

## Uji Antibakteri *Rhizopus* sp. Asal Inokulum Tempe terhadap *Vibrio cholerae*

### Antibacterial Test of *Rhizopus* sp. from Tempeh Inoculum Against *Vibrio cholerae*

Nur Khikmah<sup>1\*</sup> dan Apriani Shayoti Haloho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akademi Analisis Kesehatan Manggala Yogyakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Rumah Sakit Samarinda Citra Medika, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia

#### Abstrak

*Rhizopus* sp. merupakan kapang yang digunakan dalam fermentasi tempe. Kapang *Rhizopus* pada tempe telah dikaji manfaatnya dalam mengurangi kejadian diare pada *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dibandingkan pada *Vibrio cholerae*. Diare kolera yang disebabkan oleh *Vibrio cholerae* pernah menjadi Kejadian Luar Biasa (KLB) di Indonesia, sehingga bakteri kolera sebagai penyebab penyakit pada penderita diare masih ada. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antibakteri *Rhizopus* sp asal inokulum tempe terhadap *Vibrio cholerae* dan mengetahui perbedaan kemampuan antibakteri *Rhizopus* sp dari beberapa inokulum tempe terhadap *Vibrio cholerae*. Uji antibakteri *Rhizopus* sp terhadap *Vibrio cholerae* dilakukan dengan metode difusi kertas. Isolasi dari inokulum tempe komersial memperoleh dua isolat kapang, yang teridentifikasi *Rhizopus* sp. IP dan *Rhizopus* sp. IJ. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa dua isolat *Rhizopus* sp. tersebut dapat menghambat *Vibrio cholerae*. dengan kemampuan penghambat kategori sedang dan tidak terdapat perbedaan aktivitas antibakteri *Rhizopus* sp. IP dan *Rhizopus* sp. IJ terhadap *Vibrio cholerae*.

Kata kunci : *Rhizopus* sp. antibakteri, tempe, *Vibrio cholerae*

#### Abstract

*Rhizopus* sp. is a common mold used in fermenting tempeh. *Rhizopus* sp in tempeh has been studied for its benefits in reducing the incidence of diarrhea caused by *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* compared to *Vibrio cholerae*. Cholera diarrhea caused by *Vibrio cholerae* was an outbreak in Indonesia and the presence of cholera bacteria as causal agent of diarrhea is still exists until now. This research aims were to determine the antibacterial activity of *Rhizopus* sp. from tempeh inocula against *Vibrio cholerae* and to study the differences of selected *Rhizopus* sp. inocula antibacterial activity against *Vibrio cholerae*. Disc diffusion method was employed to test antibacterial activity of *Rhizopus* sp. on *Vibrio cholerae*. Isolation of *Rhizopus* sp. from commercial tempeh inocula obtained two mold namely *Rhizopus* sp. IP and *Rhizopus* sp. IJ. The results showed that *Rhizopus* sp. from commercial tempeh inoculum was able to inhibit *Vibrio cholerae*. The inhibitory ability was grouped in the medium inhibition category and no difference observed in antibacterial activity of *Rhizopus* sp. IP and *Rhizopus* sp. IJ against *Vibrio cholerae*.

**Keywords :** *Rhizopus* sp., antibacterial, tempeh, *Vibrio cholerae*

---

#### \* Corresponding author:

Nur Khikmah

Akademi Analisis Kesehatan Manggala Yogyakarta

Jl. Bratajaya No. 25, Sokowaten, Banguntapan, Bantul

E-mail: khikmahnr@gmail.com

## Pendahuluan

*Rhizopus* merupakan kelompok kapang yang digunakan sebagai inokulum dalam pembuatan tempe. Masyarakat umumnya menyebut inokulum tempe dengan nama laru atau ragi tempe. Spesies *Rhizopus* yang digunakan sebagai inokulum tempe bermacam-macam. Hasil isolasi dan identifikasi kapang dari tempe dan ragi tempe menghasilkan spesies *Rhizopus* yang berbeda-beda, diantaranya *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus cohnii* (Purwijantiningsih *et al.*, 2005), *Rhizopus oligosporus* (Dewi & Aziz, 2011), dan *Rhizopus microsporus* (Hartanti *et al.*, 2015).

Pada pembuatan tempe, *Rhizopus* berperan sebagai pengepak butiran kedelai menjadi bentuk padat dengan anyaman miselium. *Rhizopus* juga berperan dalam proses enzimatik yang mengubah senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana sehingga mudah diserap oleh tubuh. Dengan adanya proses tersebut, maka tempe mengandung semua asam amino esensial, kalsium, asam lemak, vitamin, dan isoflavon (Babu *et al.*, 2009).

Pada awal tahun 1960, tempe telah dilaporkan mengandung zat antibakteri (Nout & Kiers, 2005). Masyarakat secara empiris telah mengetahui bahwa tempe dapat dijadikan makanan yang membantu proses penyembuhan diare. Saat diare, konsistensi feses menjadi lembek atau cair dan frekuensi buang air besar menjadi lebih sering dalam satu hari. Menurut Brooks *et al.* (2012), diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Vibrio cholerae*. Babu *et al.* (2009) melaporkan penelitian yang menyatakan bahwa orang Indonesia yang mengonsumsi tempe secara rutin akan terhindar dari penyakit disentri dan gangguan pencernaan.

Karmini *et al.* (1987) melaporkan bahwa tempe mempunyai pengaruh dalam mengurangi resiko terhadap diare akibat infeksi bakteri enteropatogenik *Escherichia coli* 0125K70 (B)H19. Kiers *et al.* (2003), juga membuktikan kacang kedelai yang difermentasi dengan *Rhizopus* dapat mengurangi keparahan diare pada anak bayi yang disebabkan oleh *Enterotoxigenic*

*Escherichia coli* (ETEC) K88 dibandingkan dengan kacang kedelai panggang.

Senyawa metabolit *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap patogen yang diuji. Urutan penghambatan tertinggi pada *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, diikuti *Pseudomonas aeruginosa*, kemudian *Staphylococcus aureus*, *Corynebacteria diphtheriae* dan *Klebsiella pneumoniae* (Fadahunsi *et al.*, 2013).

Kajian pengaruh tempe ataupun kapang tempe (*Rhizopus*) dalam mengurangi kejadian diare sampai saat ini banyak dilakukan pada *E. coli* dan *S. typhi* sebagai bakteri penyebab diare dibandingkan pada *V. cholerae*. Brooks *et al.* (2012) menyatakan bahwa diare yang disebabkan oleh *V. cholerae* dikenal dengan nama penyakit kolera. Gejala khas diare kolera teramati pada bentuk dan warna tinja seperti air cucian beras, mengandung mukus dan sel epitel. Menurut Puspendari *et al.* (2009), Kejadian Luar Biasa (KLB) kolera yang pernah dilaporkan di Indonesia tercatat terjadi pada bulan April hingga Agustus 2008 di Kabupaten Paniai dan Kabupaten Nabire, Provinsi Papua. Kejadian ini menelan korban 105 jiwa. Setelah itu, tidak didapatkan laporan terbaru mengenai jumlah kasus kolera di Indonesia hingga saat ini.

Sariadji (2019) menuliskan bahwa dalam laporan terakhir periode 2017-2018, WHO melaporkan tidak terdapat kasus kolera di Indonesia. Data WHO merujuk pada data resmi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Namun data kasus kolera di Indonesia tidak terlapor secara kumulatif di pusat data dan informasi kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Data yang tersedia saat ini di Indonesia adalah data diare yang bersifat umum. Diare yang terdata tersebut disebabkan oleh banyak hal dan tidak spesifik, didasarkan pada gejala klinis atau keterangan melalui proses wawancara tanpa penunjang diagnostik laboratorium. Oleh karena kolera pernah terjadi di Indonesia, maka keberadaan bakteri *Vibrio cholerae* sebagai penyebab diare penderita diare diduga masih ada, akan selalu ada, dan potensial mengancam wilayah di Indonesia ketika faktor risiko kejadian

kolera terpenuhi. Faktor risiko kolera masih terdapat di Indonesia karena indikator Perilaku Hidup Bersih dan Sehat (PHBS) di Indonesia masih rendah (32,3%). Tingkat indikator PHBS terendah di Indonesia terdapat di Papua dengan nilai 16,4%.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian tentang antibakteri *Rhizopus* sp asal inokulum tempe terhadap *Vibrio cholerae*, dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan antibakteri *Rhizopus* sp. asal inokulum tempe dan mengetahui perbedaan kemampuan antibakteri *Rhizopus* sp. asal inokulum tempe yang berbeda terhadap *Vibrio cholerae*.

## Materi dan Metode

### Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah 2 inokulum tempe, yaitu merek Raprima (PT. Aneka Fermentasi Industri, Bandung) dan merek Jago Kate (UD. Jaya Mulya, Kediri). Bakteri *Vibrio cholerae* yang digunakan berasal dari Balai Laboratorium Kesehatan (BLK) Yogyakarta.

### Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus* dari Inokulum Tempe

Isolasi *Rhizopus* sp. dilakukan menggunakan metode *spread plate*. Sebanyak 1 gram inokulum tempe dilarutkan dalam 9 mL NaCl 0,85 %, dilakukan pengenceran secara serial  $10^{-1}$  sampai  $10^{-3}$ . Pada dua pengenceran terakhir, suspensi diinokulasi pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) secara aseptis untuk kemudian diinkubasi selama 4 hari pada suhu kamar. Setelah inkubasi, dilihat pertumbuhan kapang, kemudian dilakukan pemurnian sampai isolat kapang benar-benar murni (Dewi & Aziz, 2011). Isolat yang telah murni kemudian diidentifikasi berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis mengacu pada pustaka *Fundamentals of Diagnostic Mycology* (Fisher & Cook, 1998) dan *Introduction to Food and Airborne Fungi* (Samson *et al.*, 2004).

### Produksi Antibakteri dari *Rhizopus*

Isolat *Rhizopus* sp yang telah teridentifikasi diinokulasi kembali pada PDA dan diinkubasi selama 4 hari. Isolat tersebut

kemudian digunakan untuk produksi zat antimikroba. Senyawa antibakteri diproduksi dengan cara fermentasi cair. Isolat *Rhizopus* sp. yang tumbuh diambil sebanyak 4 bulatan dengan *perforator* berdiameter 5 mm, diinokulasi pada 20 mL *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB), diinkubasi dalam shaker selama 6 hari dengan kecepatan 100 *rotary per minute* (rpm) pada suhu kamar. Hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan atau filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Sukron *et al.*, 2014).

### Uji Antibakteri *Rhizopus* pada *Vibrio cholerae*

Uji antibakteri *Rhizopus* sp. pada *Vibrio cholerae* dilakukan menggunakan metode difusi kertas (*disc diffusion*). *Blank disc* dengan diameter 5 mm direndam dalam supernatan, lalu diletakkan di permukaan *Nutrien Agar* (NA) yang telah diinokulasi dengan *V. cholerae*. Kontrol positif yang digunakan adalah tetrasiklin (30 µg) dan kontrol negatif berupa akuades steril. Media selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Kemampuan antibakteri ekstrak *Rhizopus* sp. terhadap *V. cholerae* ditunjukkan oleh keberadaan zona hambat di sekitar *disc* (Sukron *et al.*, 2014). Kriteria daya antibakteri berdasarkan diameter zona hambat dikelompokkan menurut Davis & Stout (1971).

## Hasil

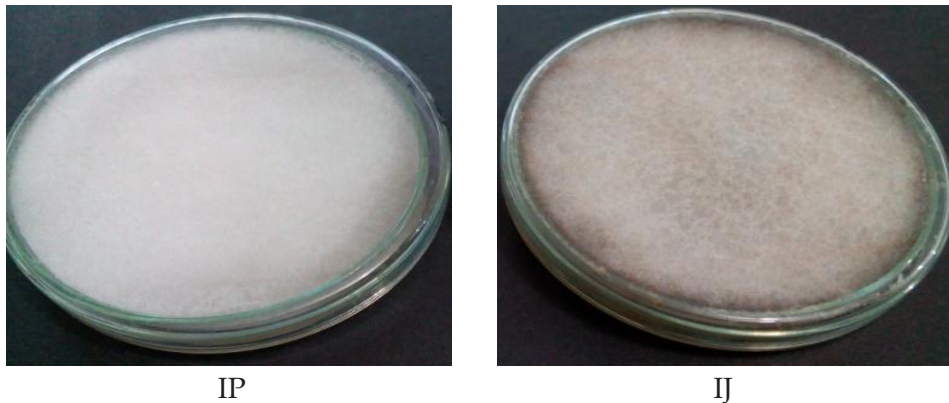
### Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus* dari Inokulum Tempe

Isolasi kapang dari 2 inokulum tempe memperoleh 2 isolat (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil isolasi kapang dari inokulum tempe

Merek Inokulum Tempe	Jumlah Isolat	Kode Isolat
Raprima	1	IP
Jago Kate	1	IJ
Jumlah	2	

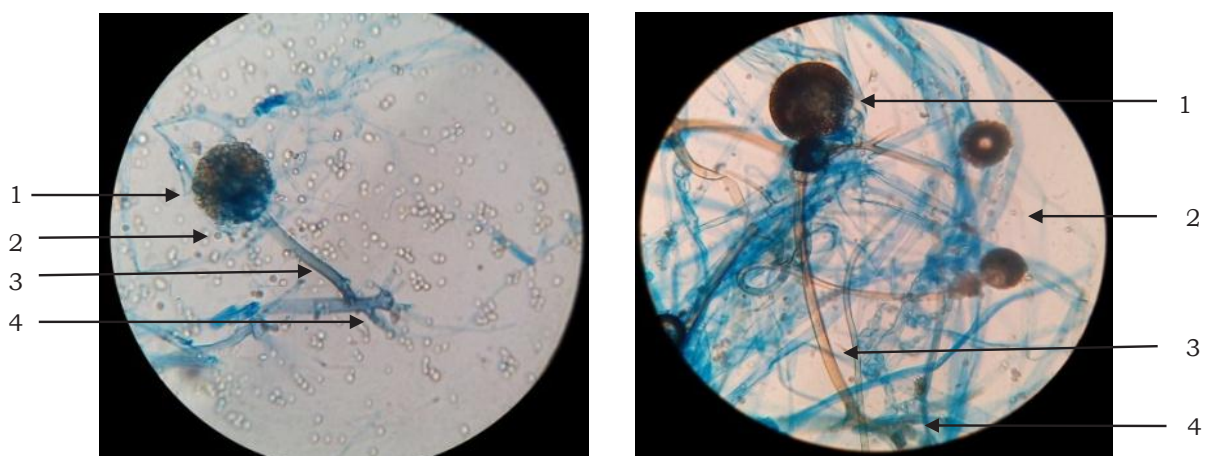
Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati koloni pada medium PDA menunjukkan bahwa kedua isolat berbentuk filamen, bertekstur *cottony*, berwarna putih keabuan sampai hitam, miselium tumbuh



IP

IJ

Gambar 1. Pertumbuhan isolat dari inokulum tempe : Raprima (IP) dan Jago Kate (IJ) pada medium PDA

Gambar 2. Pengamatan mikroskopis isolat dari inokulum tempe : Raprima (IP) dan Jago Kate (IJ)  
Keterangan : sporangium (1), sporangiospora (2), konidiofor (3), dan rizoid (4)

dengan cepat sehingga memenuhi cawan petri (Gambar 1).

Pengamatan secara mikroskopis isolat menunjukkan hifa hialin, tidak bersepta, dan terdapat hifa horizontal berupa stolon. Pada stolon muncul sporangiofor dan rizoid. Sporangiofor tumbuh ke atas menyangga struktur sporangium yang menghasilkan sporangiospora. Sporangiospora berbentuk bulat dan bewarna coklat kehitaman. Rizoid akan tumbuh ke dalam medium (Gambar 2).

Identifikasi isolat kapang dilakukan berdasarkan karakterisasi pada pengamatan makroskopis dan mikroskopis dengan mengacu pada *Fundamentals of Diagnostic Mycology* (Fisher & Cook, 1998) dan *Introduction to Food and Airborne Fungi* (Samson *et al.*, 2004). Berdasarkan karakterisasi tersebut, maka isolat kapang IP dan IJ teridentifikasi sebagai anggota *Rhizopus* dengan ciri adanya rizoid.

### Uji Antibakteri *Rhizopus* pada *Vibrio cholerae*

Uji antibakteri *Rhizopus* sp. dari dua merek inokulum tempe menunjukkan bahwa *Rhizopus* sp. mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae*. Kemampuan penghambatan ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa zona jernih di sekitar disc (Gambar tidak ditunjukkan). Klasifikasi kriteria zona hambat dihitung berdasarkan diameternya. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada masing-masing kelompok disajikan pada Tabel 1.

Diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji-t untuk mengetahui perbedaan daya hambat *Rhizopus* sp. IP dan *Rhizopus* sp. IJ terhadap *V. cholerae*. Analisis uji-t antara *Rhizopus* sp. IP dan *Rhizopus* sp. IJ menghasilkan nilai signifikansi 0,889 pada taraf kepercayaan 95% (Tabel 2).

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat *Rhizopus* pada pertumbuhan *Vibrio cholerae*

Ekstrak	Diameter zona hambat (mm)
<i>Rhizopus</i> IP	9,25
<i>Rhizopus</i> IJ	9,38
Tetrasiklin 30 µg (kontrol +)	21
Akuades (kontrol -)	0

Tabel 2. Hasil uji-t antara *Rhizopus* IP dan *Rhizopus* IJ

Isolat	Diameter (mm)		P value
	<i>Rhizopus</i> IP	<i>Rhizopus</i> IJ	
<i>Rhizopus</i>	9,25	9,38	0,889

## Pembahasan

### Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus* dari Inokulum Tempe

Dua isolat kapang IP dan IJ dari inokulum tempe komersial teridentifikasi sebagai anggota *Rhizopus* dengan ciri adanya rizoid. Pada penelitian ini identifikasi tidak dilakukan sampai spesies. Menurut Fisher & Cook, (1998) dan Samson *et al.* (2004), koloni *Rhizopus* mempunyai ciri mampu tumbuh dengan cepat, hifa tidak berseptata, mempunyai stolon, rizoid dan sporangiofor. Sporangiofor dapat tunggal atau berkelompok, biasanya tidak bercabang. Sporangiofor menyangga sporangium yang banyak mengandung sporangiospora. Sporangium hialin menjadi coklat kehitaman dengan bertambahnya umur kultur. Kolumela berwarna coklat dan berbentuk *globose*. Sporangiospora berbentuk ovoid atau elips, berwarna coklat kehitaman.

*Rhizopus* spp. merupakan mikroorganisme utama dalam fermentasi tempe, yang sekarang umumnya berasal dari salah satu jenis laru komersial yang diproduksi secara pabrikan (Barus *et al.*, 2019). *Rhizopus* dapat digunakan sebagai kultur tunggal dalam laru. Beberapa penelitian terdahulu mengidentifikasi kapang dari inokulum tempe komersial Raprime. Purwijantiningasih *et al.* (2005) yang mengisolasi kapang dari ragi tempe Raprime memperoleh isolat kapang tunggal yang teridentifikasi *Rhizopus oligosporus*.

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Hartanti *et al.* (2015), memperoleh 36 *Rhizopus* yang diisolasi dari tempe yang berasal dari 29 daerah di Indonesia. Hasil identifikasi

menunjukkan 34 *Rhizopus* teridentifikasi sebagai *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* dan dua *Rhizopus* teridentifikasi sebagai *R. delemar*. Berdasarkan survei yang dilakukan, tempe yang diproduksi di Jawa dan Sumatera umumnya menggunakan ragi komersial Raprime. Ragi Raprime diproduksi di Bandung menggunakan *R. microsporus* var. *oligosporus* (sinonim *R. microsporus*) sebagai inokulum. Babu *et al.* (2009), menyatakan *R. oligosporus* mempunyai peranan utama dalam fermentasi tempe.

### Uji Antibakteri *Rhizopus* pada *Vibrio cholerae*

Kemampuan antibakteri *Rhizopus* sp. terhadap *V. cholerae* dikarenakan selama fermentasi *Rhizopus* mampu menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat antibakteri. Aktivitas antibakteri *Rhizopus* sp. ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar koloni *V. cholerae*, yang menunjukkan bahwa senyawa metabolit mampu mematikan pertumbuhan *V. cholerae*.

McCue *et al.* (2004) melaporkan bahwa senyawa fenolik yang dihasilkan *Rhizopus oligosporus* NRRL 2770 pada fermentasi kedelai dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Helicobacter pylori* penyebab infeksi dan kanker lambung. Kadar fenol tertinggi diperoleh setelah 6 hari fermentasi. Fadahunsi *et al.* (2013) melakukan penelitian fermentasi *R. oligosporus* NRRL 2770 pada medium *Potato Dextrose Broth* (PDB). Setelah 8 hari, filtrat bebas sel dari *R. oligosporus* NRRL 2770 dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan positif. Urutan zona penghambatan *R. oligosporus* NRRL 2770 terhadap patogen uji dalam penelitian Fadahunsi *et al.* (2013) adalah *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* (8 mm), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Corynebacteria diphtheriae* (7 mm) dan *Proteus mirabilis* (6,5 mm). Filtrat sebagai antibakteri optimum pada pH 4 dan suhu 37°C.

Hasil penelitian Sukron *et al.* (2014), menunjukkan bahwa filtrat *R. oligosporus* Saito dari inokulum tempe dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* secara *in vitro*, sedangkan filtrat ekstrak tempe kedelai tidak

dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil tersebut membuktikan bahwa senyawa yang bersifat antibakteri terdapat pada *R. oligosporus* Saito berpengaruh terhadap pertumbuhan *E. coli*, dengan diameter zona hambat sebesar 5,68 mm.

Filtrat yang dihasilkan oleh *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ pada penelitian ini mempunyai daya antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian McCue *et al.* (2004) dan Sukron *et al.* (2014). Hal ini ditunjukkan dari diameter zona hambat *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ yang terbentuk (9,25 dan 9,38 mm) lebih tinggi dibandingkan 2 (dua) hasil penelitian terdahulu (5-8 mm). Perbedaan hasil tersebut kemungkinan dikarenakan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan *Rhizopus* berbeda-beda. Pada penelitian ini senyawa antibakteri belum diidentifikasi. Penggunaan medium fermentasi SDB belum spesifik untuk memproduksi senyawa metabolit tertentu.

Kapang *Rhizopus* menghasilkan senyawa metabolit yang berbeda-beda dalam pertumbuhannya. *Rhizopus oryzae* GY18 menghasilkan etanol, asam laktat, dan asam fumarat dalam jumlah tinggi (Guo *et al.*, 2010). *Rhizopus oryzae* 15 yang tumbuh pada *Potato Dextrose Broth* (PDB), menghasilkan metil eugenol yang mempunyai aktivitas antibiotik, benzena dan asam lemak (Peeran *et al.*, 2018). Metil eugenol dari *Rhizopus oryzae* 6975 dapat bersifat antijamur, antibakteri dan penarik serangga (hormon seks serangga) (Faisal & Prasad, 2016). Ekstrak etil asetat dari miselium *Rhizopus stolonifer* mempunyai kemampuan antibakteri terhadap *Erwinia carotovora* dan *Xanthomonas campestris* (Iqbal *et al.*, 2014). Ekstrak dengan pelarut asetonitril dan n-heksan dari *R. stolonifer* mempunyai potensi sebagai antibakteri pada *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* (*methicillin resistant*), *S. aureus* (*vancomycin resistant*). Ekstrak asetonitril dari *R. stolonifer* lebih efektif menghambat bakteri dibandingkan ekstrak n-heksan (Sohail *et al.*, 2014).

Fermentasi kedelai oleh *Rhizopus oligosporus* efektif meningkatkan kemampuan ekstrak kedelai untuk menghambat

pertumbuhan *Heliobacter pylori* secara *in vitro*. Penghambatan dapat terjadi melalui penumpukan fenolik pada membran, mengganggu fungsi atau melalui gangguan transpor elektron rantai respirasi (McCue *et al.*, 2004).

Diameter zona hambat *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan tetrasiklin 30 µg yang digunakan sebagai kontrol positif (Tabel 1). Berdasarkan kategori daya antibakteri, daya antibakteri *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ dikategorikan sedang, tetrasiklin 30 µg dikategorikan sangat kuat. Menurut Davis & Stout (1971), kategori daya antibakteri dikelompokkan berdasarkan diameter zona hambat menjadi empat kategori yaitu: lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (>20 mm).

Tetrasiklin (30 µg) digunakan sebagai kontrol positif mampu menghambat *Vibrio cholerae* dengan diameter zona hambat 21 mm, sedangkan *Rhizopus* sp.IP dan IJ menghambat dengan diameter zona hambat 9,25 mm dan 9,38 mm. Berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk tersebut, maka *V. cholerae* bersifat sensitif terhadap tetrasiklin dan resisten terhadap *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ. Menurut CLSI (2002), interpretasi *V. cholerae* terhadap tetrasiklin berdasarkan diameter zona hambat dikelompokkan menjadi 3 (tiga) yaitu: *susceptible* atau sensitif (≥19 mm), *intermediate* (15-18 mm) dan *resistant* (≤14 mm).

Hasil uji-t nilai signifikansi sebesar 0,899 ( $P > 0,05$ ), menunjukkan bahwa daya antibakteri antara *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ terhadap pertumbuhan *V. cholerae* berbeda tidak nyata, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan daya antibakteri *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ terhadap pertumbuhan *V. cholerae*. Uji tersebut menunjukkan bahwa adanya perbedaan spesies *Rhizopus* yang digunakan dalam pembuatan tempe akan menghasilkan daya antibakteri yang tidak berbeda.

Hasil penelitian uji antibakteri pada penelitian ini menunjukkan bahwa *Rhizopus* asal inokulum tempe mempunyai potensi menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae*

dengan kategori penghambatan sedang. Diperlukan identifikasi dan karakterisasi senyawa antibakteri yang dihasilkan *Rhizopus* sp, sehingga diharapkan dapat meningkatkan daya hambatnya.

### Kesimpulan

*Rhizopus* asal inokulum tempe komersial mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae*. Kemampuan penghambatan yang teramati termasuk dalam kategori sedang. Tidak ada perbedaan daya antibakteri *Rhizopus* sp.IP dan *Rhizopus* sp.IJ terhadap *Vibrio cholerae*.

### Daftar Pustaka

- Babu, P. D., Bhagyaraj, R., & Vidhyalakshmi, R. (2009). A Low Cost Nutritious Food Tempe. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 4(1), 22–27.
- Barus, T., Maya, F., & Hartanti, A. T. (2019). Peran Beberapa Galur *Rhizopus microsporus* yang Berasal dari “laru tradisional” dalam Menentukan Kualitas Tempe. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(1), 17–22. doi.org/10.17728/jatp.3761
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2012). *Jawetz, Melnick, & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran* (25th ed.; A. Adityaputri, C. Salim, F. Sandra, M. Iskandar, Nalurita, P. Ayuningtyas, S. Debby, Eds.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- CLSI. Clinical And Laboratory Standards Institute (2002). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; *Approved Standard – Second Edition*.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22(4), 666–670. doi.org/10.1128/aem.22.4.666-670.1971
- Dewi, R. S., & Aziz, S. (2011). Isolasi *Rhizopus oligosporus* pada Beberapa Inokulum Tempe di Kabupaten Banyumas. *Molekul*, 6(2), 93–104.
- Fadahunsi, I. F., Ogunbanwo, S. T., & Ogundana, D. T. (2013). Heat Stability And Optimization Of In Vitro Antimicrobial Activity Of Metabolites Produced By *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 Against Some Pathogenic Bacteria. *Trakia Journal of Sciences*, 11(2), 110–117.
- Faisal, M. ., & Prasad, L. (2016). A Potential Source of Methyl-Eugenol From Secondary Metabolite of *Rhizopus oryzae* 6975. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 7(4), 187–192. doi.org/10.21276/Ijabpt.2016.7.4.22
- Fisher, F., & Cook, N. B. (1998). *Fundamentals of Diagnostic Mycology*. Philadelphia: W.B. Saunders.
- Guo, Y., Yan, Q., Jiang, Z., Teng, C., & Wang, X. (2010). Efficient Production of Lactic Acid from Sucrose and Corn Cob Hydrolysate by a Newly Isolated *Rhizopus oryzae* GY18. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37(11), 1137–1143. doi.org/10.1007/s10295-010-0761-2
- Hartanti, A. T., Rahayu, G., & Hidayat, I. (2015). *Rhizopus* Species from Fresh Tempeh Collected from Several Regions in Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(3), 136–142. doi.org/10.1016/j.hjb.2015.10.004
- Iqbal, M., Amin, M., Iqbal, Z., Bibi, H., Iqbal, A., Din, Z., M. Suleman., & Shah, H. . (2014). Antimicrobial, Cytotoxic and Phytotoxic Potency of Ethyl Acetate Extract of *Rhizopus stolonifer* culture. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 87–92. doi.org/10.4314/tjpr.v13i1.13
- Karmuni, M., Mahmud, E., Affandi, & Hermana. (1987). Pengaruh tempe dalam mengurangi risiko terhadap diare akibat infeksi bakteri enteropatogen *Escherichia coli*. *Penelitian Gizi Dan Makanan*, 10, 61–76.
- Kiers, J. L., Meijer, J. C., Nout, M. J. R., Rombouts, F. M., Nabuurs, M. J. A., & Van Der Meulen, J. (2003). Effect of fermented soya beans on diarrhoea and feed efficiency in weaned piglets. *Journal of Applied Microbiology*, 95(3), 545–552. doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02011.x

- McCue, P., Lin, Y. T., Labbe, R. G., & Shetty, K. (2004). Sprouting and solid-state bioprocessing by *Rhizopus oligosporus* increase the In Vitro antibacterial activity of aqueous soybean extracts against *Helicobacter pylori*. *Food Biotechnology*, 18(2), 229–249. doi.org/10.1081/FBT-200025669
- Nout, M. J. R., & Kiers, J. L. (2005). Tempe fermentation, innovation and functionality: Update into the third millenium. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 789–805. doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02471.x
- Peeran, M., Prasad, L., & Kamil, D. (2018). Characterization of Secondary Metabolites from *Rhizopus oryzae* and Its Effect on Plant Pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(03), 705–710. doi.org/10.20546/ijcmas.2018.703.082
- Purwijantiningsih, E., Dewanti-hariyadi, R., Nurwitri, C. C., & Istiana (alm.). (2005). Penghambatan Produksi Aflatoksin dari *Aspergillus flavus* oleh Kapang dan Khamir yang Diisolasi dari Ragi Tempe. *Biota*, X(3), 146–153.
- Puspandari, N., Sariadji, K., & Wati, M. (2009). Identifikasi Penyebab Kejadian Luar Biasa Kolera Di Papua Terkait Kontak Jenazah dan Sanitasi. *Widyariset*, 13(2), 69–74.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., & Frisvad, J. C. (2004). *Introduction To Food And AirBorne Fungi* (7th ed.). Netherlands: CBS.
- Sariadji, K. (2019). Benarkah tak ada kasus kolera di Indonesia atau tersamarkan dengan sebutan diare? *The Conversation*, pp. 2–6. Retrieved from <https://theconversation.com/benarkah-tak-ada-kasus-kolera-di-indonesia-atau-tersamarkan-dengan-sebutan-diare-110576>
- Sohail, Afzal, M., Iqbal, Z., Sheena, Khan, S. ., Rahman, U., Khan, W., Asghar, A., Ullah, I., & Numan, M. (2014). Antimicrobial Activity of Mycelial Extracts of *Rhizopus stolonifer* against Different Fungal and Bacterial Pathogenic Strains. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 4(7), 276–282. doi.org/10.12692/ijb/4.7.276-282
- Sukron, M. A., Suarsini, E., & Witjoro, A. (2014). Pengaruh Ekstrak Tempe Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) dan Ekstrak Inokulum Kapang Tempe Terhadap Penghambat *Esherichia coli* Secara in Vitro. Universitas Negeri Malang, Malang.