

KAJIAN PERAN YEAST DALAM PEMBUATAN TEMPE

Study on the Role of Yeast in Tempe Production

Maria Erna Kustyawati¹

ABSTRAK

Walaupun *Rhizopus oligosporus* sebagai kapang utama dalam pembuatan tempe, ternyata bakteri mempunyai fungsi yang sangat penting selama fermentasi tempe, dan diduga yeast juga mempunyai peran dalam pembuatan tempe. Dalam penelitian ini empat jenis yeast (*Saccharomyces boulardii*, *Yarrowia lipolytica*, *Geotrichum candidum*, dan *Aerobasidium pullulans*) yang diketahui sebagai penghasil enzim ekstraseluler lipolitik dan proteolitik digunakan sebagai inokulum bersama dengan *R. oligosporus* dalam fermentasi kedelai untuk pembuatan tempe. Masing masing yeast diinokulasikan secara terpisah bersama dengan *R. oligosporus*. Pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi diikuti dengan melihat unit pembentuk koloni (CFU) dari bakteri, yeast, dan kapang dilakukan pada saat preinkubasi kedelai yang telah diinokulasi dan pada lama fermentasi 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 48 jam. Hasilnya bahwa *S. boulardii*, *G. candidum*, dan *Y. lipolytica*, mampu tumbuh bersama bakteri alami tempe dan *R. oligosporus* sampai pada populasi masing-masing 10^7 , 10^8 , 10^9 cfu/g, pertumbuhan bakteri sampai 10^9 - 10^{10} cfu/g. Kandungan asam folat ($\mu\text{g}/100\text{g}$) dalam tempe dengan *R. oligosporus* saja dan penambahan dengan *S. boulardii*, *G. candidum*, *Y. lipolytica* adalah berturut-turut 72,76; 89,28; 62,45; 19,62. Kandungan daidzein (%) adalah 0,77; 0,78; 0,76; 0,67. Kandungan vit B_{12} (mcg/100g) adalah 3,79; 3,95; 3,76; 3,92.

Kata kunci: Tempe, *Saccharomyces boulardii*, *Yarrowia lipolytica*, *Geotrichum candidum*, *Aerobasidium pullulans*

ABSTRACT

While filamentous fungi *R. oligosporus* was the main microorganism in the tempe production, the growth of bacteria was found to take a role in the tempe fermentation and yeasts might have an important contribution to the improvement of the tempe quality. In this study four yeasts of extracellular enzymatic producer, of which: *Saccharomyces boulardii*, *Yarrowia lipolytica*, *Geotrichum candidum*, and *Aerobasidium pullulans* were inoculated individually with the mold *Rhizopus oligosporus* into soybeans fermentation for tempe production. The growth of microorganisms including the colony forming unit of bacteria, yeasts, and fungi were analyzed on cultural plates at the fermentation time of 0, 12, 24, 36, and 48 h. The result showed that *S. boulardii*, *Y. lipolytica*, *G. candidum*, were grown with natural bacteria dan *R. oligosporus* to the population of 10^7 , 10^8 , 10^9 cfu/g, respectively, bacteria was grown up to 10^9 - 10^{10} cfu/g as expected. Folic acid contents ($\mu\text{g}/100\text{g}$) of tempe inoculated with *R. oligosporus* only, and with addition of *S. boulardii*, *G. candidum*, and *Y. lipolytica* were 72,76; 89,28; 62,45; 19,62 respectively. Daidzein contents (%) were 0,77; 0,78; 0,76; 0,67, respectively. Vitamin B_{12} contents were 3,79; 3,95; 3,76; 3,92, respectively.

Keywords: Tempe, *S. boulardii*, *Y. lipolytica*, *G. candidum*, *A. pullulans*.

PENDAHULUAN

Tempe adalah makanan hasil fermentasi yang dibuat dari kedelai diinokulasi dengan jamur *Rhizopus oligosporus* dalam fermentasi padat (DeReu dkk., 1994). Fermentasi tempe merupakan fermentasi dua tahap yaitu fermentasi oleh aktivitas bakteri yang berlangsung selama proses perendaman

kedelai, dan fermentasi oleh kapang yang berlangsung setelah diinokulasi dengan kapang. Komposisi dan pertumbuhan mikroflora tempe selama fermentasi sangat menarik untuk dicermati karena ternyata tidak hanya *R. oligosporus* yang berperan. Mulyowidarso dkk., (1989) yang telah mempelajari secara mendalam tentang ekologi mikrobial selama perendaman kedelai untuk pembuatan tempe menemukan bahwa

¹ Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jl. S. Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung

bakteri merupakan mikroflora yang secara signifikan selalu tumbuh selama pembuatan tempe dan mempunyai peran yang penting. Walaupun *R. oligosporus* berperan utama dalam pembuatan tempe, yeast kemungkinan juga dapat tumbuh selama fermentasi tempe. Sehingga analisis mikrobiologis sangat perlu diungkapkan lebih mendetil agar keterlibatan setiap jenis mikroorganisme dalam pembuatan tempe dapat diketahui dengan jelas.

Yeast (ragi) sudah lama diduga ikut serta dalam fermentasi tempe (Steinkraus, 1982, 1995; Nout dkk., 1987; Mulyowidarso dkk., 1990). Tetapi peranan yeast dalam pembuatan tempe belum mendapatkan perhatian yang serius (Nout dan Kiers, 2005). Beberapa jenis yeast telah ditemukan dalam tempe yang dipasarkan dan selama perendaman kedelai untuk pembuatan tempe (Samson dkk., 1987; Mulyowidarso dkk., 1989) tetapi yeast yang dalam perendaman kedelai tidak ditemukan dalam produk tempunya. Oleh karena itu dalam penelitian ini empat spesies yeast terpilih yaitu *Saccharomyces boulardii*, *Yarrowia lipolytica*, *Aerobasidium pullulans* dan yeast yang menyerupai kapang *Geotrichum candidum*, masing-masing akan diinokulasikan bersama dengan *Rhizopus oligosporus* dalam kedelai untuk fermentasi tempe. Ke empat yeast tersebut merupakan penghasil enzim ekstraseluler lipolitik dan proteolitik yang sangat tinggi (Deshpande dkk., 1992; Strauss dkk., 2001; Buzzini dan Martini, 2002). Interaksi pertumbuhannya dengan kapang dan bakteri selama fermentasi akan diamati. Bila yeast mampu tumbuh dan berinteraksi dengan mikroflora lain selama fermentasi maka kemungkinan yeast mempunyai peran dalam meningkatkan kualitas nutrisi dan flavor tempe. Yeast diharapkan mempunyai kontribusi dalam memperbaiki kualitas dan flavor tempe, sehingga potensi yeast dalam industri pembuatan tempe perlu diungkap secara tuntas.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia dan Pengolahan, laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, UNILA dan Laboratorium Pengujian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian di Bogor.

Kedelai jenis impor diperoleh dari sentra penjualan kedelai di Bandar Lampung. Ragi tempe dengan merek dagang RAPRIMA dibeli dari LIPI Bandung. Media agar produksi Oxoid meliputi Plate Count Agar (PCA), Malt Extract Agar (MEA), 0,1 % Peptone water, cycloheximide, oxytetracycline, chloramphenicol, dan biphenyl. Biakan murni yeast yang terdiri dari *Saccharomyces boulardii*, *Yarrowia lipolytica*, *Aerobasidium pullulans* dan khamir yang menyerupai kapang

(*yeast like fungi*) *Geotrichum candidum* (dibeli di Culture Center, UNSW, Australia). *Rhizopus oligosporus* diisolasi dari tempe yang dibuat dengan ragi RAPRIMA.

Pembuatan Tempe

Pembuatan tempe mengikuti prosedur Mulyowidarso dkk., (1989) yang dimodifikasi oleh penulis pada beberapa tahapan prosesing sebagai berikut, kedelai 300 g direndam dalam air bersih semalam pada suhu ruang, kemudian dihilangkan kulit arinya secara manual. Selanjutnya kedelai direbus dalam air bersih dengan perbandingan 1:3 (kedelai:air) selama 30 menit, ditiriskan dan dikering-anginkan sampai suhu ruang dan siap diinokulasi dengan biakan tertentu. Inokulasi dilakukan sebagai berikut: 100g berat basah kedelai diinokulasi dengan 1ml suspensi 10^7 spora/ml *R. oligosporus* dan 1ml sel suspensi 10^7 sel/ml khamir tertentu. Selanjutnya kedelai yang telah diinokulasi dikemas dalam kemasan plastik yang telah dilubangi secara teratur untuk tujuan aerasi dan diinkubasi pada suhu 32 °C selama 48 jam. Enam jenis tempe dengan penambahan yeast yang berbeda dihasilkan pada penelitian ini, yaitu (1) tempe yang diinokulasi dengan ragi tempe, (2) tempe yang diinokulasi dengan inokulum murni *R. oligosporus* (SRH), (3) tempe yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* + *S. boulardii* (SBRH), (4) tempe yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* + *Y. lipolytica* (YRH), (5) tempe yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* + *G. Candidum* (GRH), dan (6) tempe yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* + *A. Pullulans* (AuRH). Kedelai tanpa inokulasi sebagai kontrol negatif (Soy). Pembuatan tempe dibuat secara duplo.

Analisis Mikrobiologis

Setiap tempe yang dibuat dilakukan analisis total jumlah bakteri, yeast dan kapang pada lama fermentasi 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 48 jam, dengan menumbuhkan biakan pada media yang sesuai. Masing masing tempe diambil sampelnya dan dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-8} secara duplo. Pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi kedelai meliputi unit pembentuk koloni (CFU) dari bakteri, yeast, dan kapang dilakukan pada saat preinkubasi kedelai yang telah diinokulasi dan selama fermentasi kedelai. Sebanyak 15 g sampel dicampur dengan 135 ml 0,1 % peptone water, dihomogenkan dengan stomaker selama 5 menit, selanjutnya dibuat seri pengenceran sampai konsentrasi tertentu. Kemudian diambil satu ml dari pengenceran tertentu dan dilakukan penanaman mikroorganisme dengan metode cawan tebar permukaan (surface plate count) pada media agar padat yang sesuai. Inkubasi dilakukan pada suhu 32 °C untuk menumbuhkan bakteri dan kapang, dan 30 °C untuk menumbuhkan yeast, selama 24-48 jam.

Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk grafik.

Pengukuran pH

Pengukuran pH menggunakan pH meter model 501 yang diproduksi oleh Crison, Barcelona, Spanyol. Semua sampel yang telah dihomogenisasi sebelum dilakukan penanaman (plating) diukur pHnya. Pengukuran dilakukan tiga kali untuk menguji keakurasian selanjutnya diambil reratanya.

Analisis Kimia

Analisis kimiawi meliputi kandungan isoflavon (genistein, daidzein, glisitein), vitamin B12, dan asam folat dilakukan di laboratorium pengujian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian di Bogor.

Isoflavon. Ekstraksi dan kuantifikasi isoflavon ditentukan dengan teknik HPLC mengikuti prosedur yang dijelaskan oleh Nakajima dkk., (2005). Larutan standard daidzin, gensitin dan aglikon-aglikon nya digunakan sebagai standard yang diketahui.

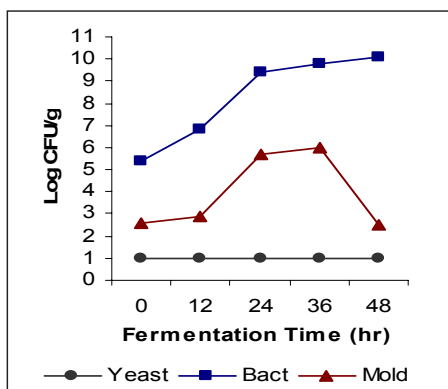
Vitamin B₁₂. Analisa vitamin B₁₂ ditentukan dengan teknik HPLC mengikuti prosedur yang dijelaskan oleh Keuth dan Bisping (1994).

Asam folat. Analisa asam folat dengan teknik HPLC mengikuti prosedur yang dilakukan oleh laboratorium pengujian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.

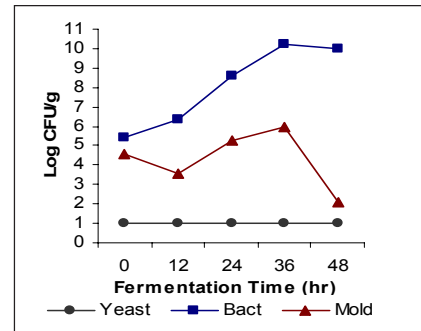
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Mikroorganisme

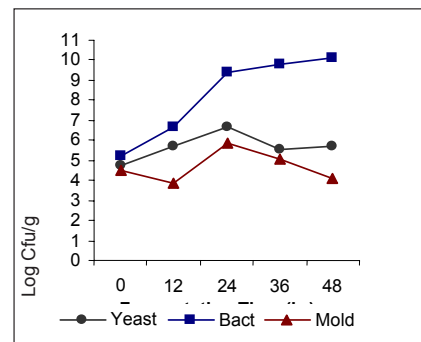
Pertumbuhan mikroflora tempe ternyata tidak hanya didominasi oleh kapang. Karena bakteri tumbuh secara signifikan dan yeast tertentu juga mampu tumbuh dalam fermentasi tempe. Sehingga analisis mikrobiologis sangat perlu diungkapkan lebih mendetil agar keterlibatan setiap jenis mikroorganisme dalam pembuatan tempe dapat diketahui dengan jelas. Gambar 1-6 menyajikan kurva pertumbuhan bakteri, kapang dan yeast pada prefermentasi dan selama fermentasi kedelai oleh inokulum yang sesuai.



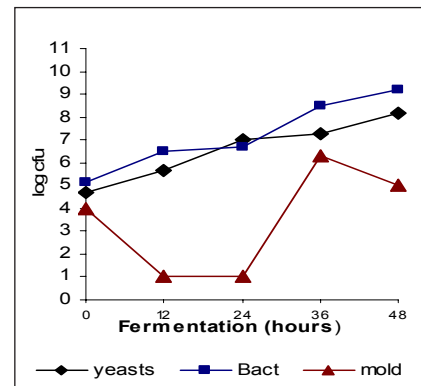
Gambar 1. Pertumbuhan yeast, bakteri dan kapang selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan Ragi Tempe



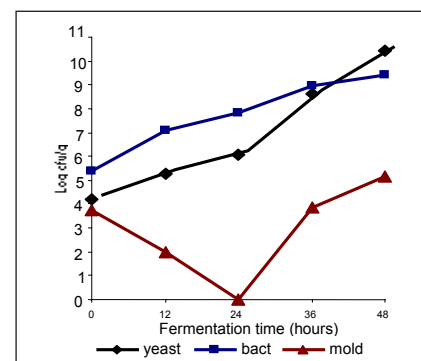
Gambar 2. Pertumbuhan yeast, bakteri kapang selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan Ragi Tempe yang diinokulasi dengan *R. oligosporus*



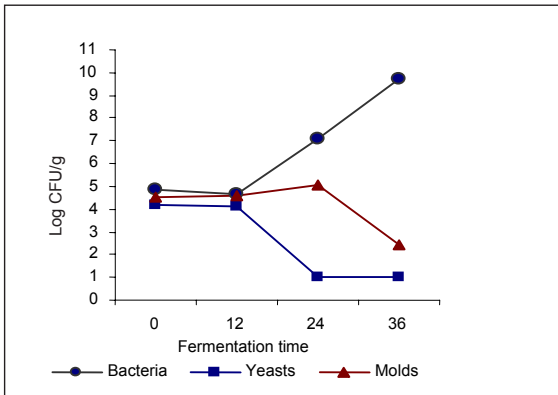
Gambar 3. Pertumbuhan yeast, bakteri dan Kapang selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan *S. bouldarii* dan *R. oligosporus*



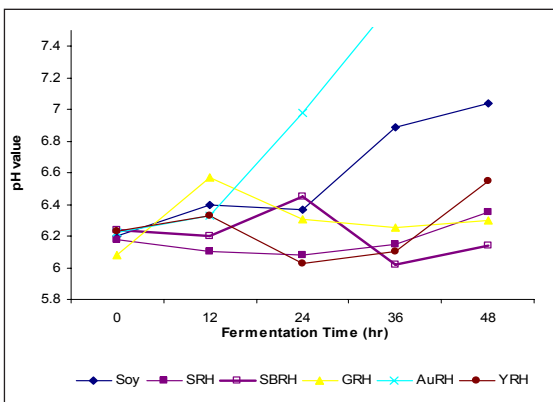
Gambar 4. Pertumbuhan yeast, bakteri dan kapang selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* dan *Y. lipolytica*



Gambar 5. Pertumbuhan yeast, bacteria, dan kapang selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan *G. candidum* dan *R. oligosporus*



Gambar 6. Pertumbuhan yeast, bakteri dan kapang selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan *A.pullulans* dan *R.oligosporus*



Gambar 7. pH selama fermentasi kedelai yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* dan yeast

Pada penelitian ini ditemukan bahwa yeast dapat tumbuh bersama dengan *R.oligosporus*, dan pertumbuhannya dapat mendorong pertumbuhan kapang pada tempe dan mengubah penampakan dan flavor tempe. Pertumbuhan bakteri tidak dipengaruhi oleh yeast. Yeast merupakan bagian dari mikroflora fermentasi pangan yang perannya bervariasi tergantung jenisnya. Umumnya yeast berkontribusi pada interaksi antara mikroorganisme, perubahan tekstur dan bioesintesa komponen flavor (Fleet, 1990; Welthagen dan Viljoen, 1999). Gambar 1 menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan yeast pada tempe yang dibuat dengan inokulum ragi tempe. Bakteri tumbuh pada populasi 10^5 - 10^9 cfu/g. Gambar 2 menunjukkan bahwa *R. oligosporus* murni diinokulasikan kedalam kedelai, dan terlihat pola pertumbuhan mikroorganisme yang serupa dengan pola pertumbuhan mikroorganisme pada Gambar 1. Pertumbuhan sigmoidal *R. oligosporus* sampai 36 jam fermentasi dan selanjutnya menurun di akhir fermentasi.

Pada Gambar 3 menunjukkan bahwa terdapat pertumbuhan *S. bouldardii* pada tempe yang diinokulasi dengan penambahan yeast *S. bouldardii*, yaitu sampai pada populasi 10^7 cfu/g. Pertumbuhan *R. oligosporus* serupa dengan per-

tumbuhan *S. bouldardii* dengan populasi 10^3 cfu/g sampai akhir fermentasi yaitu 48jam. *S. bouldardii* mempunyai pertumbuhan mengikuti kapang *R. oligosporus* yang kemungkinan terdapat simbiosis yang saling menguntungkan dalam hal ketersediaan nutrisi antar keduanya. Pada fermentasi kedelai dengan *R. oligosporus* dan *S. bouldardii*, menghasilkan tempe dengan aroma harum-manis yang menutupi aroma kedelai pada umumnya karena yeast mempunyai aktivitas proteolitik dan lipolitik yang sangat tinggi sehingga mampu menghidrolisa protein maupun lemak menghasilkan asam amino, ester, asam lemak, etanol, acetaldehid, ethil acetate dan ethyl butyrate yang merupakan komponen flavor dan aroma (Villijoen dan Greyling, 1995). Yeast juga mampu menstimuli pertumbuhan mikroba lain dengan menghasilkan faktor tumbuh. *Saccharomyces bouldardii* adalah jenis *S. cerevisiae* yang mempunyai sifat probiotik (Lourens-Hattingh and Viljoen, 2001; Sindhu and Khetarpaul, 2004). Kandungan alkohol dalam tempe tidak diamati karena tempe yang dihasilkan tidak menunjukkan aroma yang beralkohol. Peningkatan nutrisi dalam tempe dengan penambahan *S. bouldardii* sangat besar kemungkinannya, sehingga perlu diamati. Potensi *S. bouldardii* dalam tempe sebagai agensia probiotik sangat menarik untuk dikaji lebih lanjut.

Berbeda dengan *S. bouldardii*, pertumbuhan *Y. lipolytica* (Gambar 4) dan *G. candidum* (Gambar 5) mempunyai pola pertumbuhan seirama dengan bakteri yang diduga *Bacillus sp* (dengan uji morfologi dan Pewarnaan Gram). Dalam fermentasi kedelai dengan *Y. lipolytica* dan *R. Oligosporus* (Gambar 4), yeast dapat tumbuh bersama *R. oligosporus* sampai akhir fermentasi, walaupun terjadi penundaan pertumbuhan *R. oligosporus*. Tempe yang dihasilkan mempunyai aroma buah (fruity), karena *Y. lipolytica* dapat memproduksi γ -Decalactone yang mengeluarkan aroma buah seperti strawberi, apricot dan peach (Wache dkk., 2003). Tetapi penggunaan *Y. ipolytica* dalam fermentasi tempe memerlukan pemikiran lebih mendalam, karena aktivitas enzim lipase dan protease yeast ini sangat bervariasi sehingga seleksi spesies sangat penting dilakukan (Guerzoni dkk., 1993; Suzzi dkk., 2001). *Y. lipolytica* tumbuh sampai populasi 10^8 cfu/g dan pertumbuhan bakteri meningkat sejalan dengan pertumbuhan yeast, sedang kapang *R. oligosporus* mengalami pertumbuhan terlambat pada awal inokulasi sampai 24 jam dan selanjutnya tumbuh sampai populasi 10^4 cfu/g.

Pada Gambar 5, penambahan dengan *G. Candidum* menunjukkan pertumbuhan yang sangat baik sampai pada populasi 10^4 - 10^9 cfu/g, demikian juga bakteri dengan pola pertumbuhan yang meningkat. Pertumbuhan *R. oligosporus* terhambat dan menunjukkan fase lag sampai 24 jam, tetapi selanjutnya meningkat sampai populasi 10^5 cfu/g pada akhir fermentasi. *G. candidum* adalah jenis yeast yang menyerupai kapang, mempunyai miselium yang tidak berseptate sehingga

sering disebut *yeast-like fungi* (Boutrou dan Gueguen, 2005). Enzim yang diproduksi oleh yeast ini mampu menghidrolisa lemak dan protein dan menghasilkan komponen precursor aroma, misalnya komponen volatile sulfur (VSCs, volatile sulfur compounds), dan menghidrolisa α dan β -kasein yang dapat meningkatkan kadar asam amino (Berger dkk., 1999; Arfi dkk., 2003; Boutrou dkk., 2005). Sehingga kemungkinan *G. candidum* sebagai penyumbang aroma dalam tempe dapat dikaji lebih mendalam.

Gambar 6 menunjukkan pola pertumbuhan mikroorganisme yang berbeda dengan pola pertumbuhan mikroorganisme pada tempe yang lain. *A. pullulans* berada pada fase lag sampai 24 jam dan selanjutnya mati. Demikian pula pola pertumbuhan *R. oligosporus*, kapang pada fase lag dan mati. Tetapi bakteri dapat bertahan sampai 24 jam dan mengalami pertumbuhan sampai akhir fermentasi. Fermentasi kedelai yang diinokulasi dengan *A. pullulans* tidak menghasilkan tempe. Kedelai busuk dan lengket kemungkinan oleh senyawa yang dihasilkan oleh *A. pullulans*. Senyawa tersebut juga diduga menghambat pertumbuhan kapang dengan tidak tersedianya oksigen yang cukup. *Aerobasidium pullulans* dikenal sebagai yeast hitam (“Black yeast”) karena memproduksi melanin, tergolong mikroorganisme terapan

penting karena produksinya berbagai enzim sehingga memungkinkan untuk dapat tumbuh dalam berbagai medium, dan dapat juga tumbuh dalam medium yang mengandung fenol, cresol, dan lignin (Deshpande dkk., 1992). Walaupun demikian, *A. pullulans* tidak dapat tumbuh dalam fermentasi kedelai dan tidak menghasilkan tempe karena *R. oligosporus* tidak dapat tumbuh. Kedelai berwarna kehitaman, agak lengket dan berbau tanah. Ada beberapa kemungkinan penyebabnya antara lain konsentrasi *A. pullulans* yang tinggi 10^5 cfu/g, sel lisis yang mungkin menghambat *R. oligosporus*, atau pertumbuhan bakteri alami yang sangat tinggi.

Nilai pH pada awal fermentasi dan akhir fermentasi tidak menunjukkan perbedaan atau tidak terpengaruh oleh inokulasi dengan penambahan yeast kecuali *A. pullulans*. Karena dalam fermentasi tempe tidak terdapat perombakan senyawa yang menghasilkan asam sehingga nilai pH tidak berubah. Tetapi nilai pH ini lebih rendah dari nilai pH kedelai tanpa inokulan (Gambar 7).

Analisis Kimiawi

Analisis Isoflavon, asam folat dan vitamin B₁₂ dalam tempe yang difermentasi dengan penambahan yeast disajikan dalam Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Konsentrasi kandungan isoflavon dalam bentuk aglikon Genistein, Daidzein, dan Glysitein; Vit B₁₂ dan asam folat, dalam tempe yang difermentasi dengan penambahan yeast.

No.	Jenis inokulum tempe	Genistein (%)	Daidzein (%)	Glysitein (%)	Vit B12 (Mcg/100g)	Asam folat (µg/100g)
1.	Kedelai saja tanpa inokulum	0,29	0,71	0,23	3,68	69.23
2.	Kedelai+ <i>R. oligosporus</i>	0,41	0,77	0,32	3,79	72.76
3.	Kedelai+ <i>R. oligosporus</i> + <i>S. bouldarii</i>	0,38	0,78	0,34	3,95	89.28
4.	Kedelai+ <i>R. oligosporus</i> + <i>G. candidum</i>	0,38	0,76	0,34	3,76	62.45
5.	Kedelai+ <i>R. oligosporus</i> + <i>Y. lipolytica</i>	0,36	0,67	0,27	3,92	19.62
6.	Kedelai+ <i>R. oligosporus</i> + <i>A. pullulans</i>	0,38	0,66	0,37	3,58	20.21

Tempe (tempe kedelai) merupakan sumber isoflavon yang sangat potensial. Isoflavon dalam tempe merupakan bentuk isoflavon bebas atau aglikon genistein, daidzein, dan glisitein karena telah mengalami hidrolisis selama fermentasi. Mikroba seperti bakteri, algae, lumut, dan jamur tidak mampu mensintesis senyawa tersebut tetapi mikroba tertentu mampu melakukan transformasi. Dari data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan daidzein dalam semua jenis tempe lebih banyak daripada kedua aglikon yang lain. Jumlah aglikon

dalam setiap jenis tempe tidak dipengaruhi oleh jenis yeast yang ditambahkan. Sehingga yeast atau mikroba lain yang tumbuh selama fermentasi tidak mempengaruhi kandungan isoflavon. Walaupun mikroba tidak mampu mensintesa isoflavon, biosintesa Faktor-II dapat dihasilkan melalui demetilasi glisitein oleh bakteri *Brevibacterium epidermis* dan *Micrococcus luteus* atau melalui reaksi hidroksilasi daidzein. Sehingga kemungkina yeast mampu melakukan transformasi selama fermentasi perlu dikaji lebih mendalam.

Sebagai sumber vitamin B yang sangat potensial, tempe mengandung beberapa jenis vitamin antara lain vitamin B₁ (tiamin), B₂ (riboflavin), asam pantotenat, asam nikotinat (niasin), vitamin B₆ (piridoksin), dan B₁₂ (sianokobalamin). Vitamin B₁₂ umumnya terdapat pada produk-produk hewani dan tempe menjadi satu-satunya sumber vitamin yang potensial dari bahan pangan nabati. Vitamin ini tidak diproduksi oleh kapang tempe, tetapi oleh bakteri kontaminan seperti *Klebsiella pneumoniae* dan *Citrobacter freundii* (Keuth and Bisping, 1994). Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan vitamin B₁₂ tak dipengaruhi oleh penambahan jenis yeast. Sehingga kemungkinan yeast kurang mempunyai kontribusi pada pembentukan vitamin B₁₂ dalam tempe, walaupun yeast *S. verevisiae* dalam adonan roti mempunyai mampu meningkatkan kandungan vitamin B.

Asam folat adalah bentuk dari vitamin B (B₉) yang larut dalam air. Asam folat terdapat alami dalam makanan seperti bayam, lobak cina, kacang kering dan pea, sereal, dan biji bunga matahari. Pada penelitian ini penambahan ke empat jenis yeast ke dalam fermentasi tempe mempunyai kontribusi dalam meningkatkan kandungan asam folat, kecuali *G. candidum*. Tempe yang dibuat dengan kultur *R. oligosporus* mengandung asam folat 72,76µg/100g berat tempe kering, sedang tempe yang dibuat dengan *R. oligosporus* dan yeast *S. boulardii*, *Y. lipolytica*, dan *A. pullulans* mengandung asam folat berturut-turut 89,28; 19,62; dan 20,207 ug/100g berat tempe kering. Tetapi besarnya kandungan folat yang ditemukan pada penelitian ini lebih kecil dari kandungan asam folat dalam tempe mentah yaitu 416,4 ug/100g berat kering tempe hasil penelitian Ginting dan Arcot (2004). Hal ini kemungkinan disebabkan beberapa faktor, antara lain jenis kedelai, proses pembuatan tempe, dan metode yang yang dipakai. Fermentasi yang melibatkan aktivitas yeast diketahui dapat meningkatkan kandungan asam folat pada beberapa produk makanan terfermentasi, misalnya adonan asam (sourdough) atau pada produk roti (Kariluoto dkk., 2004 ; Kariluoto dkk., 2006), walaupun mekanisme peran yeast belum diketahui secara detil. Pada fermentasi kedelai untuk membuat tempe ternyata penambahan yeast juga berperan dalam meningkatkan kandungan asam folat, dan penambahan *S. boulardii* menghasilkan tempe yang mengandung asam folat lebih baik dari pada tempe dengan penambahan yeast yang lain yaitu *G. candidum*, *Y. lipolytica*, dan *A. pullulans*. Sehingga peran *S. boulardii* sebagai penyumbang asam folat dalam fermentasi makanan perlu dikaji lebih lanjut.

KESIMPULAN

Yeast tidak terdapat dalam tempe yang diinokulasi dengan ragi tempe maupun dengan *R. oligosporus* murni. Yeast dapat tumbuh bersama bakteri indigenus dan *R. oligosporus* selama fermentasi tempe. Yeast tertentu mempengaruhi kandungan

komponen bioaktifaiddzein, asam folat maupun vitamin B₁₂. Tempe yang difermentasi dengan penambahan *S. boulardii* mengandung asam folat paling baik = 89.28 µg/100g, vit B12= 3,95 mcg/100g, daidzein= 0,78 %. Tempe ini mempunyai tekstur kompak, diselimuti oleh miselium berwarna putih, dan mudah diiris. Inokulasi dengan yeast tertentu dan *R. oligosporus* dalam fermentasi kedelai menghasilkan tempe dengan aroma tertentu yang dapat menutupi aroma kedelai pada tempe umumnya. Kontribusi yeast dalam pembentukan aroma maupun komponen pembentuk aroma perlu diteliti lebih lanjut.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Prof. G. H. Fleet di Department of Chemical Engineering and Industrial Chemistry, UNSW, Sydney, atas segala bantuannya. Kepada Uly alumni Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian UNILA yang telah membantu membuat tempe dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arfi, K., Amarita F., Spinnler, H.E. dan Bonnarme, P. (2003). Catabolism of volatile sulfur compounds precursors by *Brevibacterium* and *Geotrichum candidum*, two microorganisms of the cheese ecosystem. *Journal of Biotechnology* **105**: 245-253.
- Berger, C., Khan, J.A., Molimard, P., Martin, N. dan Spinnler, H.E. (1999). Production of sulfur flavors by ten strains of *Geotrichum candidum*. *Applied and Environmental Microbiology* **65**: 5510-5514.
- Boutrou, R., Kerriou, L. dan Gassi, J.Y. (2005). Contribution of *Geotrichum candidum* to the proteolysis of soft cheese. *International Dairy Journal* **24**: 2005.
- Boutrou, R. dan Gueguen, M. (2005). Interest in *Geotrichum candidum* for cheese technology. *International Journal of Food Microbiology* **102**: 1-20.
- Buzzini, P. dan Martini, A. (2002). Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. *Journal of Applied Microbiology* **93**: 1020-1025.
- Deshpande, M.S., Rale, V.B. dan Lynch, J.M. (1992). *Aureobasidium pullulans* in applied microbiology: A Status report review. *Enzyme and Microbial Technology* **14**: 514-527.
- De Reu, J.C., Ramdaras, D., Rombouts F.M. dan Nout, M.J.R. (1994). Changes in soya bean lipids during tempe fermentation. *Food Chemistry* **50**: 171-175.

- Fleet, G.H. (1990). Yeasts in dairy products. *International Journal of Applied Bacteriology* **68**: 199-121.
- Fickers, P., Benetti, P.H., Wache, Y., Marty, A., Mauersberger, S., Smit, M.S. dan Nicaud, J.M. (2005). Hydrophobic substrate utilization by yeast *Yarrowia lipolytica*, and its potential applications. *FEMS Yeast Research* **5**: 527-543.
- Ginting, E. dan Arcott, J. (2004). High-performance liquid chromatographic determination of naturally occurring folates during tempe preparation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 7752-7758.
- Guerzoni, M., Lanceotti, R. dan Marchetti. (1993). Survey of the physiological properties of the most frequent yeasts associated with commercial chilled foods. *International Journal of Food Microbiology* **17**: 329-341.
- Hattingh, L. dan Viljoen. (2001). Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. *Food Research International* **34**: 791-796.
- Kariuloto, S., Aittamaa, M., Korhola, H., Salovaara, L., Vahteristo dan Piironen, V. (2006). Effects of yeasts and bacteria on the level of folates in rye sourdoughs. *International Journal of food microbiology* **106**:137-143
- Kariuloto, S., Aittamaa, M., Korhola, H., Salovaara, L., Vahteristo. dan Piironen, V. (2004). Effect of backing method and fermentation on folate content of rye and wheat breads. *Cereal Chemistry* **81**: 134-139.
- Keuth, S. dan Bisping, B. (1994). Vitamin B12 production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumonia* during tempe fermentation and proof of enterotoxin absence by PCR. *Applied and Environmental Microbiology* **60**: 1495-1499.
- Mulyowidarso, R.K., Fleet, G.H. dan Buckle, K.A. (1989). The microbial ecology of soybean soaking for tempe production. *International Journal of Food Microbiology* **8**: 35-46.
- Mulyowidarso, R.K, Fleet, G. H. dan Buckle K.A. (1990). Association of bacteria with the fungal fermentation of soybean tempeh. *Journal of Applied Bacteriology* **68**: 43-47.
- Nakajima, N., Nozaki, K., Ishihara, A., Ishikawa dan Tsuji, H. (2005). Analysis of isoflavones content in tempeh, a fermented soybeans, and preparation of a new isoflavones-enriched tempeh. *Journal of Bioscience and Biotechnology* **100**: 685-687.
- Nout, N.J.R., Beernink, G. dan Bonantsvanlaarhoven, T.M.G. (1987). Growth of *Bacillus cereus* in soyabean tempe. *International Journal of Food Microbiology* **4**: 293-301.
- Nout, M.J.R. dan Kiers, J.L. (2005). Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. *Journal of Applied Microbiology* **98**: 789-805.
- Samson, R.A., Kooij, V. dan deBoer, E. (1987). Microbiological quality of commercial tempeh in the Netherlands. *Journal of Food Protection* **50**: 92-94.
- Steinkraus, K.H. (1982). *Fermented Foods and Beverages: The Role of Mixed Cultures Communities*. Vol. 1 Edited by A.T. Bull and J. H. Slater, Academic Press. Pp 407-449
- Steinkraus, K.H. (1995). *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. 2nd edition, Marcel Dekker Inc. New York. Pp 11-110.
- Strauss, M.L.A., Jolly, N.P., Lamrechts, M.G. dan Vanrensburg, P. (2001). Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *Journal of Applied Microbiology* **91**: 182-190.
- Suzzi, G., Lanorte, M.T., Galgano, F., Andrighetto, C., Lombardi, A. (2001). Proteolytic, lipolytic and molecular characterization of *Yarrowia lipolytica* isolated from cheese. *International Journal of Food Microbiology* **69**:69-77.
- Sindhu dan Khetarpaul (2004). Development, acceptability and nutritional evaluation of an indigenous food blend fermented with probiotic organisms. *Nutrition and Food Sciences* **35**: 20-27.
- Villjoen, B.C. dan Greyling, T. (1995). Yeast associated with cheddar and gouda making. *International Journal of Food Microbiology* **28**: 79-88.
- Wache, Y., Aquedo, M., Nicaud, J.M. dan Berlin, J.M. (2003). Catabolism of hydroxyacids and biotechnological production of lactones by *Y. lipolytica*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **61**: 393-404.
- Welthagen, J.J. dan Viljoen, B.C. (1999). The isolation and identification of yeasts obtained during the manufacture and ripening of cheddar cheese. *Food Microbiology* **16**: 63-73.