# BAB I

# PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Tempe merupakan makanan tradisional khas dan telah dikenal lama di Indonesia. Dalam SNI 3144 - 2009 tempe didefinisikan sebagai produk makanan hasil fermentasi biji kedelai oleh jamur tertentu, berbentuk padatan kompak, berbau khas serta berwarna putih atau sedikit keabu-abuan, dan beraroma khas tempe. Salah satu yang mendukung popularitas tempe di kalangan internasional adalah kandungan gizi tempe yang cukup tinggi. Berdasarkan kandungan nutrisi makro pada tempe, 100 g tempe segar dapat berkontribusi pada 16.9-17.9 g protein, 20-20.1 g lemak, dan 21.5-27.6 g karbohidrat dengan energi sebesar 350.5-380.8 kalori (Efriwati dan Nuraida 2013).

Menurut Moelyowidarso (1988) meskipun mikroorganisme utama pada fermentasi tempe adalah jamur, banyak ditemukan bakteri dan yeast pada saat fermentasi tempe. Di antara bakteri tersebut terdapat bakteri proteolitik seperti *Bacillus* sp.dan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* sp, *Pediococcus* sp, *Streptococcus.* Keterlibatan bakteri asam laktat yang muncul pada saat fermentasi tempe dapat menghambat bakteri pathogen. Menurut Nout, dkk,. (2005) tempe yang melalui proses pengasaman terlebih dahulu, mampu menekan pertumbuhan *Bacillus cereus.* Sehingga diduga bakteri asam laktat dapat berkontribusi terhadap penghambat laju kerusakan tempe yang diakibatkan oleh bakteri proteolitik dan dapat memperpanjang masa simpan tempe. Di sisi lain bakteri proteolitik memiliki kemungkinan mendegradasi protein menjadi asam amino, dan mungkin



http://repository.unimus.ac.id

juga dihasilkan amina, sehingga dapat mempengaruhi kecepatan fermentasi tempe ke arah fermentasi lanjut dan memperpendek masa simpan tempe.

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme penghasil enzim yang paling banyak digunakan sebagai sumber enzim. Bakteri lebih dianggap menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang relatif murah dan mampu menghasilkan enzim (Akhdiya, 2003).

Enzim adalah molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh. Enzim pemecah protein atau protease sangat penting dalam proses pencernaan untuk memecah ikatan peptida dari protein yang dikonsumsi menjadi asam-asamamino yang mudah diabsorpsi. Di dalam dunia medis enzim protease digunakan sebagai terapi untuk pengobatan tumor, radang, kelainan darah dan pengaturan kekebalan. Selain itu, karena protein diperlukan untuk membawa kalsium yang terikat pada protein dalam darah, kekurangan protease dapat menyebabkan artritis, osteoporosis dan penyakit-penyakit lain yang berkaitan dengan kekurangan kalsium. Karena kalsium diubah menjadi glukosa, kekurangan protein yang dicerna tubuh akan menyebabkan kemurungan, ketidak-stabilan suasana hati dan mudah tersinggung. Protease juga mampu mencerna serpihan-serpihan yang tidak diinginkan dalam darah termasuk bakteri dan virus. Oleh karena itu, orang yang kekurangan protease kekebalannya akan menurun sehingga ia lebih rentan terhadap infeksi bakteri,virus dan jamur (Naiola dkk., 2011).

Protease adalah enzim yang berperan dalam reaksi biokatalis yang menyebabkan pemecahan protein. Enzim protease dapat dihasilkan oleh tanaman,

http://repository.unimus.ac.id

hewan maupun mikroorganisme seperti bakteri. Indonesia merupakan salah satu negara yang telah memanfaatkan enzim protease dalam bidang industri. Protease digunakan dari berbagai aplikasi industri seperti detergen, farmasi, produk-produk kulit dan produk-produk makanan (Fatoni dkk., 2008).

Hasil penelitian Subagio (2002), menjelaskan bahwa hasil hidrolisis tempe oleh enzim protease menghasilkan peptida-peptida pendek yang mempunyai rasa gurih. Penelitian ini membawa pada pemikiran bahwa hasil hidrolisat tempe oleh enzim protease berpotensi dibuat sebagai bahan penyedap rasa pengganti monosodium glutamat (MSG).

Untuk menentukan kemampuan mikroorganisme dalam mensekresikan protease yang dapat mendegradasikan protein, maka pada medium disertakan susu skim yang mengandung kasien. Kasein merupakan protein utama susu, suatu mikromolekul yang tersusun atas sub unit asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Kasein berfungsi sebagai substrat bagi enzim protease. Pada umumnya bakteri proteolitik adalah bakteri dari genus *Bacillus*,*Pseudomonas*, *Proteus Streptobacillus*, *Staphylococcus*,dan *Streptococcus* (Kuswytasari dkk., 2012).

Identifikasi 16S rRNA dapat dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan suatu metode molekuler untuk membuat salinan segmen spesifik dari suatu DNA. Metode ini jauh lebih cepat daripada pengklon gen dengan DNA plasmid atau DNA faga dan seluruhnya dilakukan *in vitro* (Campbell, 2002). Gen pengkode 16S rRNA terdapat bagian penyimpan yang berguna untuk mendisain primer universal PCR yang mampu memperbanyak

http://repository.unimus.ac.id

beberapa fragmen gen 16S rRNA dari semua bakteri patogen dan nonpatogen. Fragmen ini termasuk bagian hipervariable yang tidak mudah termutasi dan mengandung tanda urutan spesifik spesies yang berguna untuk mengidentifikasi bakteri hingga ke level spesies (Israhmadini, 2008).

Penelitian ini perlu dilakukan karenapada penelitian sebelumnya telah dilaporkan adanya bakteri penghasil dari protease yang dihasilkan dari fermentasi tempe gembus. Namun belum ada laporan tentang isolasi bakteri proteolitik dari sampel yang sama pasca fermentasi. Penelitian ini adalah bagian dari penelitian tentang keanekaragaman bakteri proteolitik yang terdapat pada bahan makanan sumber protein hasil fermentasi yang ada di Indonesia.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan dapat dirumuskan permasalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah bakteri penghasilan protease dapat ditemukan pada tempe gembus pasca fermentasi 48 jam ?
2. Apakah jenis penghasil protease yang dapat ditemukan pada tempe gembus pasca fermentasi 48 jam berdasarkan analisis molekuler dengan PCR (analisis gen 16S rRNA ?

## 1.2. Tujuan Penelitian

### 1.2.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui adanya bakteri penghasil protease yang terdapat pada tempe gembus pasca fermentasi 48 jam

http://repository.unimus.ac.id

2. Untuk mengetahui identitas bakteri penghasil protease yang terdapat pada tempe gembus pasca fermentasi 48 jam berdasarkan analisis gen 16S rRNA

### 1.3.1. Tujuan Khusus

1. Melakukan isolasi bakteri berbagai koloni bakeri yang terdapat pada tempe gembus pasca fermentasi 48 jam menggunakan media nutrien agar
2. Melakukan pemurnian koloni bakteri yang terdapat pada tempe gebus pasca fermentasi 48 jam menggunakan media nutrien agar
3. Melakukan isolasi bakteri penghasil protease terdapat pada tempe gembus pasca fermentasi 48 jam menggunakan media susu skrim steril
4. Melakukan isolasi, amplifikasi dan sekuensing gen 16S rRNA untuk mengidentifikasi isolasi bakteri penghasil protease yang terdapat pada tempe gembus pasca fermentasi 48 jam secara molekuler.

## 1.4. Manfaat Penelitian

### 1.4.1. Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan mengetahui peneliti tentang isolasi dan identifikasi bakteri secara molekuler menggunakan analisis gen 16S rRNA.

### 1.4.2. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat bahwa tempe memiliki kelemahan utama yaitu umur simpan yang singkat dan rentan terkontaminasi oleh bakteri pembusuk maupun patogen.

http://repository.unimus.ac.id

### 1.4.3. Bagi Universitas

Menambah ilmu pengetahuan dan menambah kepustakaan atau referensi bagi mahasiswa di Universitas Muhammadiyah Semarang.

## 1.5. Originalitas

Tabel 1. Originalitas Penelitian

| No | Nama Peneliti/ Penerbit | Judul | Hasil |
|---|---|---|---|
| 1. | Tati Barus, 2008 Institut Pertanian Bogor | Peranan komunitas bakteri dalam pembentukan rasa pahit pada tempe | Menggambarkan bahwa keberadaan bakteri selama proses pengolahan tempe sangat kompleks, dan tentu kompleks juga pengaruhnya terhadap cita rasa tempe, khususnya rasa pahit pada tempe. |
| 2 | Erni Sofia Murtini dkk., 2008Universitas Brawijaya | Isolasi dan identifikasi Mikrobia dari tempe sorgum coklat (*Sorghum bicolor*) serta potensinya dalam mendegradasi pati dan protein | Hasil analisis pati menunjukkan isolat bakteri 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. |
| 3 | Yuningsih Silvi, 2006 | Isolasi dan pencirian protease dari bakteri isolat nato | Pada sampel nato, enzim fibrinolitik dapat dihasilkan dan diproduksi dari pangan fermentasi 12 jam sampai 20 jam. Isolasi bakteri *Bacillus* sp dari sampel dan uji elektroforesis membuktikan adanya aktivitas proteolitik bakteri. |

Berdasarkan data orinalitas penelitian di atas, perbedaan yang akan dilakukan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Barus, 2008; Murtini dkk., 2008 dan Silvi, 2006 adalah pada jenis sampel yang digunakan untuk mengisolasi

http://repository.unimus.ac.id

bakteri proteolitik. Pada penelitian ini isolasi bakteri penghasil protease dilakukan pada sampel tempe gembus diikuti identifikasi menggunakan metode PCR 16S rRNA.

http://repository.unimus.ac.id