

**POLA PERTUMBUHAN KHAMIR DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
PADA TEMPE DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

(Skripsi)

Oleh

FATIMAH



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

PATTERNS OF YEAST GROWTH AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN TEMPE WITH ADDITION *Saccharomyces cerevisiae*

By

FATIMAH

Tempe is a food made of soybeans fermentation and inoculated with *Rhizopus oligosporus* in solid fermentation. Besides *R. oligosporus*, other microorganisms such as bacteria and yeasts were found during fermentation. Tempe contains bioactive compound that showed antibacterial activity to pathogenic microorganisms. This study aimed to determine the pattern of yeast growth during tempe fermentation with addition of *Saccharomyces cerevisiae* and to know tempe inhibition with addition of *Saccharomyces cerevisiae* to reduce *Escherichia coli*. The research was done by Randomized Complete Block Design (RCBD) with two factors and three repetitions. The first factor was types of tempe inoculum that consist of 4 levels, were commercial tempe inoculum, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus*, and also mixture of *Rhizopus oligosporus* and *Saccharomyces cerevisiae*. The second factor was fermentation time that consist of 6 levels, were 0, 8, 16, 24, 32, and 40 hours.

The results showed that yeast grew during the soybean fermentation with commercial tempe inoculum, *Saccharomyces cerevisiae*, and mixture of *Rhizopus oligosporus* and *Saccharomyces cerevisiae*, but didn't grow during soybean fermentation with *R. oligosporus*. The pattern of yeast growth increased until the end of fermentation, although yeast growth decreased at 32 hours fermentation with mixture of *Rhizopus oligosporus* and *Saccharomyces cerevisiae*. All tempe in this study could inhibit the growth of *Escherichia coli* with the bestt inhibition was shown in the tempe inoculated with a mixture of *Rhizopus oligosporus* and *Saccharomyces cerevisiae*. The largest inhibitory diameter area was resulted by tempe that using inoculum mixture of *Rhizopus oligosporus* and *Saccharomyces cerevisiae* after 40 hours fermentation, ie $25.98 + 0.56$ mm.

Keywords: *Tempe, yeast, antibacterial, Escherichia coli.*

ABSTRAK

POLA PERTUMBUHAN KHAMIR DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA TEMPE DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae*

Oleh

FATIMAH

Tempe merupakan makanan yang dibuat dengan cara fermentasi kedelai dan diinokulasikan dengan *Rhizopus oligosporus* dalam fermentasi padat. Selain *R. oligosporus*, keberadaan mikroorganisme lain seperti bakteri dan khamir juga ditemukan selama fermentasi tempe. Tempe mengandung komponen bioaktif yang bersifat antibakteri terhadap mikroba patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola pertumbuhan khamir selama fermentasi tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan mengetahui adanya daya hambat tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan dua faktor dan tiga kali ulangan. Faktor pertama adalah jenis inokulum tempe yang terdiri dari 4 taraf yaitu ragi tempe, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus*, serta campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Faktor kedua adalah waktu fermentasi yang terdiri dari 6 taraf yaitu 0 jam, 8 jam, 16 jam, 24 jam, 32 jam, dan 40 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa khamir dapat tumbuh selama fermentasi kedelai menggunakan inokulum ragi tempe, *Saccharomyces cerevisiae*, serta campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*, tetapi tidak tumbuh selama fermentasi kedelai yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* saja. Pola pertumbuhan khamir mengalami peningkatan hingga akhir fermentasi, walaupun jumlah khamir sempat mengalami penurunan pada jam ke-32 fermentasi kedelai menggunakan inokulum campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Semua tempe yang diberi inokulum pada penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan penghambatan terbesar ditunjukkan pada perlakuan tempe yang diinokulasi dengan campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Diameter daerah hambat terbesar ditunjukkan pada tempe yang menggunakan inokulum campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* setelah 40 jam fermentasi, yaitu sebesar $25,98 \pm 0,56$ mm.

Kata Kunci: *Tempe, khamir, antibakteri, Escherichia coli.*

**POLA PERTUMBUHAN KHAMIR DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
PADA TEMPE DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

Oleh

FATIMAH

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **POLA PERTUMBUHAN KHAMIR DAN
AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA TEMPE
DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces
cerevisiae***

Nama Mahasiswa : **Fatimah**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1414051038**

Program Studi : **Teknologi Hasil Pertanian**

Fakultas : **Pertanian**



Ir. Samsul Rizal, M.Si.
NIP. 19690225 199403 1 002

Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.
NIP. 19621129 198703 2 002

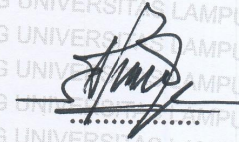
2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

Ir. Susilawati, M.Si.
NIP. 19610806 198702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

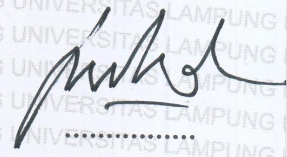
Ketua : Ir. Samsul Rizal, M.Si.



Sekretaris : Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 11 Mei 2018

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Fatimah NPM 1414051038 Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 11 Mei 2018
Yang membuat pernyataan



Fatimah
NPM. 1414051038

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Penengahan, Lampung Barat pada 12 Januari 1996, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak M. Zakki S. dan Ibu Masbatul Aini. Penulis memiliki 1 orang kakak bernama Nurhalimah dan 1 orang adik bernama Syahril Sobirin. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 1 Penengahan pada tahun 2008, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 2 Pesisir Tengah dan lulus pada tahun 2011. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah kejuruan di SMK Negeri Unggul dan Terpadu, Lampung Tengah dan lulus pada tahun 2014. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2014 melalui jalur tes tertulis Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sinarrejo, Kecamatan Kalirejo, Kabupaten Lampung Tengah dengan tema “Pemberdayaan Kampung Berbasis Informasi dan Teknologi” pada bulan Januari s.d. Februari 2017. Pada bulan Juli s.d. Agustus 2017, Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Sumber Pangan Jaya, Cikarang Utara, Bekasi, Jawa Barat, dan menyelesaikan laporan PU yang berjudul “Mempelajari Proses Produksi dan Pengawasan Mutu *Cheezy Beef Sausage* di PT. Sumber Pangan Jaya, Cikarang Utara, Bekasi, Jawa Barat”.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian (HMJ THP), Fakultas Pertanian, Universitas Lampung sebagai anggota bidang Pendidikan dan Penalaran pada tahun 2015-2016, dan sebagai sekretaris bidang Pendidikan dan Penalaran pada tahun 2016-2017. Penulis juga pernah menjadi anggota Koperasi Mahasiswa (Kopma) Universitas Lampung pada tahun 2015-2016. Penulis pernah menjadi Asisten Praktikum mata kuliah Teknologi Hasil Hewani tahun ajaran 2016/2017, Kimia Analitik tahun ajaran 2017/2018, Analisis Hasil Pertanian tahun ajaran 2017/2018, dan Mikrobiologi Hasil Pertanian tahun ajaran 2017/2018.

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamin. Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pola Pertumbuhan Khamir dan Aktivitas Antibakteri pada Tempe dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*” ini. Skripsi ini dapat selesai karena bimbingan, bantuan, dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Ibu Ir. Susilawati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Bapak Wisnu Satyajaya, S.T.P., M.M., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik, atas segala arahan, nasihat dan motivasi selama menjalani perkuliahan hingga penyelesaian skripsi Penulis.
4. Bapak Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Dosen Pembimbing satu skripsi, atas arahan, saran, bantuan, motivasi, dan bimbingan yang telah diberikan selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi Penulis.
5. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati., selaku Dosen Pembimbing dua skripsi atas saran, motivasi, dan bimbingan dalam proses penelitian dan penyelesaian skripsi Penulis.

6. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Dosen Pembahas atas saran, bimbingan, dan evaluasinya terhadap karya skripsi Penulis.
7. Orangtuaku tercinta, kakakku, adikku serta keluargaku, terimakasih atas kasih sayang yang tiada henti kepada Penulis, serta do'a, motivasi, dan dukungan yang selalu menyertai Penulis.
8. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staff administrasi dan laboratorium di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
9. Sahabat seperjuangan penelitian (Eka, Lia, Edo, dan Untung) yang telah membantu Penulis menyelesaikan penelitian serta memberikan saran selama proses penyelesaian skripsi ini.
10. Sahabat-sahabatku, teman-teman terbaikku, keluarga THP angkatan 2014, adik-adik, dan kakak-kakak yang membantu Penulis dalam melaksanakan perkuliahan, penelitian hingga penyelesaian skripsi Penulis.
11. Semua pihak yang telah membantu Penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memerlukan perbaikan, maka Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan pada penulisan selanjutnya. Penulis berharap semoga Allah SWT senantiasa membalas segala amal dan kebaikan semua pihak yang telah membatu penyelesaian skripsi ini dan semoga skripsi ini bermanfaat. Aamiin.

Bandar Lampung, Mei 2018
Penulis,

Fatimah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan	4
1.3. Kerangka Pemikiran.....	4
1.4. Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tempe.....	7
2.1.1. Protein Tempe	8
2.1.2. Lemak Tempe	9
2.1.3. Vitamin Tempe	10
2.1.4. Mineral Tempe	10
2.1.5. Fosfor Tempe.....	11
2.1.6. Isoflavon Tempe	12
2.1.7. Antimikroba Tempe.....	13
2.2. Mikrobiologi Tempe	14
2.3. <i>Rhizopus oligosporus</i>	16
2.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
2.5. Fase Pertumbuhan Mikroba	18
2.6. Uji Aktivitas Antibakteri.....	20

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2. Bahan dan Alat	22
3.3. Metode Penelitian	23
3.4. Pelaksanaan Penelitian	25
3.4.1. Pembuatan Biakan	25
3.4.2. Pembuatan Tempe	27
3.4.3. Perhitungan Jumlah Khamir	29
3.4.4. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	30
3.4.5. Pengujian Aktivitas Antibakteri	30

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penampakan Tempe yang Diinokulasi dengan Berbagai Jenis Inokulum selama fermentasi	32
4.2. Pola Pertumbuhan Khamir pada Tempe yang Diinokulasi dengan Berbagai Jenis Inokulum	35
4.3. Aktivitas Antibakteri Tempe dengan Penambahan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	41

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49

DAFTAR PUSTAKA	50
-----------------------------	----

LAMPIRAN

Tabel 7-16	57-66
Gambar 14-20	67-72
Penentuan Titik Optimum	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 01-3144-1992	7
2. Komposisi kimia tempe	8
3. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri.....	21
4. Kombinasi perlakuan	23
5. Jumlah sel khamir selama fermentasi kedelai oleh inokulum ragi tempe, <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , serta campuran <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i>	36
6. Diameter daerah hambat tempe pada berbagai jenis inokulum dan waktu fermentasi terhadap bakteri <i>E. coli</i>	42
7. Jumlah sel <i>S.cerevisiae</i> (Log CFU/g) selama fermentasi tempe.....	57
8. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's Test</i>) jumlah sel <i>S.cerevisiae</i> (Log CFU/g)selama fermentasi tempe.....	58
9. Uji additivitas (<i>Tukey's Test</i>) jumlah sel <i>S.cerevisiae</i> (Log CFU/g) selama fermentasi tempe	59
10. Analisis ragam jumlah sel <i>S.cerevisiae</i> (Log CFU/g) selama fermentasi tempe	60
11. Uji <i>Orthogonal Polynomial – Orthogonal Comparison</i> jumlah sel <i>S.cerevisiae</i> selama fermentasi tempe	61
12. Diameter daerah hambat tempe dengan penambahan <i>Saccharomycess cerevisiae</i> (mm)	62
13. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's Test</i>) diameter daerah hambat tempe dengan penambahan <i>Saccharomycess cerevisiae</i> (mm)	63
14. Uji additivitas (<i>Tukey's Test</i>) diameter daerah hambat tempe dengan penambahan <i>Saccharomycess cerevisiae</i> (mm)	64

15. Analisis ragam diameter daerah hambat tempe dengan penambahan <i>Saccharomycess cerevisiae</i> (mm).....	65
16. Uji <i>Orthogonal Polynomial</i> – <i>Orthogonal Comparison</i> diameter daerah hambat tempe dengan penambahan <i>Saccharomycess cerevisiae</i>	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram alir persiapan inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26
2. Diagram alir persiapan inokulum <i>Rhizopus oligosporus</i>	27
3. Diagram alir pembuatan tempe	28
4. Diagram alir perhitungan jumlah khamir pada tempe	29
5. Uji aktivitas antibakteri tempe terhadap <i>E.coli</i>	30
6. Penampakan kedelai yang dinokulasi dengan ragi tempe selama fermentasi.....	33
7. Kedelai yang diinokulasi <i>S. cerevisiae</i> selama fermentasi	33
8. Kedelai yang dinokulasi dengan <i>R. oligosporus</i> selama fermentasi.....	34
9. Kedelai yang diinokulasi dengan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	35
10. Pertumbuhan khamir pada berbagai jenis inokulum dan lama fermentasi tempe	37
11. Respon pertumbuhan khamir pada masing-masing jenis inokulum selama fermentasi kedelai	42
12. Grafik penghambatan bakteri <i>E. coli</i> pada berbagai jenis inokulum dan waktu fermentasi.....	43
13. Respon diameter daerah hambat <i>E. coli</i> pada masing-masing jenis inokulum selama fermentasi kedelai.....	48
14. Peremajaan <i>S. cerevisiae</i>	67
15. Peremajaan <i>R. oligosporus</i>	68
16. Proses pembuatan tempe kedelai	69

17. Perhitungan jumlah khamir menggunakan metode <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	70
18. Proses penepungan sampel tempe.....	71
19. Persiapan pengujian aktivitas antibakteri.....	71
20. Pengujian aktivitas antibakteri tempe	72

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tempe merupakan makanan yang dibuat dengan cara fermentasi kedelai dan diinokulasikan dengan kapang *Rhizopus oligosporus* dalam fermentasi padat. 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 (Kustyawati, 2009). *Rhizopus oligosporus* berperan utama dalam pembuatan tempe karena dapat mempertahankan sebagian besar zat-zat gizi yang terkandung dalam kedelai, meningkatkan daya cerna proteinnya, serta meningkatkan kadar beberapa macam vitamin B (Muchtadi, 2010 dalam Mursyid, 2014). Selain *R. oligosporus*, selama fermentasi tempe terdapat pula keberadaan mikroorganisme lain seperti bakteri asam laktat (BAL) dan khamir (Efriwati *et al.*, 2013). Dengan demikian, analisis mikrobiologis diperlukan untuk mengungkapkan keterlibatan setiap jenis mikroorganisme dalam pembuatan tempe.

Yeast ikut serta dalam fermentasi tempe (Feng *et al.*, 2007; Kustyawati, 2009). Kustyawati (2009) menyatakan bahwa yeast dapat tumbuh bersama bakteri indigenus dan *R. oligosporus* selama fermentasi tempe. Keberadaan khamir telah dilaporkan oleh Samson *et al.* (1987) pada tempe komersial di Belanda,

diantaranya *Trichosporon beigelii*, *Clavispora (Candida) lusitaniae*, *C. maltosa*, *C. intermedia*, *Yarrowia lipolytica*, *Lodderomyces elongisporus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *C. sake*, *Hansenula fabiani*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Pichia membranaefaciens*, *Rhodotorula rubra*, *C. rugosa*, *C. curvata*, dan *Hansenula anomola*. Diantara spesies khamir tersebut, belum diketahui interaksi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan tempe, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. *Saccharomyces cerevisiae* diharapkan mampu menghasilkan kandungan -glukan pada tempe sehingga potensinya dalam pembuatan tempe perlu diungkap secara mendalam.

Tempe mengandung berbagai nutrisi yang diperlukan oleh tubuh seperti protein, lemak, karbohidrat, dan mineral. Proses fermentasi kedelai menjadi tempe akan memperbaiki sifat fisik maupun komposisi kimia kedelai. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kandungan gizi yang terdapat pada tempe lebih mudah dicerna, diserap, dan dimanfaatkan oleh tubuh. Hal ini disebabkan kapang yang tumbuh pada kedelai menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia (Kasmidjo, 1990 dalam Dwinaningsih, 2010).

Selain mengandung berbagai nutrisi yang diperlukan oleh tubuh, tempe juga mengandung komponen bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Nurdini *et al.* (2015) menyatakan bahwa nutrisi dan komponen bioaktif pada tempe dihasilkan dari kapang, khamir, dan bakteri asam laktat pada tempe. Tempe memiliki senyawa antibakteri dan antioksidan yang berkhasiat sebagai obat, yakni *genestein*, *daidzein*, *fitosterol*, asam fitat, asam *fenolat*, *lesitin*, dan

inhibitor protease (Cahyadi, 2006 dalam Dwinaningsih, 2010). Ekstrak tempe mentah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Mambang *et al.*, 2014), serta menghambat pertumbuhan patogenik *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Shigella flexneri* (Virgianti, 2015). Penelitian yang dilakukan Kuligowski *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak tempe dapat menstimulasi pertumbuhan *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* yang merupakan mikroflora normal usus (Kuligowski *et al.*, 2013).

Tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* diduga memiliki kandungan β -glukan yang berasal dari dinding sel *S. cerevisiae*. Dinding sel *S. cerevisiae* merupakan salah satu sumber β -1,3 dan β -1,6-glukan yang paling umum (Pengkumsri, *et al.*, 2017) dengan komposisi sebanyak 85-90% setelah diekstraksi (Nicolasi, 1999). Penelitian yang dilakukan oleh Ambarwati *et al.* (2017) menunjukkan bahwa tempe yang difermentasi dengan penambahan ragi khamir komersial sebesar 3% mengandung β -glukan sebanyak 0,076%. β -glukan memiliki berbagai aktivitas biologis sebagai antitumor, antioksidan, antikolesterol, anti penuaan dini, dan peningkat sistem imun (Nurfajarwati, 2006). Chamidah *et al.* (2017) menyatakan bahwa β -glukan dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif seperti *E. coli*. Tempe dengan penambahan yeast juga memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi (Kustyawati, 2009; Gultom, 2009), yang berfungsi sebagai antioksidan, antihemolisis, antivirus, antikanker dan antimikroba (Bavia *et al.*, 2012). Oleh karena itu, diduga tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* juga bersifat antibakteri sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pola pertumbuhan khamir selama fermentasi tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*.
2. Mengetahui adanya daya hambat tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

1.3. Kerangka Pemikiran

Inokulum tempe sangat mempengaruhi kualitas tempe yang dihasilkan. Jenis kapang yang berperan utama dalam pembuatan tempe ialah *Rhizopus oligosporus* (Kustyawati *et al.*, 2014). Selain *Rhizopus oligosporus*, beberapa penelitian telah melaporkan adanya keterlibatan mikroba lain seperti bakteri dan khamir dalam proses fermentasi tempe. Kustyawati (2009) melaporkan bahwa bakteri-bakteri indigenus tempe mampu tumbuh bersama kapang dan khamir selama fermentasi tempe. Bakteri secara signifikan selalu tumbuh selama pembuatan tempe. Hasil penelitian yang sama diungkapkan oleh Efriwati *et al.* (2013), yang menyatakan bahwa tempe mengandung bakteri asam laktat dan Samson *et al.* (1987) yang melaporkan keterlibatan khamir dalam fermentasi tempe.

Pertumbuhan mikroba pada tempe mengalami peningkatan selama fermentasi berlangsung. Kustyawati (2009) melaporkan bahwa pertumbuhan mikroba pada tempe dengan penambahan *S. boulardi* mengalami peningkatan sampai akhir fermentasi. Pertumbuhan *Yarrowia lipolytica* dan *R. oligosporus* meningkat sampai akhir fermentasi tempe, walaupun terjadi penundaan pertumbuhan *R.*

oligosporus. Pertumbuhan *Geotrichum candidum* dan bakteri menunjukkan pola peningkatan selama fermentasi tempe, akan tetapi *R. oligosporus* mengalami fase lag sampai 24 jam dan selanjutnya mengalami peningkatan. Bakteri *Lactobacillus fermentum* yang ditambahkan pada fermentasi tempe dapat tumbuh baik dengan *Bacillus cereus* yang diinokulasikan bersama-sama dengan *Lactobacillus fermentum*, dan menunjukkan peningkatan pola pertumbuhan selama proses fermentasi berlangsung (Emilia, 2014).

Spesies khamir lain yang dapat digunakan dalam pembuatan tempe adalah *Saccharomyces cerevisiae* (Kustyawati *et al.*, 2016). Penelitian Rizal *et al.* (2017) menyatakan bahwa tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* memiliki sifat organoleptik yang dapat diterima oleh panelis. Pertumbuhan *S. cerevisiae* diduga sinergis dengan pertumbuhan kapang dan bakteri indigenus selama fermentasi tempe kedelai. Menurut Kustyawati (2009), tidak terdapat pertumbuhan yeast pada tempe yang dibuat dengan inokulum ragi tempe. Oleh karena itu, peningkatan nilai gizi tempe, terutama kandungan -glukan dilakukan dengan penambahan yeast sebagai campuran inokulum ragi tempe. Yeast mampu menstimulir pertumbuhan mikroba lain dengan menghasilkan faktor tumbuh. Yeast juga dapat tumbuh bersama *R. oligosporus*, dan pertumbuhannya dapat mendorong pertumbuhan kapang pada tempe. *Saccharomyces boulardii* mempunyai pertumbuhan mengikuti kapang *R. oligosporus* dan tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Selain itu, yeast akan berkontribusi pada interaksi antara mikroorganisme. Penelitian ini dilakukan untuk mengamati pertumbuhan khamir selama fermentasi tempe menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.

Kapang, khamir, dan bakteri asam laktat pada tempe menghasilkan nutrisi dan komponen bioaktif yang memiliki manfaat kesehatan (Nurdini *et al.*, 2015). Menurut Fadahunsi *et al.* (2013), *R. oligosporus* menghasilkan senyawa fenol yang berperan sebagai zat anti inflamasi, antimikroba, dan antioksidan. Zat antimikroba yang terdapat pada tempe mampu melawan mikroba penyebab penyakit. Salah satu penyakit yang dapat dicegah dengan mengkonsumsi tempe yaitu penyakit diare (Kiers *et al.*, 2003; Nout dan Kiers, 2005; Roubous dan Nout, 2011). Virgianti (2015) menyatakan bahwa konsumsi pangan berbahan dasar tempe pada tikus jantan dapat mengurangi diare yang disebabkan oleh *E. coli*. *Rhizopus sp* pada tempe dapat menghambat bakteri patogenik, yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Shigella flexneri*. Selain itu, kandungan -glukan yang berasal dari *S. cerevisiae* merupakan antimikroba terhadap *E. coli* dan *Pneumococci* (Hetland *et al.*, 2013). Penghambatan yang ditunjukkan oleh ekstrak tempe terhadap bakteri patogen membuat adanya dugaan bahwa tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* juga bersifat antimikroba sehingga akan dikaji penghambatannya terhadap mikroba patogen *E. coli*.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Pola pertumbuhan khamir mengalami peningkatan selama fermentasi tempe.
2. Tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tempe

Tempe adalah produk fermentasi kedelai oleh aktivitas enzimatik kapang *Rhizopus oligosporus* (Kustyawati *et al.*, 2016). Menurut Standar Nasional Indonesia 01-3144-1992, tempe kedelai merupakan produk makanan hasil fermentasi biji kedelai oleh kapang tertentu, berbentuk padatan kompak dan berbau khas serta bewarna putih atau sedikit keabu-abuan. Tempe dengan kualitas baik mempunyai ciri-ciri berwarna putih bersih yang merata pada permukaannya, memiliki struktur yang homogen dan kompak, serta berasa, berbau dan beraroma khas tempe (Winanti *et al.*, 2014). Syarat mutu tempe kedelai menurut Standar Nasional Indonesia 01-3144-1992 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 01-3144-1992.

Kriteria Uji	Persyaratan
Keadaan	
- Bau	normal (khas tempe)
- Warna	normal
- Rasa	normal
Air (% b/b)	maks 65
Abu (% b/b)	maks 1,5
Protein (% b/b) (Nx6,25)	min 20
Cemaran mikroba	
- <i>E. coli</i>	maks 10
- <i>Salmonella</i>	negatif

Sumber : Badan Standarisasi Nasional, 1992.

Tempe memiliki manfaat baik dari segi nutrisi maupun manfaat kesehatan. Tempe mengandung berbagai unsur yang bermanfaat, seperti protein, lemak, hidrat arang, serat, vitamin, enzim, *daidzein*, *genestein*, serta komponen antibakteri dan zat antioksidan yang dapat berkhasiat sebagai obat (Cahyadi, 2006 dalam Dwinaningsih, 2010). Kapang yang tumbuh menyebabkan protein, lemak, dan karbohidrat menjadi lebih mudah dicerna oleh tubuh. Enzim protease akan menguraikan protein pada tempe menjadi peptida dan asam amino (Rahayu *et al.*, 2015). Komposisi kimia tempe dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia tempe.

Komposisi	Tempe
Air (wb)	61,2 %
Protein kasar (db)	41,5 %
Minyak kasar (db)	22,2%
Karbohidrat (db)	29,6 %
Abu (db)	4,3 %
Serat kasar (db)	3,4%
Nitrogen (db)	7,5%

(Sumber : Cahyadi, 2006 dalam Dwinaningsih, 2010).

2.1.1. Protein Tempe

Tempe merupakan makanan yang kaya protein. Kadar protein tempe berkisar 41,5 persen (bk). Tempe mengandung dua tipe protein yaitu *glycinin* dan *-conglycinin*. *Glycinin* mempunyai peran sebagai antioksidan. *-conglycinin* dilaporkan mempunyai peran dapat menurunkan akumulasi kolesterol dalam aorta, sehingga dapat mencegah penyakit jantung koroner (Agung, 2013).

Pengolahan kedelai menjadi tempe meningkatkan kadar protein pada tempe. Menurut Bavia *et al.*, (2012), peningkatan kadar protein pada tempe disebabkan oleh hilangnya beberapa komponen terlarut seperti mineral dan gula dari biji

kedelai. Ferreira (2011) menambahkan, terjadi peningkatan kadar protein sebanyak 21 persen pada tempe jika dibandingkan dengan kotiledon. Miselium kapang yang memiliki aktivitas proteolitik juga dapat berkontribusi terhadap peningkatan kadar protein pada tempe (Astawan *et al.*, 2013). Handoyo dan Morita (2006) menjelaskan bahwa lamanya waktu fermentasi akan menyebabkan terjadinya peningkatan kadar asam amino bebas yang terdapat pada tempe. Peningkatan kadar asam amino bebas tersebut disebabkan aktivitas kapang yang terus menghidrolisis protein hingga membentuk asam amino dan peptida-peptida.

2.1.2. Lemak Tempe

Tempe memiliki kandungan lemak yang rendah, jauh di bawah kandungan lemak pada hewani. Tempe mengandung asam lemak tidak jenuh yang lebih tinggi, yaitu 50-70 kali dibanding pada kedelai. Kandungan ini sangat penting dalam mengatasi penyakit jantung. Asam lemak oleat, linoleat, linolenat merupakan asam lemak tidak jenuh yang paling banyak dikandung pada tempe. Asam lemak oleat mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) yaitu lemak baik yang dapat memindahkan kolesterol di pembuluh darah ke hati sehingga menurunkan resiko penyakit jantung. Asam linoleat dan asam-asam linolenat juga mengalami elongasi dan desaturasi menjadi rantai lebih panjang dan merupakan prekursor komponen *eicosanoid* yang menyerupai hormon, *prostaglandin* dan *leukotrienes*. Asam linoleat akan dikonversi menjadi asam arakhidonat, sedangkan asam linolenat akan dikonversi menjadi *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexosenoic* (DHA) yang dapat mencegah timbulnya platelet darah (Agung, 2013).

2.1.3. Vitamin Tempe

Tempe kaya akan vitamin, terutama vitamin B. Kandungan vitamin B₁₂ yang cukup tinggi berkorelasi negatif dengan homosistein serum yang memicu peningkatan hidrogen peroksida sehingga menimbulkan resiko kerusakan sel endotel dan timbulnya platelet pada pembuluh darah yang akan mengakibatkan stroke atau penyakit jantung koroner (Agung, 2013). Menurut Dwinaningsih (2010), kandungan vitamin pada tempe khususnya vitamin B kompleks seperti riboflavin, niasin, biotin, asam pantotenat, dan vitamin B₆ meningkat jumlahnya selama fermentasi, kecuali vitamin B₁ karena digunakan oleh kapang tempe sebagai sumber nutrisi pertumbuhan. Kandungan vitamin B₁₂ di dalam tempe berkisar antara 1.5-6.3 mikrogram per 100 gram tempe kering yang dapat mencukupi kebutuhan harian seseorang. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Agung *et al.* (2013) menjelaskan bahwa ketika proses fermentasi aktivitas vitamin B₁₂ meningkat 33 kali, vitamin B₂ sebanyak 8-47 kali, vitamin B₃ sebanyak 2-5 kali, vitamin B₆ sebanyak 4-14 kali, biotin sebanyak 2-3 kali, asam folat sebanyak 4-5 kali, dan panthotenat sebanyak 2 kali.

2.1.4. Mineral Tempe

Tempe merupakan bahan pangan sumber mineral. Tempe mengandung mineral makro dan mikro dalam jumlah yang cukup. Jumlah mineral besi, tembaga, dan *zink* berturut-turut adalah 9,39; 2,87; dan 8,05 mg setiap 100 g tempe. Kandungan mineral kalsium dan fosfor per 100 g tempe masing-masing 347 dan 724 mg (Dwinaningsih, 2010). Kandungan kalsium dan fosfor yang tinggi dalam tempe

akan meningkatkan ketersediaan mineral kalsium dan fosfor bagi tubuh dan sangat bermanfaat dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tulang. Mineral-mineral lain terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit (kurang dari 0,003 persen) yaitu boron, magnesium, berilium dan seng. Tempe juga mengandung mineral seperti Ca dan Fe, tidak mengandung kolesterol dan relatif bebas dari racun kimia (Suhartanti, 2010).

2.1.5. Fosfor Tempe

Fermentasi kedelai menjadi tempe meningkatkan kandungan fosfor tempe. Hal ini disebabkan oleh hasil kerja enzim fitase yang dihasilkan kapang *Rhizopus oligosporus* yang mampu menghidrolisis asam fitat menjadi inositol dan fosfat yang bebas (Rokhmah *et al.*, 2009). Asam fitat adalah senyawa fosfor yang dapat mengikat mineral (kalsium, besi, fosfor, magnesium, seng) sehingga tidak dapat diserap oleh tubuh. Terurainya asam fitat karena perebusan dan oleh enzim fitase yang dihasilkan cendawan *Rhizopus oligosporus* menyebabkan fosfor tempe dapat dimanfaatkan tubuh dan penyerapan mineral lain tidak terganggu (Anam *et al.*, 2010).

Kadar asam fitat kedelai menurun selama proses pengolahan menjadi tempe. Kadar asam fitat akan menurun secara drastis akibat perlakuan perendaman dan fermentasi. Fajri dan Sulasmi (2014) menyatakan bahwa proses perendaman dalam air panas dan fermentasi selama proses pembuatan tempe dapat menurunkan kandungan asam fitat sehingga mineral dapat lebih mudah diserap tubuh. Kapang tempe dapat menghasilkan enzim fitase yang akan menguraikan

asam fitat menjadi fosfor dan inositol. Asam fitat berkurang sekitar 30% dari kedelai sebelum fermentasi.

2.1.6. Isoflavon Tempe

Tempe mengandung senyawa antioksidan dalam bentuk isoflavon. Isoflavon ini sangat dibutuhkan tubuh untuk menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas. Isoflavon tempe terdiri dari daidzein, glisitein, genistein, dan antioksidan faktor II (6,7,4-*trihidroksi* isoflavon). Antioksidan faktor II mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan ketiga jenis isoflavon sebelumnya. Antioksidan ini disintesis pada saat terjadinya proses fermentasi kedelai menjadi tempe oleh bakteri *micrococcus luteus* dan *coreyne bacterium* (Badan Standarisasi Nasional, 2012).

Tempe merupakan sumber isoflavon yang penting karena dapat menyediakan sampai dengan 28,5 mg isoflavon. Kebutuhan isoflavon yang dianjurkan adalah 30-50 mg/hari. Konsumsi dua potong tempe dapat memenuhi lebih dari setengah kebutuhan akan isoflavon manusia (Agung *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Unitly (2008), kandungan isoflavon tepung tempe lebih tinggi dibandingkan tepung kedelai. Isoflavon yang dominan yang terdapat pada tepung kedelai dan tepung tempe adalah jenis *daidzein* dan *genistein*.

Terjadinya proses hidrolisis enzimatis pada saat perendaman kedelai dan hidrolisis enzimatis pada saat perendaman dan fermentasi kedelai dalam proses pembuatan tempe diduga mengubah distribusi isomer aglikon daidzein dan

genistein, sehingga menyebabkan perbedaan kandungan isoflavon aglikon yang terdapat di dalamnya (Mursyid, 2014).

Perendaman, pemasakan, dan fermentasi tempe menurunkan kadar isoflavon glukosida dan *malonyl*, tetapi meningkatkan bioavailabilitas isoflavon (Ferreira, 2011). Haron *et al.* (2009) menyatakan bahwa fermentasi meningkatkan isoflavon aglikon hingga dua kali serta meningkatkan bioavailabilitasnya. Isoflavon aglikon terbesar terdapat pada tempe mentah. Hasil penelitian Purwoko *et al.* (2001) menunjukkan bahwa tempe hasil fermentasi *R. oryzae* menghasilkan isoflavon aglikon sekitar 268.2 µg/g, sedangkan tempe hasil fermentasi *R. microsporus* var. *Chinensis* sebesar 721,6 µg/g. Kandungan *genestein* dan *fitoestrogen* tempe dapat mencegah kanker prostat dan payudara (Badan Standarisasi Nasional, 2012).

2.1.7. Antimikroba Tempe

Selain sebagai sumber gizi, tempe merupakan sumber senyawa bioaktif. Agung (2013) menyatakan bahwa tempe mengandung zat antimikroba aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif sehingga dapat memperbaiki gangguan pencernaan seperti kegagalan pencernaan dan absorpsi zat gizi. Konsumsi tempe secara rutin mengakibatkan lebih jarang terkena penyakit saluran pencernaan. Virgianti (2015) menyebutkan bahwa tempe mengandung zat antibakteri penyebab diare, penurun kolesterol darah, pencegah penyakit jantung, hipertensi, dan lain-lain. Kandungan senyawa aktif pada tempe dihasilkan dari proses metabolisme jamur *Rhizopus oligosporus*. Protein sederhana dengan berat

molekul 5.500 mengandung komponen asam amino *cystein* yang tinggi dan sangat aktif melawan bakteri gram positif.

2.2. Mikrobiologi Tempe

Inokulum tempe merupakan kumpulan spora kapang yang memegang peranan penting dalam pembuatan tempe. Inokulum tempe ini sangat mempengaruhi kualitas tempe yang dihasilkan. Jenis kapang yang berperan utama dalam pembuatan tempe ialah *Rhizopus oligosporus* (Kustyawati *et al.*, 2016). Rahayu *et al.* (2015) menyatakan bahwa kapang-kapang lain yang terdapat pada tempe adalah spesies kapang *Rhizopus* yang berada dalam tempe antara lain *R. oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, dan *R. stolonifer*. *Rhizopus* yang digunakan dalam pembuatan tempe mampu memproduksi enzim proteolitik sehingga memecah protein menjadi peptida dan asam amino.

Kapang tempe dapat memperbaiki kandungan gizi kedelai. *Rhizopus oligosporus* dapat meningkatkan gizi kedelai karena lebih banyak memproduksi enzim protease dan mensintesis enzim α -amilase. *Rhizophus oligosporus* mampu menghidrolisis asam fitat menjadi inositol dan fosfat yang bebas sehingga meningkatkan kandungan fosfor tempe (Kustyawati, 2014). *Rhizopus oligosporus* juga memiliki kemampuan menghasilkan antibiotik yang melawan beberapa mikroba penyebab penyakit (Roubous *et al.*, 2010) dan biosintesa vitamin-vitamin B (Wipradnyadewi *et al.*, 2004).

Masyarakat Indonesia yang mengkonsumsi tempe secara terus menerus akan terhindar dari disentri dan gangguan pencernaan (Babu *et al.*, 2009). Hal ini

dikarenakan kapang *Rhizopus* mampu memproduksi senyawa antibiotik yang melawan beberapa mikroba penyebab penyakit (Roubous *et al.*, 2010). Efek antidiare tempe berhubungan dengan karakteristik antibakteri tempe. Senyawa antibakteri pada tempe ini yaitu glikoprotein yang aktif menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (Bintari *et al.*, 2008).

Mikroba lain yang terlibat dalam fermentasi tempe adalah khamir dan bakteri. Bakteri merupakan mikroflora yang secara signifikan selalu tumbuh selama pembuatan tempe dan mempunyai peran yang penting (Kustyawati, 2009). Menurut Efriwati *et al.* (2013), tempe mengandung bakteri asam laktat yang sangat berperan dalam memberikan aroma dan tekstur yang baik. Khamir memiliki peran penting dalam meningkatkan kandungan gizi tempe. Hasil penelitian Kustyawati (2009), menunjukkan bahwa tempe yang difermentasi dengan penambahan *S. Boulardii* mengandung asam folat paling baik, yaitu 89,28 µg/100 g, vitamin B₁₂ sebesar 3,95 mcg/100 g, dan *daidzein* sebesar 0,78%. Tempe ini mempunyai tekstur kompak, diselimuti oleh miselium berwarna putih, dan mudah diiris. Fermentasi kedelai dengan *R. oligosporus* dan *S. boulardii*, menghasilkan tempe dengan aroma harum- manis yang menutupi aroma kedelai pada umumnya. Hal ini dikarenakan yeast mempunyai aktivitas proteolitik dan lipolitik yang sangat tinggi, sehingga mampu menghidrolisa protein maupun lemak menghasilkan asam amino, ester, asam lemak, etanol, *acetaldehid*, *ethyl acetate* dan *ethyl butyrate* yang merupakan komponen flavor dan aroma.

2.3. *Rhizopus oligosporus*

Rhizopus oligosporus merupakan kapang yang banyak digunakan dalam pembuatan tempe. *Rhizopus oligosporus* memiliki koloni abu-abu sampai biru kecoklatan dengan tinggi kurang lebih 1 mm. *Rhizopus oligosporus* memiliki sporangiofor tunggal atau dalam kelompok dengan dinding halus atau agak sedikit kasar, dengan panjang lebih dari 1000 μm dan diameter 10-18 μm . Sporangia jamur ini bersifat globosa yang pada saat masak berwarna hitam kecoklatan, dengan diameter 100-180 μm , sedangkan kolumelanya globosa sampai sub globosa dengan apofisa apofisa berbentuk corong. Ukuran sporangiospora jamur ini tidak teratur berupa globosa atau elip dengan panjang 7-10 μm (Gueh, 2007).

Menurut Fardiaz (1992), struktur morfologi kapang tersusun atas dua bagian yaitu miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan dari hifa. Hifa kapang biasanya berupa serabut-serabut halus seperti kapas yang dapat tumbuh di bawah atau di atas permukaan medium. Pertumbuhan hifa berasal dari spora yang telah melakukan germinasi membentuk *tuba germ* yang akan tumbuh terus membentuk miselium. *Rhizopus oligosporus* berkembang dengan baik pada temperatur 30-35⁰C dan memiliki ciri-ciri hifa seperti benang berwarna putih sampai kelabu hitam serta tidak bersekat, memiliki rhizoid dan sporangiospora.

2.4. *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan cendawan berupa khamir (yeast) sejati tergolong eukariot yang mempunyai potensi kemampuan tinggi sebagai imunostimulan. *Saccharomyces cerevisiae* umumnya memiliki bentuk elipsoidal

dengan diameter yang besar antara 5-10 μm dan diameter yang kecil antara 1-3 μm sampai 1- 7 μm . Salah satu ciri khamir ini adalah memiliki warna putih kekuningan yang dapat dilihat diatas permukaan tumbuh koloni (Nurhakim *et al.*, 2016). Menurut Singleton dan Sainsbury (2006), *Saccharomyces cerevisiae* adalah jenis fungi yang banyak dimanfaatkan oleh manusia. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme penghasil amilase yang cukup berpotensi, selain bakteri dan kapang. Aktivitas enzim amilase terutama isoamilase dapat menghidrolisa ikatan α -1,6 pada amilopektin (Kustyawati *et al.*, 2013).

Saccharomyces cerevisiae termasuk khamir jenis *Ascomycetes* yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak sehingga dapat dikonsumsi oleh manusia dan hewan guna melengkapi kebutuhan nutriennya sehari-hari.

Saccharomyces cerevisiae juga mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks. *Saccharomyces cerevisiae* mudah dicerna dan tidak menularkan atau menimbulkan penyakit (Purwitasari *et al.*, 2004). Menurut Kusumaningtyas (2006), β -D-glucans pada dinding sel *S. cerevisiae* dapat mengikat aflatoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus*.

Saccharomyces cerevisiae merupakan galur potensial penghasil β -glukan, karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas β -glukan. β -Glukan merupakan homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan β -(1,3) dan β -(1,6)-glukosida (Ha *et al.*, 2002). β -glukan sel ragi khas terdiri dari \sim 30-45% β -1,3-glukan dan \sim 5-10% dari β -1,6-glukan (Pengkumsri *et al.*, 2017). β -1,3-D-glukan berperan dalam pemeliharaan bentuk dinding sel ragi dan kekakuan (Lessage dan Bussey, 2006), sedangkan β -1,6-D-glukan sebagai polisakarida yang menghubungkan

bersama semua polisakarida dinding sel (Aimaniada *et al.*, 2009). β -glukan dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Hetland *et al.*, 2003).

Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai campuran inokulum dalam pembuatan tempe kedelai dapat memperbaiki kandungan gizi tempe yang dihasilkan. Penambahan *S. cerevisiae* mampu meningkatkan kadar ergosterol, niasin, dan vitamin B₆ pada tempe barley (Feng, 2006). Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dalam fermentasi tempe menghasilkan kandungan β -glukan yang berasal dari khamir. Menurut Nicolasi (1999), khamir yang telah diekstraksi memiliki kandungan β -glukan yang tinggi, yaitu berkisar antara 85-90%. Gultom (2009) melaporkan bahwa tempe terbaik adalah tempe dengan penambahan fermipan, yang memiliki karakteristik aroma khas tempe, tekstur yang kompak, dan jumlah miselium yang banyak. Kustyawati *et al.* (2016) menyatakan bahwa tempe modifikasi yang dibuat dengan penambahan 1% dan 2% *S. cerevisiae* memiliki tampilan warna putih miselia yang menutupi seluruh tempe dan tekstur yang kompak mirip dengan tempe biasa.

2.5. Fase Pertumbuhan Mikroba

Pertumbuhan mikroba dalam suatu kultur melewati beberapa fase. Menurut Fardiaz (1992), fase-fase pertumbuhan mikroba terdiri dari :

1. Fase Adaptasi

Fase adaptasi adalah fase penyesuaian mikroba dengan kondisi lingkungan baru di sekelilingnya. Jumlah awal sel yang dipindah ke media baru mempengaruhi cepat lambatnya fase adaptasi. Apabila media dan lingkungan

pertumbuhan sama dengan media sebelumnya, adaptasi mungkin tidak diperlukan. Waktu penyesuaian ini umumnya berlangsung selama 2 jam.

2. Fase Pertumbuhan Awal

Pada fase ini, mikroba mulai membelah diri dengan kecepatan yang rendah karena baru menyesuaikan diri.

3. Fase Pertumbuhan Logaritmik

Mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh pH, kandungan nutrisi, suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini kultur paling sensitif terhadap keadaan lingkungan.

4. Fase Pertumbuhan Lambat

Pertumbuhan populasi mikroba diperlambat karena zat nutrisi sudah sangat berkurang dan ada hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada yang mati.

5. Fase Tetap (*Stationary Phase*)

Pertumbuhan populasi mikroorganisme dibatasi oleh habisnya bahan gizi yang tersedia atau penimbunan zat racun sebagai hasil akhir metabolisme, sehingga kecepatan pertumbuhan menurun dan mulai ada yang mati.

Pembelahan terhambat pada suatu saat terjadi jumlah bakteri yang tetap sama. Jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis.

6. Fase Kematian (*Death Phase*)

Sel-sel yang berada dalam fase tetap akhirnya akan mati bila tidak dipindahkan ke media segar lainnya. Fase menurun atau kematian merupakan penurunan secara garis lurus yang digambarkan oleh jumlah sel-sel hidup terhadap waktu, jumlah bakteri hidup berkurang dan menurun. Sebagian besar populasi mikroba mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium sudah habis, adanya zat racun dan habisnya energi cadangan di dalam sel. Kecepatan kematian tergantung dari kondisi nutrisi, lingkungan dan jenis mikroba.

2.6. Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Potensi dari suatu antibakteri diperkirakan dengan membandingkan zona hambat pertumbuhan terhadap antibiotik. Uji antibakteri dapat dilakukan melalui dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi.

Metode difusi terdiri atas metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur), *E-test*, *ditch-plate technique*, *cup-plate technique*, sedangkan metode dilusi meliputi metode dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi, 2008 dalam Kusuma, 2017).

Pengamatan pada metode difusi adalah diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri karena difusinya obat pada titik awal pemberian ke daerah difusi. Metode ini dilakukan dengan cara menanam bakteri pada media agar padat tertentu kemudian diletakkan kertas samir atau disk yang mengandung obat dan dilihat hasilnya. Diameter zona jernih inhibisi di sekitar cakram diukur sebagai kekuatan

inhibisi antibiotik melawan bakteri yang diuji (Hasibuan, 2016). Menurut Pratiwi (2008) dalam Maghfiro (2017), metode difusi terdiri atas :

1. Metode *disk diffusion*

Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur) menggunakan piringan yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Pada hasil yang ditunjukkan, dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong. Semakin besar zona hambat yang dihasilkan, semakin besar pula aktivitas suatu zat antimikroba. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri.

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

2. Metode Sumuran (Perforasi)

Bakteri uji yang telah diinkubasi 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Selanjutnya dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi.

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian dan Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017 sampai dengan Maret 2018.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ragi tempe dengan merk dagang Raprima, kultur murni *Rhizopus oligosporus* FNCC 6010 dan *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3012 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta, kacang kedelai jenis impor dengan merk dagang Soybean USA no. 1 yang diperoleh dari Gunung Sulah di Bandar Lampung, *Escherichia coli* yang diperoleh dari Balai Veteriner Lampung, akuades, *peptone water*, garam fisiologis 0,85%, alkohol 70%, *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA), etanol, kertas cakram, *Malt Extract Agar* (MEA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Mac Conkey Agar* (MCA), aluminium foil, dan kapas.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, jarum ose, batang pengaduk, beaker glass, batang pengaduk segitiga, rak tabung reaksi, inkubator, kulkas, *centrifuge*, tabung *centrifuge*, baskom, loyang, timbangan, panci, kompor, tampah, saringan bambu, para-para, mikropipet, pipet tip, jangka sorong, mikroskop, *haemocytometer*, vortex, timbangan analitik, dan autoklaf.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan dua faktor dan tiga kali ulangan. Faktor pertama adalah jenis inokulum tempe (J), terdiri atas 4 taraf yaitu ragi tempe (J1), *Saccharomyces cerevisiae* (J2), *Rhizopus oligosporus* (J3), dan campuran *Rhizopus oligosporus* + *Saccharomyces cerevisiae* (J4). Faktor kedua adalah waktu fermentasi (T), terdiri dari 6 taraf yaitu 0 jam (T1), 8 jam (T2), 16 jam (T3), 24 jam (T4), 32 jam (T5), dan 40 jam (T6). Berdasarkan kedua faktor tersebut diperoleh kombinasi perlakuan yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 4. Kombinasi perlakuan.

J	T					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
J1	J1T1	J1T2	J1T3	J1T4	J1T5	J1T6
J2	J2T1	J2T2	J2T3	J2T4	J2T5	J2T6
J3	J3T1	J3T2	J3T3	J3T4	J3T5	J3T6
J4	J4T1	J4T2	J4T3	J4T4	J4T5	J4T6

Keterangan :

- J1T1 : kedelai + ragi tempe, difermentasi 0 jam (kontrol positif)
- J1T2 : kedelai + ragi tempe, difermentasi 8 jam (kontrol positif)
- J1T3 : kedelai + ragi tempe, difermentasi 16 jam (kontrol positif)
- J1T4 : kedelai + ragi tempe, difermentasi 24 jam (kontrol positif)
- J1T5 : kedelai + ragi tempe, difermentasi 32 jam (kontrol positif)
- J1T6 : kedelai + ragi tempe, difermentasi 40 jam (kontrol positif)
- J2T1 : kedelai + *S. cerevisiae*, difermentasi 0 jam (kontrol negatif)
- J2T2 : kedelai + *S. cerevisiae*, difermentasi 8 jam (kontrol negatif)
- J2T3 : kedelai + *S. cerevisiae*, difermentasi 16 jam (kontrol negatif)
- J2T4 : kedelai + *S. cerevisiae*, difermentasi 24 jam (kontrol negatif)
- J2T5 : kedelai + *S. cerevisiae*, difermentasi 32 jam (kontrol negatif)
- J2T6 : kedelai + *S. cerevisiae*, difermentasi 40 jam (kontrol negatif)
- J3T1 : kedelai + *R. oligosporus*, difermentasi 0 jam
- J3T2 : kedelai + *R. oligosporus*, difermentasi 8 jam
- J3T3 : kedelai + *R. oligosporus*, difermentasi 16 jam
- J3T4 : kedelai + *R. oligosporus*, difermentasi 24 jam
- J3T5 : kedelai + *R. oligosporus*, difermentasi 32 jam
- J3T6 : kedelai + *R. oligosporus*, difermentasi 40 jam
- J4T1 : kedelai + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 0 jam
- J4T2 : kedelai + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 8 jam
- J4T3 : kedelai + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 16 jam
- J4T4 : kedelai + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 24 jam
- J4T5 : kedelai + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 32 jam
- J4T6 : kedelai + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 40 jam

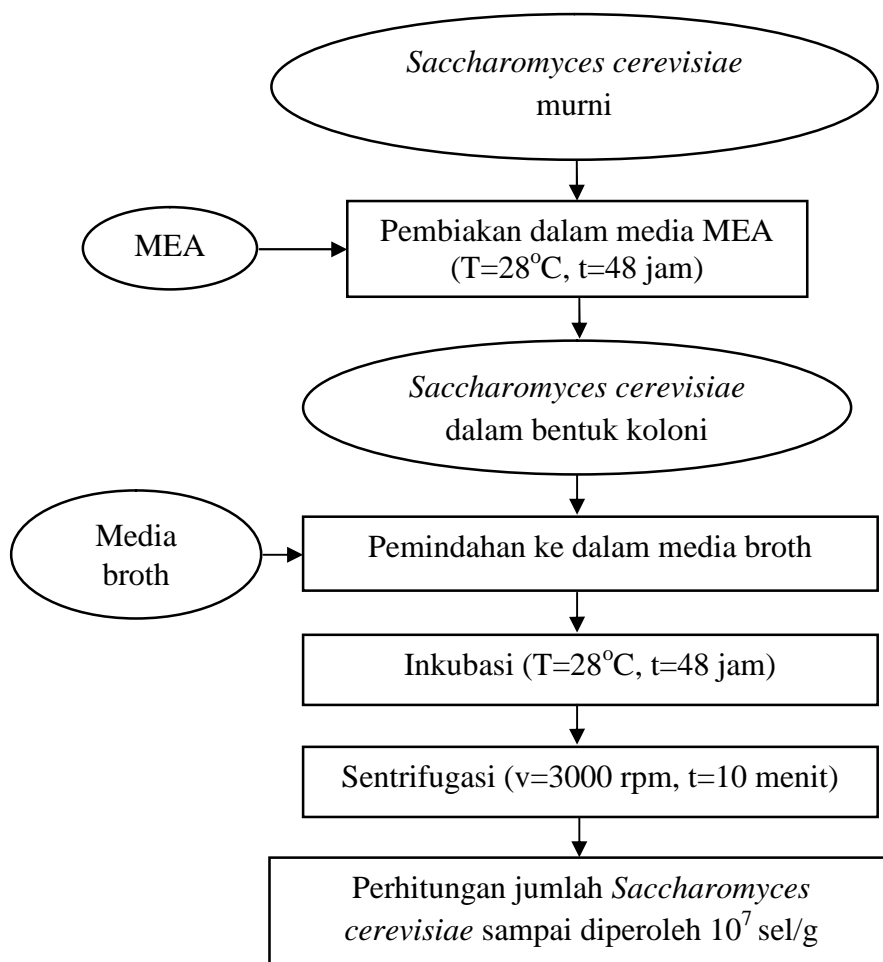
Parameter yang diamati yaitu jumlah khamir selama fermentasi tempe dan aktivitas antibakteri tempe terhadap *Escherichia coli*. Data yang diperoleh diuji kesamaan ragamnya dengan uji Barlett dan dilakukan uji kemenambahan data menggunakan uji Tuckey. Data kemudian dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Data diuji lanjut menggunakan uji *Orthogonal Polynomial – Orthogonal Comparison* (OP-OC) pada taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pembuatan Biakan

1. Pembuatan Biakan *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae dari agar miring dibiakan ke dalam media *Malt Extract Agar* (MEA) dalam cawan petri sehingga diperoleh *S. cerevisiae* dalam bentuk koloni di dalam media. Koloni-koloni *S. cerevisiae* tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media broth sebanyak 9 mL, kemudian dihomogenisasi menggunakan vortex dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 48 jam. Selanjutnya *S. cerevisiae* disentrifugasi untuk memisahkan antara pelet *S. cerevisiae* dan media cair dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Sentrifugasi dilakukan sebanyak dua kali, dengan menggunakan akuades steril pada proses sentrifugasi yang kedua. Setelah itu, jumlah sel *S. cerevisiae* dihitung menggunakan *haemocytometer* sampai diperoleh *S. cerevisiae* berjumlah 10^7 sel/g. Tahapan persiapan inokulum *S. cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir persiapan inokulum *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Pembuatan Biakan *Rhizopus oligosporus*

Rhizopus oligosporus dari agar miring dibiakkan ke dalam media *Potato Dextrose*

Agar (PDA) dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu

25°C sehingga diperoleh *R. oligosporus* dalam bentuk koloni. Koloni-koloni

R. oligosporus tersebut dipanen menggunakan batang pengaduk segitiga dengan

menambahkan akuades steril sebanyak 5-10 mL. Selanjutnya, spora *R.*

oligosporus disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah

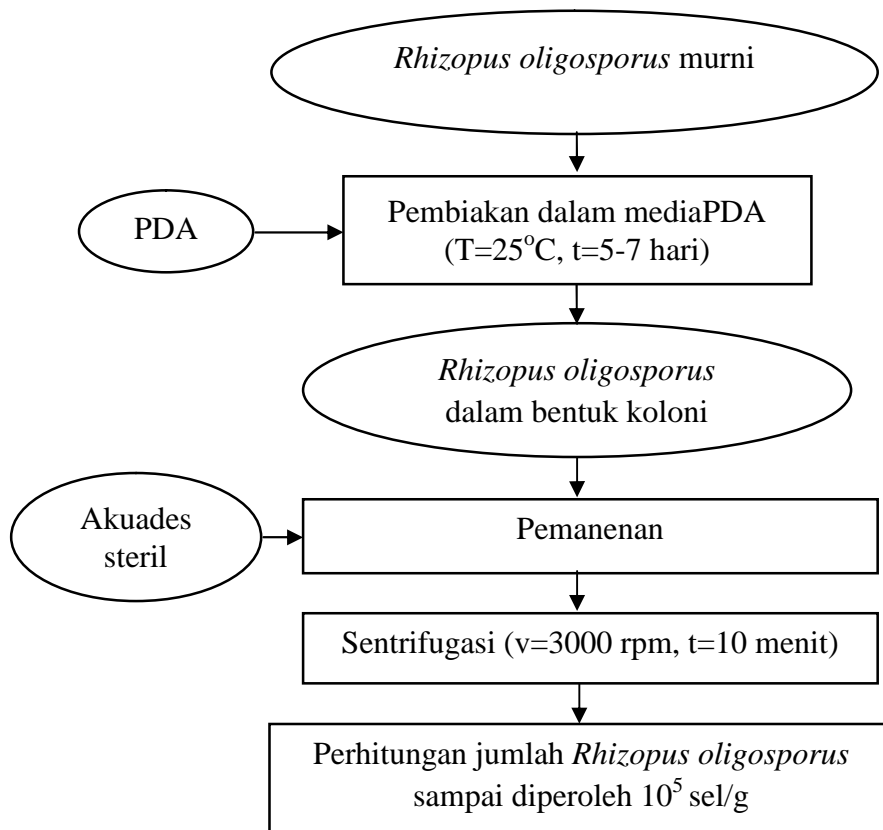
itu, diperoleh spora *R. oligosporus* padat, lalu diencerkan dalam larutan

pengencer. Jumlah spora *R. oligosporus* yang berada di dalam larutan pengencer

dihitung dengan menggunakan *haemocytometer* sampai diperoleh spora

R. oligosporus berjumlah 10^5 spora/g. Tahapan persiapan inokulum

R. oligosporus dapat dilihat pada Gambar 2.

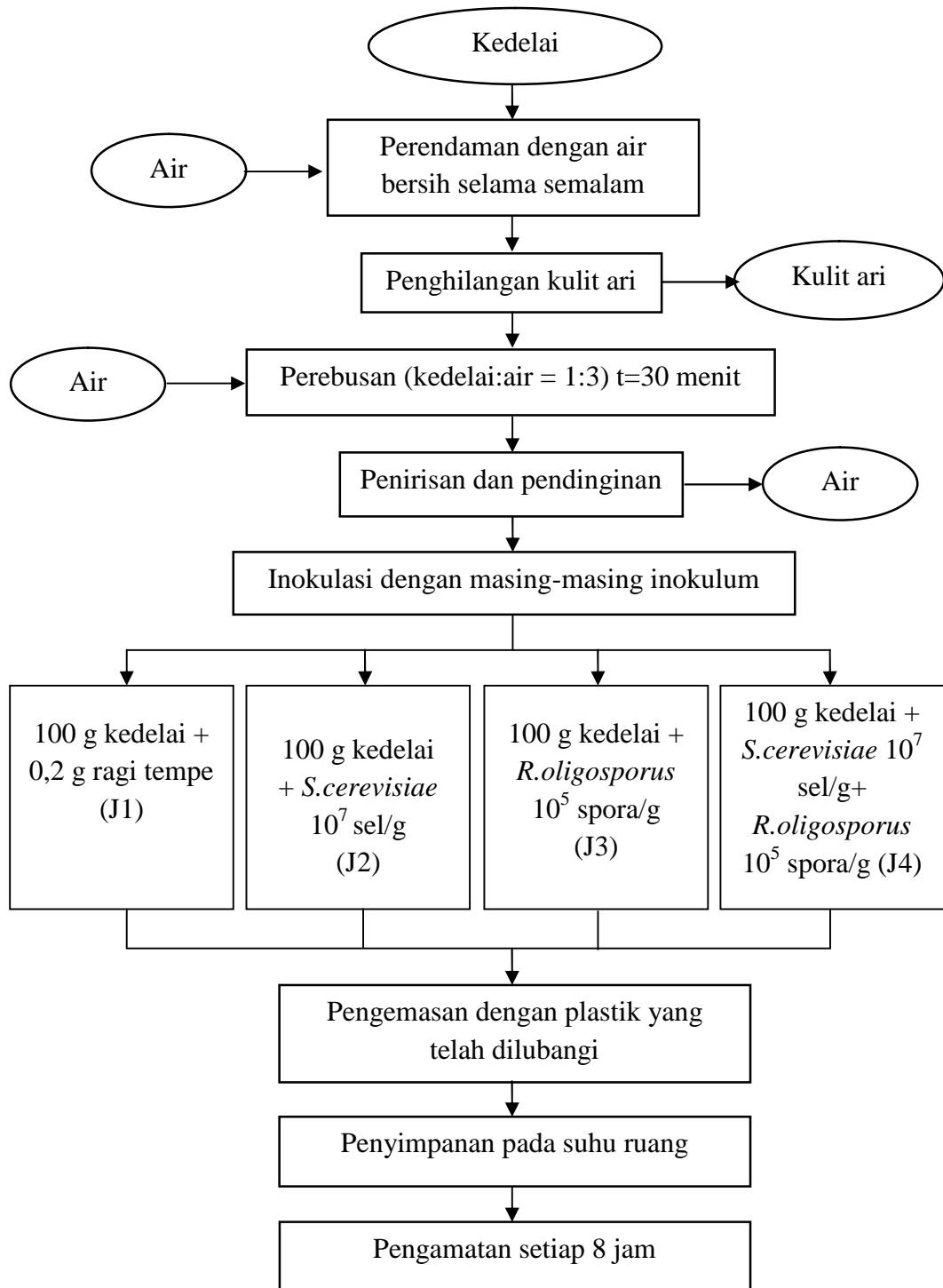


Gambar 2. Diagram alir persiapan inokulum *Rhizopus oligosporus*.

3.4.2. Pembuatan Tempe

Proses pembuatan tempe mengikuti prosedur Kustyawati (2009). Sebanyak 300 gram kedelai direndam dalam air bersih pada suhu ruang selama semalam, kemudian dihilangkan kulit arinya. Selanjutnya kedelai direbus menggunakan air bersih dengan perbandingan 1:3 (kedelai:air) selama 30 menit, ditiriskan lalu dikering- anginkan sampai suhu kedelai mencapai suhu ruang. Tahap peragian dilakukan dengan cara mencampurkan setiap 100 gram kedelai rebus dengan inokulum tempe sesuai perlakuan. Setelah tercampur rata, biji kedelai dimasukkan dalam plastik pengemas yang telah dilubangi secara teratur untuk tujuan aerasi,

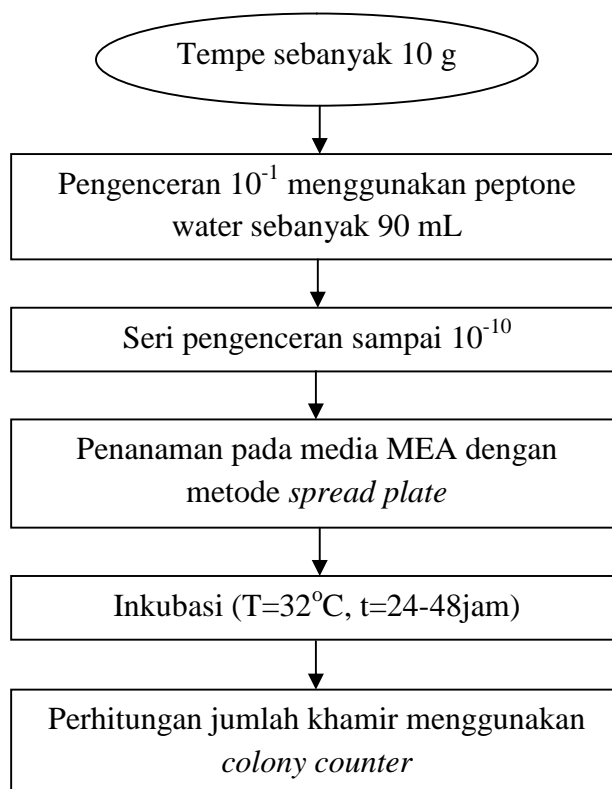
kemudian diinkubasi pada suhu 32°C selama 40 jam, dilakukan pengamatan setiap 8 jam selama fermentasi berlangsung. Diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan tempe (sumber : Kustyawati, 2009).

3.4.3. Perhitungan Jumlah Khamir

Perhitungan jumlah khamir dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan media *Malt Extract Agar* (MEA) mengikuti metode Lay (1994). Perhitungan jumlah khamir ini dilakukan pada jam ke 0, 8, 16, 24, 32, dan 40. Masing masing tempe diambil sampelnya dan dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-10} secara duplo. Persiapan sampel pengujian mengikuti metode Kustyawati (2009). Sebanyak 10 gram sampel tempe dicampur dengan 90 mL peptone water, lalu dihomogenkan. Setelah itu, dibuat seri pengenceran sampai konsentrasi tertentu. Selanjutnya dilakukan penanaman khamir dengan metode *spread plate* pada media *Malt Extract Agar* (MEA). Inkubasi dilakukan pada suhu 32°C selama 24-48 jam. Diagram alir perhitungan jumlah khamir dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir perhitungan jumlah khamir pada tempe. (Lay, 1994).

3.4.4. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

1. Peremajaan Bakteri Uji (NCCLS, 2003)

Peremajaan bakteri *E.coli* menggunakan media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan *Nutrient Broth*. Sebanyak 2 ose bakteri *Escherichia coli* murni ditanam pada media *Mac Conkey Agar* (MCA), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, diambil sebanyak 2 ose *Escherichia coli* dan ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Pembuatan Suspensi Bakteri (NCCLS, 2003)

Sebanyak 1 mL bakteri *E.coli* yang telah diremajakan pada biakan *Nutrient Broth* umur 24 jam diencerkan dalam 9 mL NaCl fisiologis 0,85% dalam tabung reaksi steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 15 detik. Suspensi bakteri uji yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dihitung menggunakan metode *Total Place Count* (TPC) dengan media *Mac Conkey Agar* (MCA).

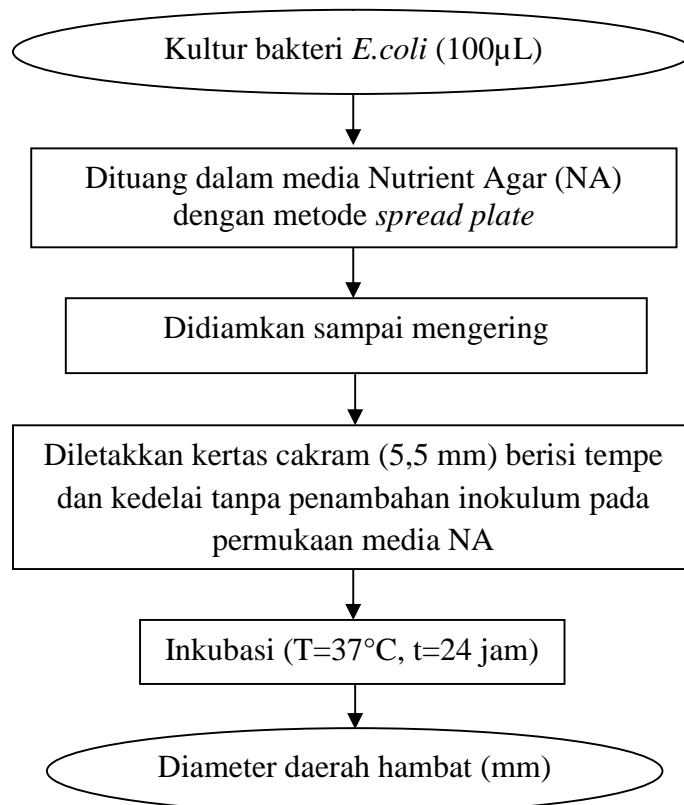
Jumlah koloni bakteri *E.coli* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10^7 CFU/mL.

3.4.5. Pengujian Aktivitas Antibakteri (NCCLS, 2003)

Pengujian aktivitas antibakteri pada tempe dilakukan dengan mengukur diameter daerah hambat yang terbentuk pada zona bening di sekitar kertas cakram.

Sebanyak masing-masing 2 gram tepung tempe dilarutkan dalam 8 mL akuades steril (20% tepung tempe). Kertas cakram berukuran 5,5 mm dimasukkan ke masing-masing perlakuan secara duplo, lalu didiamkan selama 10 menit. Diambil suspensi bakteri uji sebanyak 100 μ L, lalu dituang secara merata pada medium

Nutrient Agar (NA) menggunakan metode *spread plate*. Selanjutnya, ditunggu beberapa saat sampai mengering, lalu diletakkan kertas cakram yang telah dijenuhkan dengan masing-masing tempe. Media yang berisi bakteri uji dan kertas cakram yang telah dijenuhkan dengan tempe diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, Diameter Daerah Hambat (DDH) yang terbentuk di sekitar cakram diamati menggunakan jangka sorong. Diagram alir uji aktivitas antibakteri pada tempe terhadap bakteri *E.coli* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Uji aktivitas antibakteri tempe terhadap *E.coli*, NCCLS (2003).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Pertumbuhan khamir pada tempe yang diinokulasi dengan ragi tempe, *Rhizopus oligosporus*, dan campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* mengalami peningkatan hingga akhir fermentasi.
2. Semua tempe pada penelitian ini mampu menghambat *Escherichia coli*, dengan penghambatan yang paling besar ditunjukkan pada tempe yang diinokulasikan dengan campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*.

5.2. Saran

Saran yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat pertumbuhan khamir pada tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* yang ditambahkan sumber karbon (tepung atau gula).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi terbaik tepung tempe yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, I.G.A. 2013. Suplementasi Kombinasi Tempe M-2 dengan Wortel Meningkatkan HDL dan Antioksidan Total, serta Menurunkan LDL, F2-Isoprostan dan IL-6 pada Wistar Aterosklerosis. (Disertasi). Universitas Udayana. Denpasar.
- Aimaniada, V., C. Clavaud, C. Simenel, T. Fontaine, M. Delepierre, dan J.P. Latage. 2009. Cell Wall (1-6)- β -D-glucan of *Saccharomyces cerevisiae* – Structural Characterization and In Situ Synthesis. *The Journal of Biological Chemistry* 284 : 13401-13412.
- Ambarwati, G., S. Rizal, dan M.E. Kustyawati. 2017. Pengaruh Konsentrasi Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Perubahan Kandungan Kimia pada Tempe. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Anam, C. S. Handajani, dan L.N. Rokhmah. 2010. Study of Phytic Acid and Protein Contents During Velvet Beans Tempeh Production (*Mucuna Pruriens* L.) with Variation of Size Reduction and Fermentation Time. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian, III (1) : 34-43*
- Astawan, M., T. Wresdiyati, S. Widowati, S.H. Bintari, dan N. Ichسانی. 2013. Karakteristik Fisikokimia dan Sifat Fungsional Tempe yang Dihasilkan dari Berbagai Varietas Kedelai. *Jurnal Pangan* 22 (3): 241-252.
- Babu, P.D., R. Bhagyaraj, dan R. Vidhayalakshmi. 2009. Low cost Nutritious “Tempeh” - A Review. *Word Journal Daily Food Science* 4 : 22-27.
- Badan Standarisasi Nasional. 1992. *Standar Mutu Tempe Kedelai*. SNI 01-31441992. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2012. *Tempe : Persembahan Indonesia untuk Dunia*. Jakarta.
- Bavia, A.C.F., C.E. Silva, M.P. Ferreira, R.S. Leite, J.M.G. Mandarino, dan M.C.C. Panizzi. 2012. Chemical Composition of Tempeh from Soybean Cultivars Specially Developed for Human Consumption. *Journal Ciência Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 32 (3) : 613-620.
- Bintari, S.H., D.P. Anisa, E.J. Veronika, dan C.R. Rivana. 2008. Efek Inokulasi Bakteri *Micrococcus luteus* Terhadap Pertumbuhan jamur Benang dan

- Kandungan Isoflavon Pada Proses Pengolahan Tempe. *Jurnal Biosantifika 1* : 1-8.
- Chamidah, A., Hardoko, dan A.A. Prihanto. 2017. *Antibacterial Activities of -glucan (Laminaran) Against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. The 7th International Conference on Global Resource Conservation. AIP Conference Proceedings.*
- Dwinaningsih, E.A. 2010. Karakteristik Kimia dan Sensori Tempe dengan Variasi Bahan Baku Kedelai/Beras dan Penambahan Angkak serta Variasi Lama Fermentasi. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Efriwati, A. Suwanto, G. Rahayu, L. Nuraida. 2013. Populations Dynamic of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB) during Tempeh Production. *Hayati Journal of Biosciences 20 (2) : 57-64.*
- Emilia, Q. 2014. Perilaku *Bacillus cereus* Selama Fermentasi Tempe yang Diperkaya dengan Bakteri Asam Laktat. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fadahunsi, I.F., S.T.Ogunbanwo, dan D.T. Ogundana. 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 Science 2 : 110-117.*
- Fajri, M. dan Sulasmi. 2014. Pengaruh Pengepresan dan Penggorengan Terhadap Zat Gizi Pada Tempe Kacang Tanah. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi BPTP Yogyakarta, 697-701.*
- Fakruddin, N. Hossain, dan M.M. Ahmed. 2017. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a Potential Probiotic. *BMC Complementary and Alternative Medicine 17:64.*
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan.* Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Feng, X.M. 2006. Microbial Dynamics During Barley Tempe Fermentation. (Tesis). Uppsala University. Swedish.
- Feng, X.M., T.O. Larsen, and J Schnürer. 2007. Production of Volatile Compounds by *Rhizopus oligosporus* during Soybean and Barley Tempeh Fermentation. *Journal of Food Microbiology 113 (2) : 133-141.*
- Ferreira M. 2011. Changes in the Isoflavone Profile and in the Chemical Composition of Tempeh During Processing and Refrigeration. *Pesq Agropec Bras 46 (11) : 1555-1561.*

- Gueh Yuh Liou. 2007. Polyphasic Approach to the Taxonomy of the *Rhizopus* Groups. *Mycological Research Vol 3* : 196-203.
- Gultom, U.Y. 2009. Kajian Penambahan Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Kandungan Nutrisi dan Sifat Organoleptik Tempe. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ha, C., K. Lim, Y. Kim, S. Lim, C. Kim, dan H. Chang. 2002. Analysis of Alkali-Soluble Glucan Produced by *Saccharomyces cerevisiae* Wild-Type and Mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58 (3): 370-377.
- Handoyo T dan Morita N. 2006. Structural and Functional Properties of Fermented Soybean (Tempe) by Using *Rhizopus oligosporus*. *International Journal of Food Properties* 9 : 347-355.
- Haron H, Ismail A, Azlan A, Shahar S, and Peng LS. 2009. Daidzein and Genestein Contents in Tempeh and Selected Soyproducts. *Journal of Food Chem.* 115 (1) : 1350-1356.
- Hasibuan, S.A. 2016. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Hetland, G., E. Johnson, D.M. Eide, B. Grinde, A.B.C. Samuelsen, dan H. G. Wiker. 2013. Antimicrobial effects of β -glucans and pectin and of the *Agaricus blazei* Based Mushroom Extract, AndoSanTM. Examples of Mouse Models for Pneumococcal, Fecal Bacterial, and Mycobacterial Infections. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them : Science, Technology and Education* (A. Méndez-Vilas, Ed.). Formatex hal. 889-898.
- Ishmayana, S., A.S. Djajasoepana, S.D. Rachman, dan A. Safari. 2012. Kinerja Fermentasi Ragi *Saccharomyces cerevisiae* Pada Media VHG dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Ragi Sebagai Sumber Nitrogen Untuk Produksi Bioetanol. (Conference Paper). Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Kiers, J.L., J.C. Meijer, M.J.R. Nout, F.M. Rombouts, M.J.A. Nabuurs, dan J.V. Meulen. 2003. Effect of Fermented Soya Beans on Diarrhoea and Feed Efficiency in Weaned Piglets. *Journal of Applied Microbiology* 95 : 545–552.
- Kuligowski, M., I.J. Kuligowska, dan J. Nowak. 2013. Evaluation of Bean and Soy Tempeh Influence on Intestinal Bacteria and Estimation of Antibacterial Properties of Bean Tempeh. *Polish Journal of Microbiology* 62 (2) : 189–194.
- Kusmiati, A. Thontowi, dan S. Nuswantara. 2011. Efek Sumber Karbon Berbeda terhadap Produksi β -Glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. *Jurnal Natur Indonesia*, 13(2) : 138-145.

- Kustyawati, M.E. 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. *Jurnal Agritech* 29 (2) : 64-70.
- Kustyawati, M.E. 2010. Peranan Khamir dalam Pengolahan Pangan. Universitas Lampung Press. Bandar Lampung.
- Kustyawati, M.E., M. Sari, dan T. Haryati. 2013. Efek Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. *Jurnal Agritech* 33 (3) : 281-287.
- Kustyawati, M.E. 2014. Pengawetan Tempe Menggunakan Teknologi Karbon Dioksida Bertekanan Tinggi. (Disertasi). Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Kustyawati, M.E., F. Pratama, D. Saputra, dan A. Wijaya. 2014. Modifikasi Warna, Tekstur dan Aroma Tempe Setelah diproses dengan Karbondioksida Superkritik. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 25 (2) : 168-175. ISSN 1979-7788.
- Kustyawati, M.E., O. Nawansih, dan S. Nurdjannah. 2016. Profile of Aroma Compounds and Acceptability of Modified Tempeh. *International Food Research Journal* 24 (2) : 734-740.
- Kusuma, S.N. 2017. Kajian Daya Hambat Ekstrak Kulit dan Jantung Pisang Muli (*Musa dcuminata*) sebagai Antimikroba Alami dalam Menurunkan Cemaran *Escherichia Coli* Pada Daging Ayam (*Gallus domesticus*). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Kusumaningtyas, E. 2006. Isolat Lokal *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Biokompetitor *Aspergillus flavus*. *JITV* 11 (4) : 324- 330.
- Kwiatkowski, S. dan S.E. Kwiatkowski. 2012. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Glucan Polysaccharides – Occurrence, Separation and Application in Food, Feed and Health Industries. InTech.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikrobial di Laboratorium. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lee, J.N., D.Y. Lee, I.H. Ji, G.E. Kim, H.N. Kim, J. Sohn, S. Kim, dan C.W. Kim. 2001. Purification of Soluble β -Glucan with Immuneenhancing Activity from the Cell Wall of Yeast. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 65(4) : 837-841.
- Lessage, G. dan H. Bussey. 2006. Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 70 (2) : 317-343.
- Maghfiro, S.R. 2017. Kajian Daya Hambat Ekstrak Beberapa Kulit Buah Sebagai Antimikroba Alami dalam Menurunkan Cemaran E.coli Pada Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.

- Mambang, D.E.P., Rosidah, dan D. Suryanto. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal teknologi dan Industri Pangan* 25 (1) : 115-118. ISSN 1979-7788.
- Mursyid. 2014. Kandungan Zat Gizi dan Nilai Gizi Protein Tepung Tempe Kedelai Lokal dan Impor serta Aktivitas Antioksidannya. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2003. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 6th Ed M02-A11*, Wayne, PA. USA.
- Nicolasi R. 1999. Plasmalipid Changes After Supplementation with Beta-glucan Fiber from Yeast. *Am Journal Clin Nutrition*. 70 : 208-212.
- Nout, M.J.R. dan L.J. Kiers 2005. Tempe Fermentation, Innovation and Functionality : Update into the Third Millenium. *Journal of Applied Microbiology* 98 : 789–805.
- Nurdini A.L., L. Nuraida, A. Suwanto, dan Suliantari. 2015. Microbial Growth Dynamics during Tempeh Fermentation in Two Different Home Industries. *International Food Research Journal* 22 (4): 1668-1674.
- Nurfajarwati, W. 2006. Produksi β -Glukan dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan Variasi Sumber Nitrogen. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurhakim, M.A., E. Kusdiyantini, dan B. Raharjo. 2016. Penggunaan Substrat Glukosa Berbagai Konsentrasi sebagai Sumber Karbon *Microbial Fuel Cell Saccharomyces cerevisiae* untuk Menghasilkan Energi Listrik. *Jurnal Bioma* 18 (2)131-136. ISSN: 1410-8801.
- Nurahman, M. Astutii, Suparmo, M.H. Soesatyo. 2012. Pertumbuhan Jamur, Sifat Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan Tempe Kedelai Hitam yang Diproduksi dengan Berbagai Jenis Inokulum. *Jurnal Agritech*, 32 (1) : 60-65.
- Pengkumsri, N., B.S. Sivamaruthi, S.Sirilun, S. Peerajan, P. Kesika, K. Chaiyasut, C.t Chaiyasut. 2017. Extraction of β -Glucan From *Saccharomyces cerevisiae* : Comparison of Different Extraction Methods and *In Vivo* Assessment of Immunomodulatory Effect in Mice. *Journal of Food Sci. Technol, Campinas*, 37 (1) : 124-130. ISSN 0101-2061.
- Purwitasari, E., A. Pangastuti, dan R. Setyaningsih. 2004. Pengaruh Media Tumbuh terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Jurnal Bioteknologi* 1 (2) : 37-42. ISSN: 0216-6887.
- Purwoko, T., I. Gandjar, dan S. Pawiroharsono. 2001. Biotransformasi Isoflavon oleh *Rhizopus oryzae* UICC 524. *Jurnal Biosmart*. 3 (2) : 7-12.

- Rahayu, W.P., R. Pambayun, U. Santoso, L. Nuraida, dan Ardiansyah. 2015. Tinjauan Ilmiah Teknologi Pengolahan Tempe Kedelai. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI). <http://patpi.or.id>. Diakses pada 07 November 2017 pukul 21.09 WIB.
- Rizal, S., M.E. Kustyawati, Marniza, I. Ramadhani. 2017. Pengaruh Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Sifat Organoleptik Tempe Kedelai. Prosiding Seminar Nasional Patpi 2017, hal 1096-1105.
- Rokhmah, L.N., C. Anam, S. Handajani, dan D. Rachmawati. 2009. Kajian Kadar Asam Fitat dan Kadar Protein Selama Pembuatan Tempe Kara Bengkok (*Mucuna pruriens*) dengan Variasi Pengecilan Ukuran dan Lama Fermentasi. *Jurnal Biofarmasi* 7 (1) : 1-9. ISSN: 1693-2242.
- Roubus, H.P.J., dan M.J.R. Nout MJR. 2011. Anti-diarrhoeal Aspect of Fermented Soya Beans. Soybean and Health. El-Shemy H (Ed). ISBN: 978-953-307-535-8. *In Tech*.
- Samson, R.A., V. Kooij, dan E. deBoer. 1987. Microbiological Quality of Commercial Tempeh in The Netherlands. *Journal of Food Protection* 50 : 92- 94.
- Saraswati, F. N. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). (Skripsi). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- Singleton, P. dan D. Sainsbury. 2006. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology, Third Edition, Revised*. John Wiley & Sons Ltd. England. ISBN: 0-470-03545-5.
- Soka S, A. Suwanto, D. Sajuthi, dan I. Rusmana. 2014. Impact of Tempeh Supplementation on Gut Microbiota Composition in Sprague-Dawley Rats. *Research Journal of Microbiology* 9 (4) : 189-198.
- Suhartanti, P.D. 2010. Karakteristik Fisik Biji Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine Max*) dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Kimia tempe. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sukardi, Wignyanton, dan I. Purwaningsih. 2008. Uji Coba Penggunaan Inokulum Tempe dari Kapang *Rhizopus Oryzae* dengan Substrat Tepung Beras dan Ubikayu Pada Unit Produksi Tempe Sanan Kodya Malang. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 9 (3) : 207 – 215.
- Unitly, A.J.A. 2008. Efektivitas Pemberian Tepung Kedelai dan Tepung Tempe Terhadap Kinerja Uterus Tikus Ovariektomi. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Virgianti, D.P. 2015. Uji Antagonis Jamur Tempe (*Rhizopus sp*) Terhadap Bakteri Patogen Enterik. *Jurnal Biosfera* 32 (3) : 162-168.
- Winanti, R., S.H. Bintari, dan D. Mustikaningtyas. 2014. Studi Observasi Higienitas Produk Tempe Berdasarkan Perbedaan Metode Inokulasi. Unnes *Journal of Life Science* 3 (1) : 39-46). ISSN 2252-6277.
- Wipradnyadewi, P.A.S, E.S. Rahayu, dan S. Raharjo. 2004. Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus Oligosporus* Pada Beberapa Inokulum Tempe. Laporan Proyek Hibah Penelitian.
- Yulistiani, R., Sudaryati, dan R.A. Nursianki. 2013. Perubahan Sifat Organoleptik Tahu Selama Penyimpanan Pada Suhu Kamar. *J. Rekapangan*, 7 (1) : 97-110.