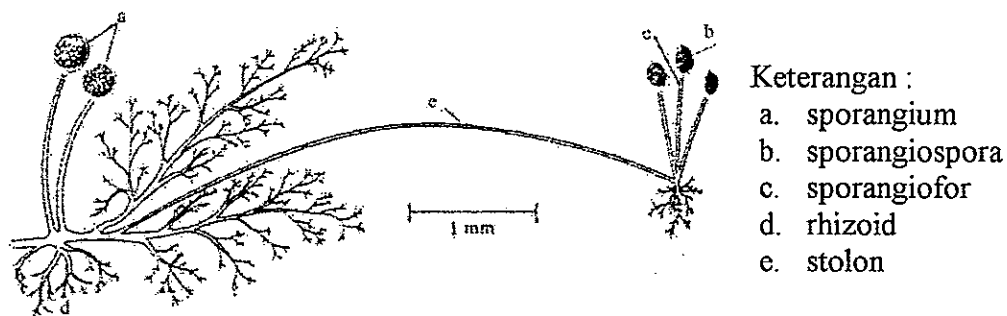
saprofit pada tanah dan buah-buahan dan beberapa spesies lain hidup sebagai parasit pada tumbuh-tumbuhan. Selain itu kapang ini juga sering tumbuh pada biji padi-padian, sayuran, udara dan pada daun waru (*Hibiscus tiliaceus* dan *H. similis*). Spesies *Rhizopus* yang umum ditemukan pada roti adalah *R. stolonifer* dan *R. nigricans*. Selain merusak makanan, beberapa spesies *Rhizopus* juga digunakan dalam pembuatan beberapa jenis makanan fermentasi tradisional, misalnya *R. oligosporus* dan *R. oryzae* yang dipergunakan dalam berbagai macam tempe dan oncom hitam. Beberapa spesies menghasilkan asam organik seperti *R. stolonifer* yang menghasilkan asam fumarat dan penghasil bahan dasar untuk kortison (Samson, et. al., 1995 ; Fardiaz, 1992 ; Budiman, 1987 ; Pelczar and Chan, 1986 ; Dwidjoseputro, 1981 dan 1978)

Menurut Alexopoulos (1977), klasifikasi lengkap *Rhizopus sp.* adalah sebagai berikut :

Regnum	: Mycota
Divisio	: Amastigomyceta
Subdivisio	: Zygomycotina
Classis	: Zygomycetes
Ordo	: Mucorales
Familia	: Mucoraceae
Genus	: <i>Rhizopus</i>
Spesies	: <i>Rhizopus sp.</i>

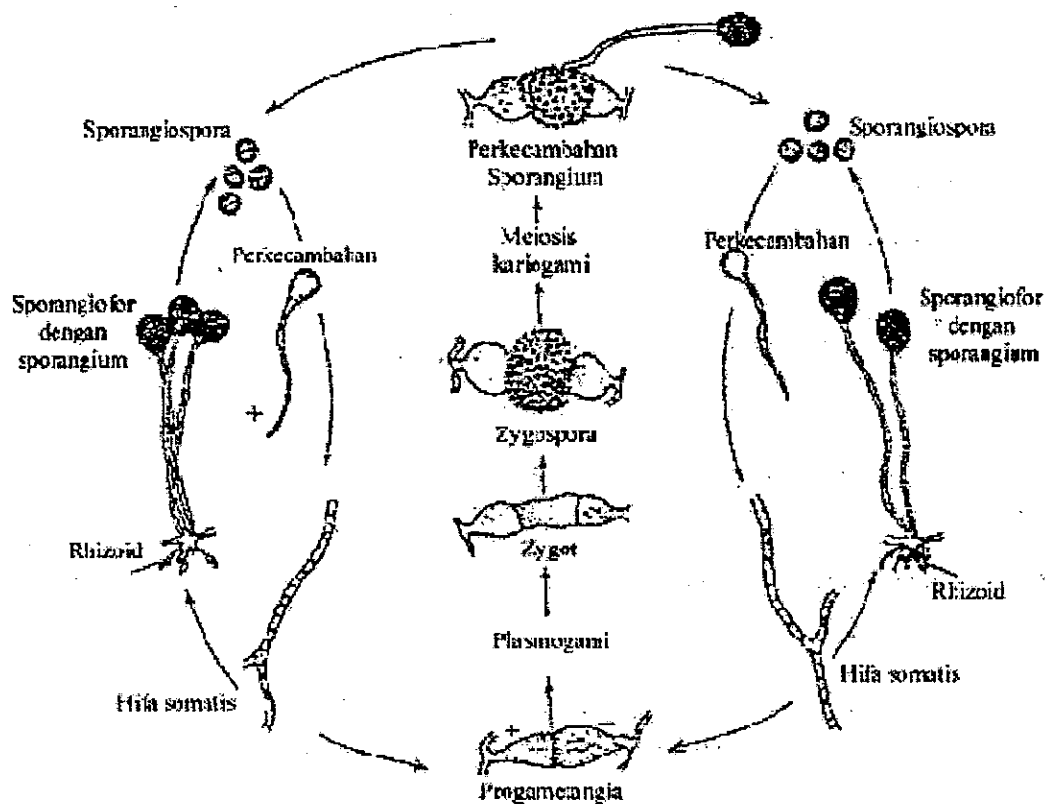
Ciri-ciri *Rhizopus sp.*, antara lain adalah memiliki hifa yang jumlahnya banyak dan tidak bersepta, membentuk jalinan seperti kapas yang disebut miselium, mempunyai hifa vegetatif yang menyerupai akar, berukuran pendek dan bercabang banyak yang disebut rhizoid dan berguna untuk penetrasi pada substrat, mempunyai

hifa yang dibatasi oleh dua pangkal yang menghasilkan rhizoid yang disebut stolon. Baik rhizoid dan stolon akan berwarna gelap bila sudah tua. Sporangiofora tumbuh pada noda dimana terbentuk juga rhizoid. Membentuk hifa fertil pada ujung sporangiofora yang menghasilkan sporangium. Sporangium biasanya berukuran besar dan berwarna hitam. Bagian ujung sporangiofor yang masuk ke dalam sporangium disebut kolumela, berbentuk agak bulat dan apofisis membentuk seperti cangkir. Tidak mempunyai sporangiola yaitu sporangium yang berukuran kecil dan kadang-kadang berisi satu spora saja (Fardiaz, 1992 ; Budiman, 1987 ; Pelczar and Chan, 1986 ; Dwidjoseputro, 1978).



Gambar 01. Morfologi *Rhizopus sp.* (Pelczar et. al., 1986)

Reproduksi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu aseksual dan seksual. Reproduksi aseksual dengan pembentukan spora non motil (aplanospora) berupa sporangiospora. Reproduksi seksual dengan gametangiogami yang menghasilkan zigospora (Fardiaz, 1992 ; Budiman, 1987 ; Pelczar and Chan, 1986 ; Dwidjoseputro, 1978). Mengenai siklus hidup *Rhizopus sp.* disajikan pada gambar 02.



Gambar 02. Siklus Hidup *Rhizopus sp.* (Gams, et al., 1987 digambar ulang dari Cutter, 1987)

Enzim ekstraseluler yang diproduksi *Rhizopus sp.* adalah protease yang menghidrolisis protein, lipase menghidrolisis lipid, amilase menghidrolisis karbohidrat, pektinase menghidrolisis pektin dan fitase menghidrolisis fitat (Pantjajani, 1998 ; Gandjar, 1995 ; Kasmidjo, 1990).

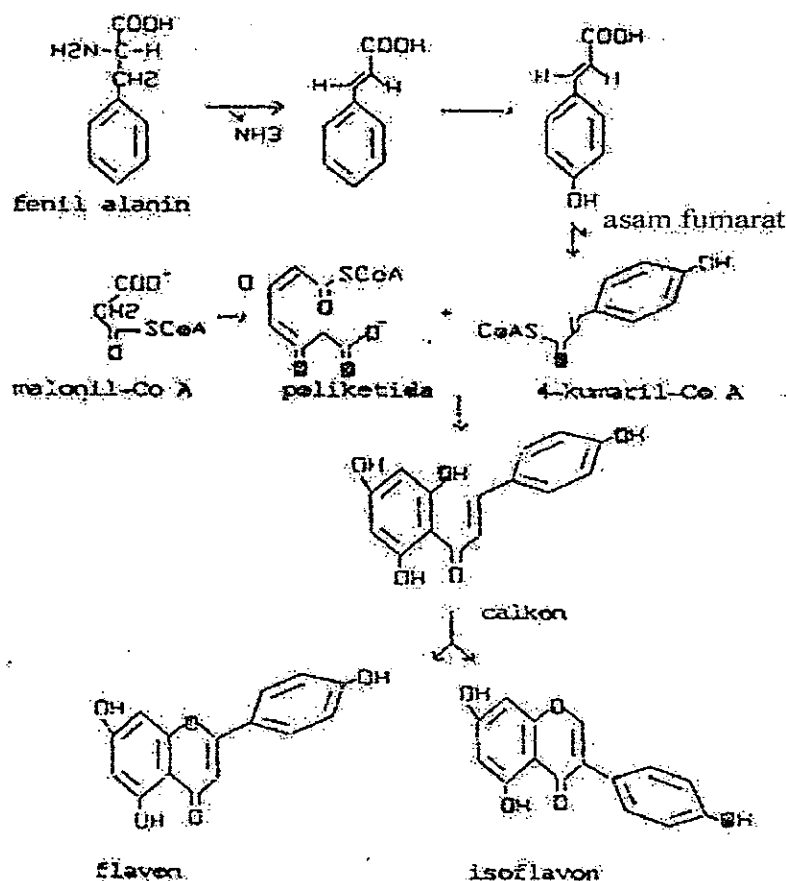
C. Tinjauan Umum Tentang Isoflavon

Isoflavonoid adalah salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada spesies-spesies familia *Leguminoceae* (tanaman berbunga kupu-kupu) (Nirnama, 1998 ; Manitto, 1981). Kandungan senyawa isoflavonoid dalam

tanaman sangat rendah yaitu sekitar 0,25% dan senyawa-senyawa tersebut pada umumnya terikat dengan senyawa gula (Synder dan Kwon, 1987 dalam Nirnama, 1998).

1. Biosintesis dan Bioaktivitas Isoflavon

Isoflavon secara alami disintesis oleh tumbuh-tumbuhan dari senyawa asam amino aromatik fenil alanin atau tirosin. Biosintesis ini berlangsung secara bertahap dan melalui sederetan senyawa diantaranya yaitu asam sinamat, asam kumarat, kalkon dan akhirnya flavon dan isoflavon. Berdasarkan cara biosintesisnya isoflavon digolongkan sebagai senyawa metabolit sekunder (Nirnama, 1998).



Gambar 03. Biosintesis Senyawa Flavon dan Isoflavon (Nirnama, 1998)

Isoflavon termasuk dalam golongan flavonoid (1,2 - diarilpropan) dan merupakan kelompok terbesar (Nirnama, 1998; Manitto, 1981). Meskipun isoflavon merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder, namun tidak terdapat dalam bakteri, algae, jamur dan lumut, karena organisme tersebut tidak mempunyai kemampuan untuk mensintesisnya, tetapi beberapa mikroba-mikroba tertentu mempunyai kemampuan untuk melakukan transformasi senyawa isoflavon (Luckner, 1984 dalam Nirnama, 1998).

Transformasi senyawa isoflavon selama fermentasi telah banyak dipelajari dan ternyata tidak hanya kapang pemeran utamanya, tetapi juga mikroba lain yang dianggap sebagai mikroba kontaminan dapat memberikan kontribusi pembentukan transforman baru.

Senyawa isoflavon yang terdapat pada kedelai adalah daidzein, genistein, dan glisitein. Senyawa isoflavon yang khusus terdapat pada tempe selain ketiga senyawa yang ada pada kedelai adalah faktor-II (6,7,4' tri-OH isoflavon). Senyawa ini terdapat dalam keadaan bebas (aglikon) dan terikat (konjugasi) melalui ikatan glikosida dengan senyawa gula (Barz, dkk., 1990 dalam, Nirnama, 1998 ; Pawiroharsono, 1995).

Senyawa isoflavon yang masih terikat dengan senyawa gula melalui ikatan -O-glikosidik oleh *Rhizopus sp.* selama fermentasi dihidrolisis sehingga senyawa gula dan senyawa aglikon menjadi bebas. Senyawa aglikon merupakan senyawa yang aktif dan dapat mengalami transformasi lebih lanjut membentuk senyawa aglikon lainnya (Nirnama, 1998 ; Pawiroharsono, 1995).

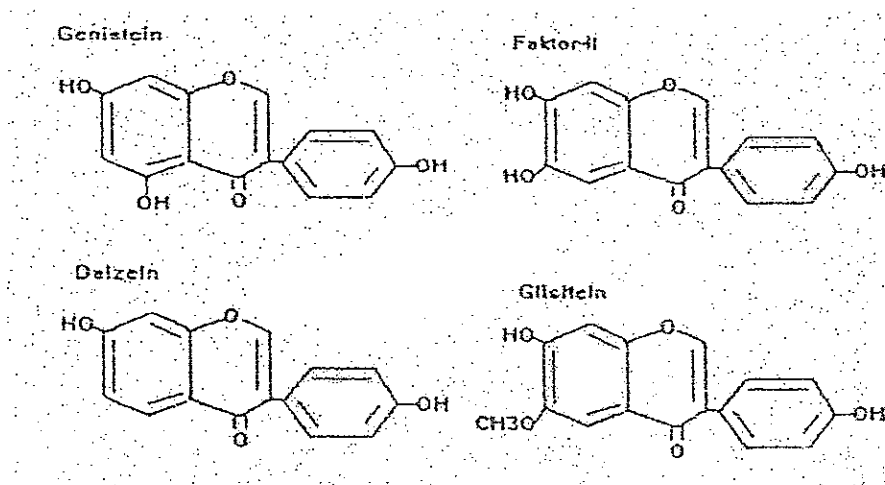
Barz, dkk., (1993), menyebutkan bahwa biosintesis senyawa faktor-II dilakukan oleh *Brevibacterium epidermis* dan *Micrococcus luteus* melalui proses demetilasi glisitein atau oleh *Microbacterium arborescens* melalui hidroksilasi daidzein (Siregar dan Pawiroharsono, 1997 ; Astuti, 1995 ; Pawiroharsono, 1995). Biosintesis isoflavan

terjadi melalui transformasi kapang atau khamir. Senyawa isoflavan merupakan senyawa yang istimewa karena potensinya sebagai anti konstiksi pembuluh darah, anti inflamasi, anti ulser dan anti kanker (Ziliken, 1987 dalam Nirnama, 1998).

Hasil transformasi lebih lanjut dari senyawa aglikon ini justru menghasilkan senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi. Murata (1968), membuktikan bahwa faktor-II mempunyai aktivitas antioksidan dan antihemolitik lebih baik dari daidzein dan genistein. Oleh Jha (1985 dalam Nirnama, 1998) dijelaskan lebih lanjut bahwa faktor-II sebagai senyawa antioksidan memiliki aktivitas biologi lebih tinggi sebesar 10 kali aktivitas vitamin A atau karboksi kroman dan sekitar 3 kali dari senyawa isoflavan aglikon lainnya pada tempe.

2. Kandungan Isoflavan Pada Tempe dan Manfaatnya Untuk Kesehatan

Salah satu sumber senyawa isoflavan adalah kedelai yang tergolong *Leguminoceae*. Kedelai oleh bangsa Indonesia banyak dikonsumsi melalui berbagai produk olahan misalnya tempe, tahu, tauco dan kecap yang oleh Smith (1988) digolongkan sebagai makanan oriental hasil fermentasi.



Gambar 04. Struktur Senyawa Isoflavan (Pawiroharsono, 1997)

Di dalam tempe kadar senyawa isoflavon ini sangat kecil, yaitu tidak sampai 0,1% dari total berat keringnya. Namun demikian, pengaruh yang ditimbulkannya terhadap kesehatan konsumen tempe sangat baik (Wuryani, 1997).

Salah satu sifat yang dimiliki senyawa isoflavon adalah bertindak sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan pada tempe mula-mula di isolasi dan diidentifikasi oleh Gyorgy (1964) dan senyawa tersebut ternyata isoflavon. Jenis senyawa isoflavon yang telah diketahui memiliki bioaktivitas antioksidan adalah daidzein (7,4' – dihidroksi isoflavon) dan genistein (5,7,4' – dihidroksi – isoflavon) (Murakami, 1984 ; Gyorgy, dkk., 1964), glisitein dan faktor II (7,6,4' – trihidroksi – isoflavon) (Gyorgy, dkk., 1964), isoflavan (6,7,4' tri OH – isoflavan) (Ziliken, 1987) (Nirnama, 1998 ; Gaynor and Majeed, 1997 ; Prawiroharsono, 1995 ; Kasmidjo, 1990). Ikehata, *et. al.* (1968), membuktikan bahwa faktor II mempunyai aktivitas antioksidan lebih baik dari daidzein dan genistein. Antioksidan ialah senyawa yang dapat mencegah terjadinya oksidasi yaitu reaksi karena adanya oksigen.

Potensi senyawa isoflavon yang lain adalah dapat menurunkan kandungan kolesterol dalam darah atau hipokolesteremik dan terutama pada senyawa faktor-II. Berkaitan dengan sifat ini, efek isoflavon terhadap penurunan tekanan darah dan anti konstiksi pembuluh darah telah dibuktikan (Ziliken, 1987 dalam Nirnama, 1998). 6,7,4' trihidroksi isoflavon (faktor-II) juga berpotensi terhadap antihemolisis atau pecahnya sel-sel darah merah (Ikehata, *et. al.* 1968). Diketahui pula bahwa faktor-II mempunyai aktivitas antihemolisis lebih baik dari daidzein dan genistein (Kasmidjo, 1990 ; Ikehata, *et. al.*, 1968).

Dari sejumlah senyawa isoflavon yang paling berpotensi sebagai antitumor atau antikanker adalah genistein yang merupakan isoflavon aglikon (bebas). Potensi tersebut antara lain menghambat perkembangan sel kanker payudara, sel kanker hati,

kanker prostat (Lamastiniere, dkk., 1997, Hendrich, dkk., 1997 dalam Nirnama, 1998 ; Gaynor and Majeed, 1997 ; Setchell, dkk., 1984 dalam Wuryani, 1997 ; Anderson, 1995 ; Raharjo, 1993 ; Achmad, dkk., 1990).

Senyawa isoflavon juga dikenal sebagai zat yang *adaptogenic* bagi tubuh, yang membantu menjaga kondisi fisiologis tubuh agar tetap normal. Genistein dan daidzein berperan menjaga stabilitas kadar hormon estrogen pada wanita dan hormon testoteron pada laki-laki. Berkaitan dengan peran menjaga kadar hormon estrogen maka juga bermanfaat dalam pencegahan terjadinya osteoporosis terutama pada wanita yang telah mengalami menopause (Gaynor and Majeed, 1997 ; Anderson, 1995 ; Yeong, 1995 ; Raharjo, 1993).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengupayakan peningkatan kandungan senyawa isoflavon di dalam tempe baik secara kualitas maupun kuantitas pada jumlah total kandungan senyawa isoflavon ataupun jumlah kandungan masing-masing senyawa isoflavon. Pada fermentasi tempe, peranan mikroorganisme sangat penting untuk meningkatkan optimasi proses fermentasi. Berdasarkan hasil uji coba diperoleh informasi bahwa inokulasi langsung mikroorganisme pada fermentasi tempe dapat meningkatkan kandungan senyawa isoflavon aglikon, namun inokulasi dalam bentuk inokulum kurang dapat meningkatkan jumlah isoflavon aglikon secara signifikan (Nirnama, 1998).

Siregar dan Pawiroharsono (1995), dalam laporan penelitian tentang formulasi inokulum dan peranannya dalam biotransformasi senyawa isoflavon memiliki pendapat yang lain. Berdasarkan hasil yang diperoleh ternyata terdapat peningkatan yang signifikan pada jumlah total senyawa isoflavon selama fermentasi tempe yang menggunakan inokulum campuran kapang dan penambahan bakteri. Pada umumnya, hasil transformasi senyawa isoflavon pada masing-masing kombinasi inokulum

menunjukkan bahwa konstituen terbesar adalah daidzein diikuti oleh glycitein, genistein dan kandungan terendah adalah faktor-II. Umumnya, penambahan bakteri ke dalam formula inokulum kapang dapat meningkatkan jumlah total senyawa isoflavon faktor-II, daidzein dan glycitein pada tempe.

Wuryani (1998), menyatakan bahwa kadar genistein dalam tempe dipengaruhi oleh spesies kapang yang digunakan dalam fermentasi serta kondisi kebersihan lingkungan proses itu sendiri. Tempe yang dibuat dengan inokulum *R. oligosporus* di laboratorium dengan kondisi proses dikontrol ketat mengandung hampir 14 mg/100 g genistein. Sedang *R. oryzae* hanya menghasilkan tempe berkadar genistein sepertiganya, yaitu 5 mg/100 g.