

**KAJIAN KINETIKA PERTUMBUHAN MIKROORGANISME DAN
KANDUNGAN -GLUKAN SELAMA FERMENTASI TEMPE DENGAN
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

(Skripsi)

Oleh

Lia Dahliani Pratiwi



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

STUDY OF KINETIC GROWTH OF MICROORGANISMS AND - GLUCAN CONTENT DURING TEMPE FERMENTATION WITH ADDITION *Saccharomyces cerevisiae*

By

LIA DAHLIANI PRATIWI

Tempe is an original Indonesian food made from soybean fermented by *Rhizopus sp.* The growth of tempe microflora during fermentation is not only dominated by molds, but other microorganisms are also found such as bacteria and yeasts. This study aimed to determine the pattern and the rate of mold and yeast growth during fermentation of tempe with addition of *Saccharomyces cerevisiae*, and know the effect of adding *Saccharomyces cerevisiae* to the content of -glucan of tempe.

The research was done by Randomized Complete Block Design (RAKL) with two factors and three replications. The first factor was the type of tempe inoculum, consist of 4 levels ie commercial tempe inoculum, *S.cerevisiae*, *R.oligosporus*, and also mixture of *R.oligosporus* and *S.cerevisiae*. The second factor was fermentation time, consist of 6 levels ie 0, 8, 16, 24, 32, and 40 hours. The results showed that mold grew during the soybean fermentation with tempe comercial, *R.oligosporus*, and mixture of *R.oligosporus* and *S.cerevisiae*, but mold did not

grow during soybean fermentation with *S.cerevisiae*. The pattern of mold growth increased until the end of fermentation with maximum specific growth rate of mold in all of inoculum type, consecutive ie 0,014 hours⁻¹, 0,113 hours⁻¹ and 0,016 hours⁻¹, although the growth was delayed at beginning of fermentation at 0 hours to 16 hours. The yeast grew during soybean fermentation with commercial tempe inoculum, *S.cerevisiae*, and mixture of *R.oligosporus* and *S.cerevisiae*, but did not grow in soybean fermentation with *R.oligosporus*. The pattern of yeast growth increased until the end of fermentation with maximum specific growth rate in all of inoculum type, consecutive ie 0,018 hours⁻¹, 0,012 hours⁻¹ and 0,013 hours⁻¹, although in the soybean fermentation with mixture of *R.oligosporus* and *S.cerevisiae*, yeast grew had decreased at 32^h. -glucan content of all tempe is higher than soybean without inoculum. The highest -glucan content was shown in tempe with addition of mixture of *R.oligosporus* and *S.cerevisiae* at 40 hours fermentation time, ie 0.578% (w / w).

Keywords: *tempe, mold, yeast, R.oligosporus, S.cerevisiae, -glucan*

**KAJIAN KINETIKA PERTUMBUHAN MIKROORGANISME DAN
KANDUNGAN -GLUKAN SELAMA FERMENTASI TEMPE DENGAN
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

Oleh

LIA DAHLIANI PRATIWI

Tempe merupakan makanan asli Indonesia yang dibuat dari hasil fermentasi kedelai oleh kapang *Rhizopus sp.* Pertumbuhan mikroflora tempe selama fermentasi tidak hanya didominasi oleh kapang, tetapi mikroorganisme lain juga ditemukan seperti bakteri dan khamir. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola pertumbuhan dan laju pertumbuhan kapang dan khamir selama fermentasi tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*, dan mengetahui pengaruh penambahan *Saccharomyces cerevisiae* pada pembuatan tempe terhadap kandungan -glukan tempe yang dihasilkan. 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 komersial, *S.cerevisiae*, *R.oligosporus*, dan campuran *R.oligosporus* dan *S.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 kapang tumbuh pada perlakuan kedelai dengan penambahan inokulum ragi tempe komersial, *R.oligosporus*, dan campuran

R. oligosporus dan *S. cerevisiae*, tetapi kapang tidak tumbuh pada perlakuan penambahan *S. cerevisiae* sebagai inokulum dalam pembuatan tempe. Pola pertumbuhan kapang meningkat sampai akhir fermentasi dengan laju pertumbuhan spesifik maksimum kapang pada masing-masing jenis inokulum sebesar $0,014 \text{ jam}^{-1}$, $0,0113 \text{ jam}^{-1}$, dan $0,013 \text{ jam}^{-1}$, meskipun pertumbuhannya terlambat diawal fermentasi ke- 0 jam sampai ke- 16 jam. Khamir juga dapat tumbuh pada perlakuan kedelai dengan penambahan inokulum ragi tempe komersial, *S. cerevisiae*, serta campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae*, tetapi khamir tidak tumbuh pada perlakuan penambahan *R. oligosporus* sebagai inokulum dalam pembuatan tempe. Pola pertumbuhan khamir mengalami peningkatan hingga akhir fermentasi dengan laju pertumbuhan spesifik maksimum khamir pada masing-masing jenis inokulum sebesar sebesar $0,018 \text{ jam}^{-1}$, $0,012 \text{ jam}^{-1}$ dan $0,016 \text{ jam}^{-1}$, walaupun pada perlakuan kedelai yang ditambah dengan inokulum campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* pertumbuhan khamir sempat mengalami penurunan pada jam ke-32. Semua tempe pada perlakuan ini mampu menghasilkan kandungan -glukan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kedelai tanpa inokulum. Kandungan -glukan tertinggi dilihat dari penampakan tempe terbaik ditunjukkan pada tempe dengan penambahan campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* sebagai inokulum pada lama fermentasi 40 jam, yaitu sebesar 0,578% (w/w).

Kata Kunci: tempe, kapang, khamir, *R. oligosporus*, *S. cerevisiae*, -glukan

**KAJIAN KINETIKA PERTUMBUHAN MIKROORGANISME DAN
KANDUNGAN -GLUKAN SELAMA FERMENTASI TEMPE DENGAN
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

Oleh

LIA DAHLIANI PRATIWI

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

: **KAJIAN KINETIKA PERTUMBUHAN
MIKROORGANISME DAN KANDUNGAN β -
GLUKAN SELAMA FERMENTASI TEMPE
DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces
cerevisiae***

Nama Mahasiswa

: **Lia Dahliani Pratiwi**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1414051055

Jurusan

: **Teknologi Hasil Pertanian**

Fakultas

: **Pertanian**



1. Komisi Pembimbing

Ir. Samsul Rizal, M.Si.
NIP. 196902251994031002

Dr. Dra. Maria Erna K, M.Sc.
NIP. 196211291987032001

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

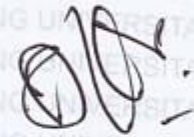
Ketua : Ir. Samsul Rizal, M.Si



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



**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 06 Juni 2018

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Lia Dahliani Pratiwi NPM 1414051055. 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 kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 06 Juni 2018
Yang membuat pernyataan



Lia Dahliani Pratiwi
NPM. 1414051055

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Ganjar Agung-Metro Barat, pada tanggal 12 November 1996. Penulis merupakan anak ke empat dari empat bersaudara, buah hati dari pasangan Bapak Muhammad Yusuf Indrawanto (Alm) dan Ibu Ratna Sari.

Penulis memulai pendidikan di TK Pertiwi 2 Ganjar Agung 14/II, Metro Barat pada tahun 2001-2002. Sekolah Dasar di SD Negeri 6 Metro Barat, Kota Metro pada tahun 2002-2004. SD Negeri 1 Banarjoyo, Kecamatan Batanghari, Kabupaten Lampung Timur pada tahun 2005 - 2008. Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Batanghari Lampung Timur pada tahun 2008 - 2011. Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Batanghari Lampung Timur pada tahun 2011 - 2014.

Penulis diterima sebagai mahasiswa jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2014 melalui jalur PMPAP. Selama menjadi mahasiswa, penulis menjadi Anggota Aktif Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian (2014/2018). Penulis juga aktif sebagai Anggota Aktif Bidang Artistik Teknokra Unila (2014/2015). Penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Januari sampai Februari 2017 di Desa Linggapura, Kecamatan Selagai Lingga, Kabupaten Lampung Tengah. Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Central Pertiwi Bahari pada bulan Agustus sampai September 2017 dengan judul Mempelajari Proses Produksi Udang Putih (*L. Vannamei*) Beku Mentah Pnd (

Peeled And Deviened) dengan Pembekuan BF (*Block Frozen*) Di PT.

Centralpertiwi Bahari, Kabupaten Tulang Bawang. Selain itu penulis juga pernah menjadi asisten mata kuliah Fisiologi Pasca Panen pada tahun 2017/2018 dan asisten mata kuliah Mikrobiologi Hasil Pertanian pada tahun 2017/2018.

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT, berkat rahmat serta karunia Nya penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ibu Ir. Susilawati, M.S., selaku ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung.
3. Bapak Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku dosen pembimbing utama atas segala bimbingan, bantuan, pengarahan, nasihat, masukan, saran, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku dosen pembimbing kedua atas segala bantuan, nasihat, masukan, dan saran selama penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si., selaku dosen pembahas sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan selama pelaksanaan perkuliahan, bimbingan, motivasi, evaluasinya, saran, dan kritik yang membangun selama penyusunan skripsi ini.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staff administrasi dan laboratorium di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

7. Keluargaku tercinta (Ayah, mamah, kak Ujang, teteh Neneng, kak Ramli) dan Adikku sayang Eka Yuni Arti. Terimakasih banyak atas segala do'a, kasih sayang, motivasi, semangat serta dukungan yang diberikan selama ini.
8. Murobbi ku tercinta mba Dian Wulandari S.T.P, M.Si. yang telah memberikan pengarahan, motivasi, nasehat, dan semangat kepada penulis.
9. Sahabat–sahabatku (bundo Dian, tante Dina, Yulai, Mimi, Nadia, Meta, mba Ria, Evi, Peni, Fitri, Ruri, Indah) terimakasih untuk kebersamaan selama ini.
10. Partner penelitianku tercinta Fatimah, dan sahabat yang menemani malam lemburku (Eka, Mas Untung, Edo) terimakasih kerjasama, kebersamaan, dan kekompakannya selama penelitian serta motivasi, semangat, dan sarannya kepada penulis. Suka dan duka kita jalani bersama.
11. Teman-teman KKN ku (Mba Inayah, Della, Mia) terimakasih untuk kebersamaan 40 harinya.
12. Seluruh keluarga THP 2014 terimakasih untuk kebersamaan selama ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis maupun pembaca dan untuk semua pihak yang telah membantu mendapat berkah dan rahmat dari Allah Subhana Wa Ta'ala. Amin.

Bandar Lampung, 06 Juni 2018

Lia Dahliani Pratiwi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
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. Kedelai	7
2.1.1. Komposisi kimia kedelai.....	8
2.1.2. Syarat mutu kedelai.....	12
2.2. Tempe	13
2.2.1. Komposisi kimia tempe	14
2.2.2. Syarat mutu tempe	16
2.3. Inokulum Tempe	16
2.4. <i>Rhizopus oligosporus</i>	18
2.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
2.6. Laju Pertumbuhan Mikroorganisme	23
2.6.1. Faktor faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroorganisme.....	24
2.6.2. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme.....	27
2.7. -glukan	29
2.7.1. Ekstraksi -glukan	32
2.7.2. Komponen Dinding Sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sebagai Penghasil -glukan.....	33
2.7.3. Bioaktivitas -glukan.....	35
III. BAHAN DAN METODE	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.2. Bahan dan Alat.....	36
3.3. Metode Penelitian	37
3.4. Pelaksanaan Penelitian	38
3.4.1. Persiapan pembuatan biakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ..	38

3.4.2. Persiapan pembuatan biakan <i>R. oligosporus</i>	41
3.5. Pembuatan Tempe Kedelai	43
3.6. Pengamatan	45
3.6.1 Derajat Keasaman (pH) (AOAC, 2005).....	45
3.6.2. Analisis -glukan (Kusmiati, 2007)	45
3.6.3. Perhitungan jumlah kapang dan khamir menggunakan metode <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	46
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Pertumbuhan Mikroorganisme selama Fermentasi pada Tempe .	48
4.1.1. Pola pertumbuhan <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisae</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan ragi tempe komersial (J1).....	50
4.1.2. Pola pertumbuhan <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisae</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan <i>S. cerevisae</i> (J2)	53
4.1.3. Pola pertumbuhan <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisae</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan <i>R. oligosporus</i> (J3).....	56
4.1.4. Pola pertumbuhan <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisae</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan campuran <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisae</i> (J1).....	59
4.2. Derajat Keasaman (pH) Tempe selama Fermentasi.....	67
4.3. Kandungan -glukan Tempe.....	71
V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan	78
5.2 Saran	79
DAFTAR PUSTAKA	81
LAMPIRAN	
Tabel 13-32.....	90-114
Gambar 25-31.....	115-121

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan gizi kedelai.....	10
2. Persyaratan mutu biji kedelai SNI-01-3922-1995	11
3. a). Komposisi kimia tempe	14
b). Komposisi kimia kedelai dan tempe per 100 g bahan	15
4. Persyaratan mutu tempe SNI 01-3144-2009.....	16
5. Komponen dinding sel <i>S.cerevisiae</i>	34
6. Kombinasi perlakuan jenis inokulum dan lama fermentasi	37
7. Jumlah total sel <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i> selama fermentasi kedelai oleh ragi tempe komersial, <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	49
8. Pertumbuhan optimum kapang pada perlakuan penambahan ragi tempe komersial, <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	64
9. Pertumbuhan optimum khamir pada perlakuan penambahan ragi tempe komersial, <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	66
10. Nilai pH tempe selama fermentasi kedelai dengan penambahan ragi tempe komersial, <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	68
11. Kandungan -glukan tempe yang diinokulasi dengan penambahan ragi tempe komersial, <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	71
12. Kandungan -glukan optimum tempe yang diinokulasi dengan penambahan ragi tempe komersial, <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	74
13. Jumlah total sel <i>R.oligosporus</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan berbagai inokulum.....	92

14. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (Barlett's test) jumlah sel <i>R.oligosporus</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan berbagai inokulum	93
15. Hasil analisis ragam terhadap jumlah sel <i>R.oligosporus</i>	94
16. Uji keaditifan data (Tuckey's test) jumlah sel <i>R.oligosporus</i>	95
17. Uji lanjut polinomial ortogonal-ortogonal kontras jumlah sel <i>R.oligosporus</i>	96
18. Jumlah total sel <i>S.cerevisiae</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan berbagai inokulum	98
19. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (Barlett's test) jumlah sel <i>S.cerevisiae</i> pada kedelai yang diinokulasi dengan berbagai inokulum	99
20. Hasil analisis ragam terhadap jumlah sel <i>S.cerevisiae</i>	100
21. Uji keaditifan data (Tuckey's test) jumlah sel <i>S.cerevisiae</i>	101
22. Uji lanjut polinomial ortogonal-ortogonal kontras jumlah sel <i>S.cerevisiae</i>	102
23. Hasil pengujian pH tempe selama fermentasi dengan penambahan ragi tempe komersial , <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	104
24. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (Bartlett) pH tempe selama fermentasi.....	106
25. Hasil analisis ragam terhadap nilai pH selama fermentasi	107
26. Uji kemenambahan (additifitas) nilai pH tempe selama fermentasi ..	108
27. Uji lanjut polinomial ortogonal-ortogonal kontras pH tempe selama fermentasi.....	109
28. Persentase kandungan -glukan pada tempe selama fermentasi dengan penambahan ragi tempe komersial , <i>S.cerevisiae</i> , <i>R.oligosporus</i> , dan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	111
29. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (Bartlett) -glukan selama fermentasi.....	112
30. Hasil analisis ragam -glukan tempe selama fermentasi	113
31. Uji kemenambahan data (Tuckey's test) kandungan -glukan.....	114
32. Uji lanjut polinomial ortogonal-ortogonal kontras kandungan -glukan tempe selama fermentasi	115

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur biji kedelai.....	9
2. Tempe kedelai	13
3. Morfologi <i>R.oligosporus</i>	19
4. Sel khamir <i>S.cerevisiae</i>	21
5. A). Grafik pertumbuhan koloni sel <i>S.cerevisiae</i> terhadap waktu fermentasi	23
B). Kurva pertumbuhan mikroba	23
6. Suhu pertumbuhan berbagai mikroba	26
7. Kurva pertumbuhan mikroba	27
8. Struktur primer makromolekul -glukan	31
9. Diagram alir persiapan inokulum <i>S. cerevisiae</i>	40
10. Diagram alir persiapan inokulum <i>R.oligosporus</i>	42
11. Diagram alir pembuatan tempe	44
12. Diagram alir perhitungan kapang dan khamir.....	47
13. Kurva pertumbuhan <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisae</i> selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan ragi tempe komersial ...	50
14. Kedelai yang diinokulasi dengan ragi tempe komersial selama fermentasi.....	51
15. Kurva pertumbuhan <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisae</i> selama Fermentasi tempe yang diinokulasi dengan <i>S.cerevisae</i>	54
16. Kedelai yang diinokulasi dengan <i>S.cerevisae</i> selama fermentasi....	55
17. Kurva pertumbuhan <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisae</i> selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan <i>R.oligosporus</i>	56
18. Kedelai yang diinokulasi dengan <i>R.oligosporus</i> selama fermentasi	58
19. Kurva pertumbuhan <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisae</i> selama fermentasi tempe yang diinokulasi dengan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	59

20. Kedelai yang diinokulasi dengan campuran <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	61
21. Respon pertumbuhan <i>R. oligosporus</i> terhadap waktu fermentasi pada masing-masing jenis inokulum yang ditambahkan dalam pembuatan tempe	63
22. Respon pertumbuhan <i>S.cerevisiae</i> terhadap waktu fermentasi pada masing-masing jenis inokulum yang ditambahkan dalam pembuatan tempe	66
23. Pengaruh waktu fermentasi terhadap derajat keasaman (pH) pada masing-masing level jenis inokulum.....	69
24. Pengaruh waktu fermentasi terhadap kandungan -glukan pada masing masing level jenis inokulum.....	73
25. (a). Pembuatan media untuk peremajaan	115
(b). Persiapan media peremajaan <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	115
(c). Inokulasi <i>S.cerevisiae</i> dan <i>R.oligosporus</i>	115
(d). Proses inkubasi <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	115
(e). <i>R.oligosporus</i> hasil peremajaan	115
(f). <i>S.cerevisiae</i> hasil peremajaan	115
(g). <i>S.cerevisiae</i> dalam media antara MRSB	115
(h). Proses pemanenan	115
(i). Hasil pemanenan <i>R.oligosporus</i>	115
26. (a). Proses penimbangan suspensi <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	116
(b). Proses sentrifugasi suspensi <i>R.oligosporus</i> dan <i>S.cerevisiae</i>	116
(v 3000, t 10 menit)	116
(c). Hasil proses sentrifugasi diperoleh endapan (<i>R.oligosporus</i>) dan larutan	116
(d). Proses perhitungan mikroba menggunakan Hemasitometer	116
(e). Penampakan spora <i>R.oligosporus</i> pada perbesaran 40x	116
27. (a). Proses perendaman kedelai.....	117
(b). Proses pengupasan kulit ari kedelai.....	117
(c). Proses perebusan kedelai	117
(d). Proses pendinginan dan penirisan kedelai setelah perebusan	117
(e). Proses persiapan wadah pencampuran inokulum	117
(f). Proses pencampuran inokulum tempe	117
(g). Proses pengemasan menggunakan plastik yang telah dilubangi	117
(h). Proses penimbangan kedelai sebanyak 100 g	117
(j). Proses inkubasi tempe pada para-para selama 40 jam pada suhu ruang	117
28. (a). Penimbangan sampel tempe sebanyak 10 g.....	118
(b). Sampel tempe yang telah ditimbang untuk analisis mikroba ...	118
(c). Penambahan <i>Buffered Pepton Water</i> sebanyak 90 mL	118
(d). Proses pengocokan sampel sebanyak 25 kali	118
(e). Pengenceran sampel tempe sebanyak 1mL menggunakan mikropipet	118
(f). Persiapan media untuk <i>Spread Plate</i>	118
(g). Penuangan sampel sebanyak 0,02 μ L	118

(h).	Penebaran sampel (<i>Spread Plate</i>) menggunakan batang drygalski	118
(i).	Proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 32°C	118
29. (a).	Perhitungan jumlah koloni <i>S.cerevisiae</i> pada media MEA menggunakan colony counter	118
(b).	Perhitungan jumlah koloni bakteri pada media NA	118
(c).	Perhitungan jumlah koloni kapang <i>R.oligosporus</i> pada media PDA	118
(d).	Sampel tempe yang ditambahkan aquadest steril sebanyak 90 mL untuk pengukuran pH	118
(e).	Pengukuran nilai pH tempe menggunakan pH meter	118
(f).	Pengirisan tempe untuk pengeringan	118
30. (a).	Pengovenan tempe pada suhu 60°C selama 2 hari	119
(b).	Hasil tempe yang telah dikeringkan	119
(c).	Proses Penepungan tempe	119
(d).	Hasil tempe yang telah ditepungkan	119
(e).	Proses hidrolisis tepung tempe menggunakan NaOH selama 6 jam.....	119
(f).	Endapan hasil hidrolisis	119
(g).	Penambahan asam asetat 0,5M sebanyak 30 mL	119
(h).	Pencucian dengan aquadest	119
(i).	Penambahan etanol sebanyak 20 mL	119
31. (a).	Proses sentrifuge ($v= 1000\text{rpm}$, $T=25^{\circ}\text{C}$, $t=30$ menit)	120
(b).	Endapan sampel yang diperoleh hasil sentrifuge	120
(c).	Pengovenan crude basah ($T=45^{\circ}\text{C}$, $t=24$ jam.....	120
(d).	Penambahan NaOH 1 M 4 mL	120
(e).	Penyaringan menggunakan kertas saring	120
(f).	Penambahan 1mL fenol dan 5 mL asam sulfat di ruang asam..	120
(g).	Pembuatan kurva standar glukosa	120
(h).	Pengukuran -glukan menggunakan <i>Spektrofotometer</i>	120
	<i>Sugar Free Containt</i> dengan panjang gelombang 490 A.....	120

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tempe merupakan makanan asli Indonesia yang dibuat dari hasil fermentasi kedelai oleh kapang *Rhizopus sp.* Di Indonesia, tempe merupakan sumber protein nabati yang tinggi dan diminati oleh semua kalangan karena harganya yang relatif murah dan memiliki rasa yang enak. Konsumsi tempe rata-rata per orang per tahun di Indonesia yang merupakan negara produsen tempe terbesar di dunia yaitu 6,95 kg (BPS, 2014). Tempe tergolong pangan fungsional karena mengandung senyawa-senyawa bioaktif diantaranya isoflavon yang baik bagi kesehatan tubuh, mempunyai keunggulan gizi, aroma, tekstur, dan citarasa yang khas (Kustyawati *et al.*, 2014).

Kualitas tempe dipengaruhi oleh bahan baku, proses pengolahan, dan jenis inokulum atau ragi yang digunakan. Penggunaan ragi atau inokulum memegang peranan penting dalam pembuatan tempe karena mempengaruhi mutu tempe yang dihasilkan. Ragi atau inokulum tempe yang digunakan dengan jumlah yang banyak menyebabkan waktu fermentasi menjadi terlalu kritis, karena proses fermentasi berlangsung dengan cepat, sedangkan pemakaian ragi atau inokulum tempe dengan jumlah yang kurang menyebabkan mikroba kontaminan dapat

tumbuh, karena kapang pada ragi tidak dapat melakukan proses fermentasi secara menyeluruh pada bahan (Intan, 2010).

Pembuatan tempe biasanya menggunakan inokulum atau ragi yang mengandung *R. oligosporus* sebagai agensia pengubah bahan baku kedelai menjadi tempe akibat tumbuhnya jamur tempe dan melakukan kegiatan fermentasi yang menyebabkan berubahnya sifat karakteristik tempe (Kasmidjo, 1990).

Mikroorganisme yang berperan penting dalam fermentasi pembuatan tempe yakni *R. oligosporus*, *R. oryzae* dan *R. stolonifer*. Ketiga-tiganya berpotensi untuk memfermentasi kedelai menjadi tempe. *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). Di dalam proses fermentasi tempe *R. oligosporus* lebih banyak mensintesis enzim protease, sedangkan *R. oryzae* lebih banyak mensintesis enzim -amilase (Triwibowo, 2011).

Pertumbuhan mikroflora pada tempe tidak hanya didominasi oleh kapang, tetapi mikroorganisme yang lain juga terdapat dalam fermentasi tempe (Barus *et al.*, 2008; Seumahu *et al.*, 2013). Efriwati *et al.* (2013), melaporkan bahwa mikroorganisme lain yang ditemukan selama fermentasi tempe yaitu bakteri asam laktat (BAL) dan khamir. Mulyowidarso *et al.* (1989) dalam Kustyawati (2009), menyatakan bahwa bakteri merupakan mikroflora indigenus yang secara signifikan selalu tumbuh selama pembuatan tempe dan mempunyai peranan yang penting. Selain itu, ditemukan juga khamir pada tempe komersial yang

dipasarkan 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* (Samson *et al.*, 1987). Berdasarkan spesies-spesies khamir tersebut, belum diketahui interaksi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dengan mikroflora lain dalam pembuatan tempe, sehingga diperlukan analisis mikrobiologis untuk mengungkapkan secara detail keterlibatan setiap jenis mikroorganisme dalam pembuatan tempe.

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu jenis khamir potensial penghasil -glukan yang berasal dari dinding selnya. Dinding sel *S. cerevisiae* tersusun oleh -(1,3) dan -(1,6)-glukan, manan, kitin (1-2 %), serta manoprotein yang menyusun sekitar 20-30% dari berat kering dinding sel (M. Naruemon, *et al.*, 2013). Selain itu, khamir yang telah diekstraksi memiliki kandungan -glukan yang tinggi, yaitu berkisar antara 85-90% (Nicolasi, 1999 dalam Andriani, 2007). -glukan memiliki aktivitas biologis sebagai immunomodulator dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Jordan, 2001 dalam Kusmiati, 2006), sebagai anti infeksi terhadap mikroorganisme yang meliputi bakteri, fungi, virus dan parasit (Hetland *et al.*, 2013), sebagai *anti aging* (Delatte *et al.*, 2001), sebagai antisitotoksik, antimutagenik, dan antitumorogenik (Widyastuti *et al.*, 2011). Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai inokulum dalam pembuatan tempe. Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai inokulum dalam fermentasi tempe diharapkan akan menghasilkan tempe dengan kandungan -glukan yang

lebih tinggi sehingga potensinya dalam pembuatan tempe perlu diungkap secara mendalam.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pola pertumbuhan dan laju pertumbuhan kapang selama proses fermentasi tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*
2. Mengetahui pola pertumbuhan dan laju pertumbuhan khamir selama proses fermentasi tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*
3. Mengetahui pengaruh penambahan *Saccharomyces cerevisiae* pada pembuatan tempe terhadap kandungan -glukan tempe yang dihasilkan

1.3. Kerangka Pemikiran

Penggunaan ragi atau inokulum memegang peranan penting dalam pembuatan tempe karena mempengaruhi mutu tempe yang dihasilkan. Mikroorganisme yang berperan utama dalam pembuatan tempe yakni kapang jenis *R. oligosporus* (Kustyawati *et al.*, 2014). Namun selain kapang, keberadaan bakteri dan khamir juga ditemukan selama fermentasi tempe. Mulyowidarso *et al.* (1989) dalam Kustyawati (2009), melaporkan bahwa bakteri merupakan mikroflora indigenus yang secara signifikan selalu tumbuh selama pembuatan tempe. Selain itu, ditemukan juga mikroorganisme lain seperti bakteri asam laktat (BAL) dan khamir selama fermentasi tempe (Efriwati *et al.*, 2013).

Pola pertumbuhan mikroorganisme tempe diduga mengalami peningkatan selama fermentasi. Bintari *et al.* (2008), melaporkan bahwa terjadi peningkatan sel

Rhizopus oligosporus selama fermentasi tempe. Hasil penelitian yang sama dilaporkan oleh Pagarra (2009), Kustyawati (2009), bahwa terjadi peningkatan pola pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* selama fermentasi tempe berlangsung, meskipun pertumbuhannya terlambat diawal fermentasi.

Khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* dapat digunakan sebagai inokulum tempe dan diduga dapat tumbuh bersama dengan *R. oligosporus* dan bakteri indigenus selama fermentasi tempe berlangsung. Kustyawati (2009), melaporkan bahwa pertumbuhan *R. oligosporus* serupa dengan *S. Boulardi* selama fermentasi pada tempe yang dinokulasi dengan *R. oligosporus* dan *S. Boulardi* 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. Yeast mampu menstimuli pertumbuhan mikroba lain dengan menghasilkan faktor tumbuh.

Menurut Kustyawati (2009), tidak terdapat pertumbuhan yeast pada tempe yang dibuat dengan inokulum ragi tempe. Dengan demikian, dilakukan penambahan yeast (khamir) jenis *Saccharomyces cerevisiae* pada campuran inokulum dalam pembuatan tempe, karena khamir mampu menstimuli pertumbuhan *R. oligosporus* dan mikroba lain dengan menghasilkan faktor tumbuh, serta berpotensi menghasilkan kandungan -glukan. Pertumbuhan sel khamir cenderung meningkat selama fermentasi diduga kandungan -glukan juga ikut meningkat mengikuti pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae*. Wahono *et al.* (2011),

melaporkan bahwa terjadi peningkatan pola pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi sorgum terjadi peningkatan selama fermentasi berlangsung.

Nurfajarwati (2006) dan Thontowi *et al.* (2007), melaporkan bahwa terjadi peningkatan pola produksi -glukan terhadap lama fermentasi seiring dengan pola pertumbuhan *S. cerevisiae* sampai akhir fermentasi pada fermentor air-lift menggunakan sumber N yang berbeda. Peningkatan kandungan -glukan juga terjadi pada dedak hitam yang difermentasi oleh *L.edodes* (Kim *et al.*, 2014).

Ambarwati (2017), melaporkan bahwa tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan ragi roti instan komersial menghasilkan kandungan -glukan yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. Peningkatan kandungan -glukan seiring dengan peningkatan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi membuat dugaan bahwa tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai inokulum akan menghasilkan kandungan -glukan yang lebih tinggi.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Terdapat peningkatan pola pertumbuhan kapang selama proses fermentasi tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*
2. Terdapat peningkatan pola pertumbuhan kapang selama proses fermentasi tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*
3. Tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* mampu menghasilkan kandungan -glukan yang lebih tinggi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kedelai

Tanaman kedelai merupakan salah satu tanaman sumber potensi pangan yang tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Kedelai merupakan sumber protein paling murah di dunia karena berbagai varietas kedelai yang ada di Indonesia mengandung protein sebesar 30,53 - 44 %. Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) merupakan salah satu tanaman pangan yang termasuk dalam bangsa polong-polongan (*Fabales*), famili *Leguminosae*, dan subfamili *Papilionoideae*. Kedelai yang dibudidayakan tumbuh secara tahunan dengan tingginya yang dapat mencapai hingga 0,75 – 1,25 m (Liu, 1997).

Menurut Hyeronimus (1993), jenis kedelai dapat dibedakan menjadi empat macam yaitu:

1. Kedelai kuning

Kedelai kuning adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna kuning atau putih. Apabila dipotong melintang memperlihatkan warna kuning pada irisan keping bijinya dan biasanya dibuat tahu atau tempe.

2. Kedelai hitam

Kedelai hitam adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna hitam.

3. Kedelai hijau

Kedelai hijau adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna hijau, apabila dipotong melintang memperlihatkan warna hijau pada irisan keping bijinya.

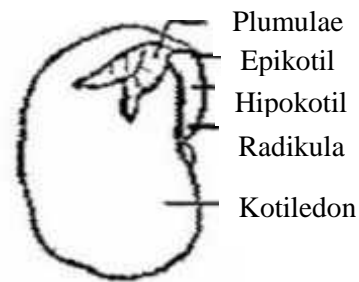
4. Kedelai coklat

Kedelai coklat adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna coklat.

Kedelai merupakan salah satu komoditas penting karena kedelai mempunyai nilai kemanfaatan yang tinggi, kedelai bisa diolah menjadi bahan makanan, minuman serta penyedap cita rasa makanan. Sebagai bahan makanan pada umumnya kedelai tidak langsung dimakan, melainkan diolah terlebih dahulu sesuai dengan kegunaannya, misalnya : tempe, tahu, kecap, tauco, tauge bahkan diolah secara modern menjadi susu dan minuman sari kedelai, kemudian dikemas di dalam botol (Aak, 1995).

2.1.1 Komposisi Kimia Kacang Kedelai

Kedelai merupakan sumber protein, dan lemak, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kedelai merupakan sumber gizi yang sangat penting bagi kesehatan tubuh manusia. Kedelai memiliki kandungan protein yang tinggi dan memiliki potensi lain yaitu isoflavon yang dibutuhkan oleh tubuh. Komposisi gizi kedelai bervariasi tergantung varietas yang dikembangkan dan juga warna kulit maupun kotiledonnya. Kandungan protein dalam kedelai kuning bervariasi antara 31-48% dan pada varietas unggul kadar proteinnya dapat mencapai 40-43 %, sedangkan kandungan lemaknya bervariasi antara 11-21%. (Astuti, 2009). Struktur biji kedelai dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur biji kedelai
Sumber : Raditriono (2012)

Kedelai mengandung delapan asam amino penting yang rata-rata tinggi, kecuali metionin dan fenilalanin (Suprpto, 1993). Protein kedelai memiliki kandungan asam amino sulfur yang rendah. Metionin, sistein dan threonin merupakan asam amino sulfur dalam protein kedelai dengan jumlah terbatas (Winarsi, 2010).

Kacang kedelai memiliki kandungan protein tertinggi (sekitar 40%) dibandingkan dengan kacang-kacangan lain. Adapun kandungan minyak sebanyak 20% yang memungkinkan kacang kedelai juga digunakan untuk didapatkan minyaknya. Zat-zat lain yang terdapat di dalam kedelai antara lain fosfolipid, vitamin (B1, B2, B3, B5, B9, A, dan E), dan mineral. Terdapat banyak peran kacang kedelai dalam menjaga kesehatan, salah satunya yaitu isoflavon yang mulai dikenal sebagai pencegah kanker dan penyakit lain pada manusia (Liu, 1997). Kandungan gizi biji kedelai disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Kedelai

Kandungan gizi	Kadar/100 g bahan
Energi	442 kal
Air	7,5 g
Protein	34,9 g
Lemak	38,1 g
Karbohidrat	34,8 g
Mineral	4,7 g
Kalsium	227 mg
Fosfor	585 mg
Zat besi	8 mg
Vitamin A	33 mg
Vitamin B	1,07 mg

Sumber: Suprapti (2003)

Kedelai termasuk kelompok flavonoid yang merupakan salah satu bahan pangan penghasil antioksidan alami. Salah satu komponen penting/senyawa bioaktif yang terdapat dalam kedelai dan bertindak sebagai antioksidan adalah isoflavon (Saija *et al.*, 1995). Senyawa isoflavon banyak ditemukan pada tanaman kacang-kacangan atau leguminosa (Zubik dan Meydani, 2003). Isoflavon pada kedelai terdapat dalam empat bentuk, yaitu (1) bentuk aglikon (non gula) : genistein, daidzein, dan glycitein; (2) bentuk glikosida: daidzin, genistin dan glisitin; (3) bentuk asetilglikosida : 6''-O-asetil daidzin, 6''-Oasetilgenistin, 6''-O-asetil glisitin; dan (4) bentuk malonilglikosida : 6''-O-malonildaizidin, 6''-O-malonil genistin, 6''-O-malonilglisitin. Isoflavon utama pada kedelai terdiri dari genistein (4',5',7-trihydroxyisoflavone) dan daidzein (4',7-dihydroxyisoflavone), serta turunan -glikosida, gensitin dan daidzin. Sejumlah kecil senyawa isoflavon lainnya seperti glycitein (7,4'-dihydroxy-6-methoxy-isoflavone) dan glikosidanya (Wang dan Murphy, 1994 dalam Astuti, 2008).

Kandungan asam lemak jenuh kedelai utama terdiri dari asam linoleat dan

linolenat. Kedelai mengandung karbohidrat sekitar 35% hanya 12-14% saja yang dapat digunakan oleh tubuh secara biologis. Karbohidrat pada kedelai terdiri dari golongan oligosakarida yang terdiri dari sukrosa, stakiosa dan rafinosa yang larut dalam air. Kedelai juga mengandung karbohidrat tidak larut air dan tidak dapat dicerna oleh tubuh. Jenis karbohidrat kedelai larut alkohol antara lain : selulosa, pentose, galaktosa, rafinosa dan hemiselulosa. Bagian yang dapat dicerna pada karbohidrat kedelai lebih sedikit dibandingkan bagian yang sulit dicerna (Suliantari dan Rahayu, 1990).

2.1.2 Syarat Mutu Kedelai

Syarat mutu kedelai untuk memproduksi tempe tahu kualitas pertama diataranya :

(1) bebas dari sisa tanaman (kulit palang, potongan batang atau ranting, bau, kerikil, tanah atau biji-bijian), (2) biji kedelai tidak luka atau bebas serangan hama dan penyakit, (3) biji kedele tidak memar, dan (4) kulit biji kedele tidak keriput.

Syarat mutu biji kedelai menurut SNI 01-3922-1995 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persyaratan mutu biji kedelai menurut SNI 01-3922-1995

Jenis Uji	Satuan	Persyaratan Mutu			
		I	II	III	IV
Kadar air maksimum	%	13	14	14	16
Kotoran maksimum	%	0	1	2	3
Butir rusak	%	1	2	3	5
Butir keriput	%	0	1	3	5
Butir belah	%	1	2	3	5
Butir warna lain	%	1	3	5	10

Sumber : Badan Standarisasi Nasional Indonesia (1995)

2.2 Tempe

Tempe adalah makanan tradisional hasil fermentasi oleh kapang *Rhizopus oryzae* *sp.* Pertumbuhan kapang menyebabkan terjadinya pemutusan beberapa ikatan peptida pada protein kedelai sehingga protein kedelai lebih mudah dicerna dan nilai gizinya meningkat. Tempe merupakan campuran biji kedelai dengan massa kapang. Hifa kapang tumbuh dengan intensif dan membentuk jalinan yang mengikat biji kedelai yang satu dengan biji yang lain sehingga menjadi masa yang kompak dan kuat. 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 mempunyai ciri-ciri warna putih, tekstur kompak dan flavor spesifik. Warna putih disebabkan adanya miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai dan tekstur kompak juga disebabkan oleh miselia miselia jamur yang menghubungkan antara biji-biji kedelai tersebut. Terjadinya degradasi komponen-komponen dalam kedelai dapat menyebabkan terbentuknya flavor spesifik setelah fermentasi. Kapang yang tumbuh pada kedelai selama fermentasi akan mendegradasi senyawa-senyawa kompleks pada kedelai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna oleh manusia (Syarief *et al.*, 1999). Penampakan tempe kedelai disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Tempe kedelai
Sumber : Dokumen pribadi

Tempe memiliki manfaat baik dari segi nutrisi maupun manfaat kesehatan. Sebagai sumber nutrisi, tempe berperan sebagai sumber protein dan mineral besi. Sebagai obat dan penunjang kesehatan, tempe berperan sebagai anti diare (misalnya dalam pembuatan super oralit dari 40-50 g tempe) dan anti bakteri. Senyawa antibakteri pada tempe yakni glikoprotein (Bintari *et al.*, 2008), yang juga merupakan senyawa antimikroba yang terdapat pada tempe (Saraswaty *et al.*, 2002). Senyawa anti bakteri pada tempe dapat menghambat sembilan jenis bakteri gram positif dan satu jenis bakteri gram negatif, yaitu: *Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *Leuconostoc dextranicum*, *L. mesenteroides*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium botulinum*, *C. sporogenes*, *C. butyricum*, dan *Klebsiella pneumoniae* (Syarief *et al.*, 1999).

Menurut Cahyadi (2006), komponen- komponen pada tempe yang berfungsi sebagai obat yaitu genestein, daidzein, fitosterol, asam fitat, asam fenolat, lesitin, dan inhibitor protease. Antioksidan yang terdapat dalam tempe berbentuk isoflavon yang sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk menangkal radikal bebas. Selain itu, kapang pada tempe dapat menghasilkan enzim fitase yang dapat menguraikan asam fitat (mengikat beberapa mineral menjadi fosfor dan inositol).

Mineral-mineral tertentu seperti besi, zink, kalsium, dan magnesium akan lebih mudah dicerna tubuh akibat telah terurainya asam fitat (Widianarko, 2002).

2.2.1. Komposisi Kimia Tempe

Tempe mengandung vitamin B12 yang biasanya terdapat dalam daging dan juga merupakan sumber protein nabati selain sebagai sumber kalori, vitamin dan mineral (Suprpti, 2003). Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan antara lain asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, asam linoleat dan asam linolenat. Di dalam tempe terdapat vitamin larut lemak seperti vitamin E dan β -karoten (provitamin A) yang telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Di dalam tempe juga terdapat isoflavon seperti genestein, daidzein, glycitein dan Faktor-2, isoflavon merupakan komponen fenolik yang mempunyai sifat antioksidan. Jumlah asam lemak tidak jenuh, vitamin dan isoflavon pada tempe ini tentu akan berkaitan dengan aktivitas antioksidan dari tempe tersebut. Fermentasi kedelai menjadi tempe dapat meningkatkan isoflavon bebas (aglikon) dari perubahan isoflavon glikosida karena aktivitas enzim β -Glukosidase (Pawiroharsono, 1997). Komposisi kimia tempe disajikan pada Tabel 3a dan perbandingan komposisi kimia kedelai dan tempe disajikan pada Tabel 3b.

Tabel 3 a. Komposisi kimia tempe

Komposisi	Jumlah
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)

Tabel 3.b. Komposisi kimia kedelai dan tempe per 100 g bahan

Komposisi	Kedelai	Tempe Kedelai
Protein (g)	30,2	18,3
Lemak (g)	15,6	4,0
Karbohidrat (g)	30,1	12,7
Air (g)	20,0	64,0
Abu (g)	5,5	1,6
Energi (kal)	331	149
Kalsium (mg)	227	129
Fosfor (mg)	585	154
Zat besi (mg)	8	10

Sumber : Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI (2004).

Menurut Hermana dan Karmini (1996), tempe memiliki enzim-enzim pencernaan, seperti enzim protease, enzim lipase, dan enzim amilase yang dihasilkan oleh kapang selama proses fermentasi. Enzim lipase yang dihasilkan akan menguraikan lemak menjadi lipid dan asam lemak, sedangkan karbohidrat akan diurai menjadi gula sederhana menggunakan enzim amilase. 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 bebas (Astawan, 2006).

2.2.2. Syarat Mutu Tempe

Syarat mutu tempe yang digunakan merupakan syarat mutu yang berlaku secara umum di Indonesia berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI 01-3144-2009), seperti tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Syarat Mutu Tempe menurut SNI 01-3144-2009

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau	-	Normal, khas
1.2	Warna	-	Normal
1.3	Rasa		Normal
2	Kadar air (b/b)	%	Maks, 65
3	Kadar abu (b/b)	%	Maks, 1,5
4	kadar lemak (b/b)	%	Min, 10
5	Kadar protein (Nx6,25) (b/b)	%	Min, 16
6	Kadar serat kasar (b/b)	%	Maks, 2,5
7	Cemaran logam		
7.1	Kadmium (Cd)	Mg/kg	Maks, 0,2
7.2	Timbal (Pb)s	Mg/kg	Maks, 0,25
7.3	Timah (Sn)	Mg/kg	Maks, 40
7.4	Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maks, 0,03
8	Cemaran arsen (As)	Mg/kg	Maks, 0,25
9	Cemaran mikroba		
9.1	Bakteri <i>coliform</i>	APM/g	Maks, 10
9.2	<i>Salmonella sp.</i>	-	Negatif/25 g

Sumber : Badan Standarisasi Nasional Indonesia (2009)

Berdasarkan tabel di atas dapat di lihat bahwa persyaratan untuk bau, warna, dan rasa adalah normal. Besarnya kadar air, abu dan protein secara berturut-turut yaitu maksimal 65% (b/b), maksimal 1,5% (b/b), dan minimal 16% (b/b), sedangkan untuk cemaran mikroba *E.coli* maksimal 10.

2.3. Inokulum Tempe

Inokulum tempe merupakan kumpulan spora kapang yang memegang peranan penting dalam pembuatan tempe karena mempengaruhi kualitas tempe yang dihasilkan. Inokulum tempe disebut juga juga sebagai starter tempe dan banyak pula yang menyebutnya ragi tempe. Inokulum tempe merupakan inokulum spora kapang dan memegang peranan penting dalam pengolahan tempe karena dapat mempengaruhi mutu tempe yang dihasilkan. Jenis kapang yang memegang peranan utama dalam pembuatan tempe adalah *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus*

oligosporus. Kapang-kapang lain yang terdapat pada tempe adalah *R. stolonifer* dan *R. arrhizus* (Rachman, 1989 dalam Iskandar, 2002).

Menurut Kasmidjo (1990), inokulum tempe merupakan kumpulan spora kapang dan jamur yang digunakan untuk bahan pembibitan dalam pembuatan tempe. Inokulum tempe yang telah dikenal masyarakat saat ini adalah usar (biasanya menempel di daun waru) dan inokulum bubuk buatan LIPI. Usar banyak mengandung bakteri kontaminan karena pada pembuatannya kurang memperhatikan kondisi yang aseptis dan jenis kapang pada usar juga bervariasi seperti *Rhizopus sp* dan mikroorganisme lain. Inokulum bubuk yang telah ada sebelumnya dibuat dari kapang *R. oligosporus* yang dibiakkan pada media beras yang telah masak, kemudian dikeringkan lalu digiling.

Syarat starter (inokulum) yang baik untuk digunakan dalam pembuatan tempe (Hidayat, *et al.*, 2006) adalah :

1. Mampu memproduksi spora dalam jumlah banyak.
2. Mampu bertahan beberapa bulan tanpa mengalami perubahan genetik dan kemampuan tumbuhnya.
3. Memiliki presentase pertumbuhan spora yang tinggi setelah diinokulasikan.
4. Mengandung biakan jamur tempe murni, jika digunakan dalam campuran harus memiliki proporsi yang tepat.
5. Bebas dari mikroba kontaminan dan jika memungkinkan strain yang dipakai memiliki kemampuan untuk melindungi diri dari dominasi mikroba kontaminan.
6. Mampu menghasilkan produk yang stabil berulang-ulang.

7. Pertumbuhan miselia setelah inokulasi harus kuat, lebat, berwarna putih bersih, memiliki aroma spesifik tempe yang enak dan tidak mengalami sporulasi terlalu dini.

2.4. *Rhizopus oligosporus*

Menurut Pawiroharsono (1996), mikroorganisme yang berperan penting dalam proses pembuatan tempe berasal dari jamur genera *Rhizopus* sp. Mikroorganisme ini memiliki koloni heterotalik, tumbuh cepat ditandai dengan bangunan khas seperti stolon (hifa penghubung diantara kelompok sporangiophora), rhizoid (bangunan mirip akar yang tumbuh ke dalam substrat), dan sporangifora (bangunan khusus yang pada ujungnya terdapat sporangium) yang tumbuh ke atas dengan posisi berlawanan dengan rhizoid. Jumlah spora yang terbentuk sangat banyak dengan ukuran relatif besar, berbentuk oval bersudut, tidak beraturan dan sering berkerat-kerat (striated). Morfologi *Rhizopus oligosporus* dapat dilihat pada Gambar 3.

Kedudukan taksonomi kapang *Rhizopus oligosporus* menurut Lendecker dan Moore (1996) adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Fungi*
Divisio : *Zygomycota*
Kelas : *Zygomycetes*
Ordo : *Mucorales*
Famili : *Mucoraceae*
Genus : *Rhizopus*
Spesies : *Rhizopus oligosporus*



Gambar 3. Morfologi *Rhizopus oligosporus*
Sumber : Dokumen pribadi

R. oligosporus merupakan kapang yang banyak digunakan dalam pembuatan tempe, banyak terdapat di alam karena hidupnya bersifat saprofit. Kapang ini dikenal sebagai kapang yang mampu memproduksi enzim lipase untuk merombak lemak media. Kapang ini juga mampu memproduksi asam lemak omega-3 rantai panjang, khususnya linoleat, selain itu *R. oligosporus* juga mampu menghasilkan asam linoleat pada proses fermentasi cair ampas kelapa sawit (Fardiaz, 1992).

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. Menurut Sarwono (2004), *Rhizopus oligosporus* berkembang dengan baik pada temperatur 30-35⁰C dengan waktu berkembang 48 jam dan memiliki ciri-ciri hifa seperti benang berwarna putih sampai kelabu hitam serta tidak bersekat, memiliki rhizoid dan sporangiospora.

Spora kapang sebagai unit reproduksi sangat membantu kapang dalam siklus hidupnya dan mampu bertahan hidup dalam keadaan yang tidak menguntungkan. Tahapan yang melibatkan spora yaitu spora dibentuk pada miselium atau sporokarp dan pelepasannya dari induk spora. Spora melakukan penyebaran yang merupakan masa dormansi. Spora kapang menemukan kondisi yang sesuai, kemudian melakukan germinasi untuk menjadi thalus baru (Moore -Landecker, 1996).

2.5 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan cendawan yang tergolong ke dalam kelompok khamir sejati dan tergolong mikroba eukariotik. *Saccharomyces cerevisiae* berasal dari kata *Saccharo* (gula) dan *Myces* (fungi) yang artinya cendawan gula (Dube, 1996). Menurut Sanger (2004) dalam Ahmad (2005), *Saccharomyces cerevisiae* dikelompokkan ke dalam super kingdom Eukaryota, filum Fungi, subfilum Ascomycota, kelas Saccharomycetes, ordo *Saccharomycetales*, famili *Saccharomycetaceae*, genus *Saccharomyces*, dan spesies *Saccharomyces cerevisiae*.

Menurut Ahmad (2008), *Saccharomyces cerevisiae* berkembang biak secara aseksual dan seksual dengan cepat. Khamir ini akan membelah diri dan menghasilkan tunas yang berkecambah multipolar pada saat perkembang biakannya. Tunas dapat terbentuk pada seluruh permukaan dinding sel. Diameter spora berukuran 5-10 μ . Reproduksi secara seksual membentuk askospora di dalam askus. Umumnya di dalam satu askus terdapat 4 buah askospora dengan berbagai bentuk.

Elliot (1994) dan Dube (1996) dalam Ahmad (2008) menjelaskan bentuk mikroskopik *Saccharomyces cerevisiae* berupa blastospora yang berbentuk bulat lonjong, silindris, oval, atau bulat telur pendek dan panjangnya dipengaruhi oleh strain. Lodder (1970) dan Barnett *et al.* (2000) dalam Ahmad (2005), menjelaskan bentuk makroskopik *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai koloni berbentuk bulat, warna putih krim abu-abu hingga kecokelatan, permukaan koloni berkilau sampai kusam, licin, dengan tekstur lunak. *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 . Memiliki warna putih kekuningan yang dapat dilihat diatas permukaan tumbuh koloni merupakan salah satu ciri khamir ini. Organisme ini biasa tumbuh dalam lingkungan hangat, lembab, mengandung gula, dan aerobik. Suhu optimum pertumbuhannya adalah 30°C, suhu maksimumnya 35- 37°C dan suhu minimumnya 9- 11°C (Walker , 998). Morfologi khamir *Saccharomyces cerevisiae* disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Morfologi *Saccharomyces cerevisiae*
Sumber : Dokumen pribadi

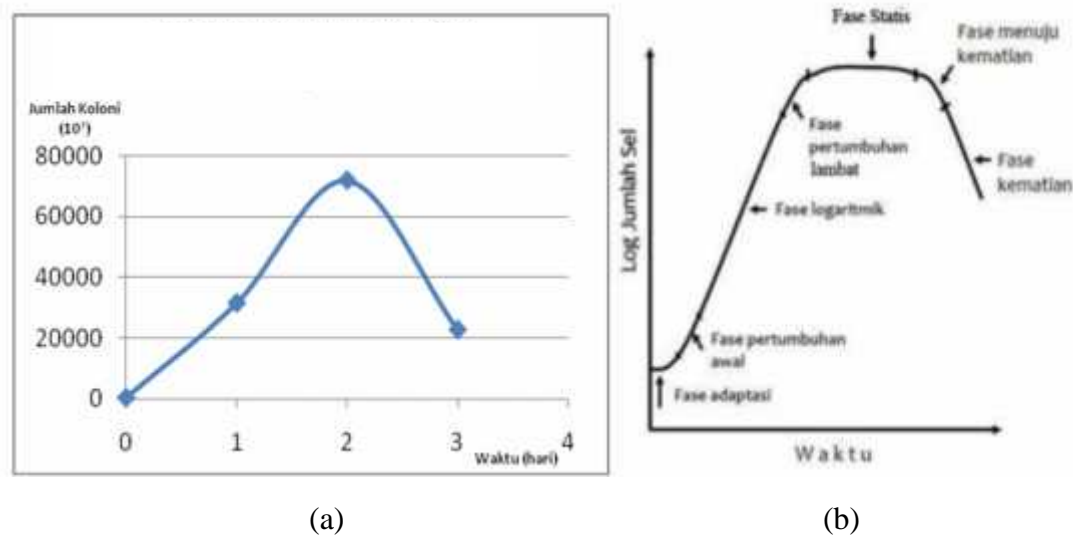
Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu jenis khamir galur potensial penghasil β -glukan , karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas β -glukan

(Lee *et al.*, 2001). Menurut Ruis Herera (1992), dinding sel dari *S.cerevisiae* terdiri dari 2 layer yang dibangun oleh 4 molekul utama, yaitu manoprotein, (1,6) glukana, (1,3) glukana dan kitin. Semua komponen ini tersambung oleh ikatan - ikatan kovalen. Manoprotein yang berada di dinding sel berjumlah 35-40% dari bobot kering sel. Lebih dari setengah penyusun dinding sel adalah (1,3) glukana, dan sisanya berupa kitin serta (1,6) glukana. Senyawa beta glukana didalam dinding sel *S.cerevisiae* berperan sebagai kerangka penyangga dari dinding sel dan berfungsi memperkuat struktur dari selnya serta sebagai zat cadangan makanan.

Saccharomyces cerevisiae telah lama dimanfaatkan dalam pembuatan berbagai produk makanan dan sudah banyak digunakan sebagai probiotik (Agawane dan Lonkar, 2004). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme penghasil amilase yang cukup berpotensi, selain bakteri dan kapang (De Mot, 1990). Aktivitas enzim amilase terutama isoamilase dapat menghidrolisa ikatan -1,6 pada amilopektin (Van der Maarel *et al.*, 2002). *Saccharomyces cerevisiae* diduga memiliki efek antioksidan dalam menurunkan kadar kolesterol darah (Sitompul, 2003). Menurut Yiannikouris *et al.* (2006), -D-glucans pada dinding sel *S. cerevisiae* dapat mengikat aflatoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus*.

Kecepatan pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam fase adaptasi (fase lag) yaitu pada jam ke 0 sampai 24 jam, dimana sel beradaptasi dengan kondisi lingkungannya. Pada fase ini mikroba merombak substrat menjadi nutrisi untuk pertumbuhannya. Pada jam berikutnya yaitu memasuki jam ke 24 jam sampai 48

jam adanya percepatan pertumbuhan sel mikroba yang menandakan bahwa telah memasuki fase pertumbuhan eksponensial (fase log). Pada fase ini *S.cerevisiae* bereproduksi dengan membentuk tunas. Setelah jam ke 48, sel khamir memasuki fase kematian karena metabolit primer yang dihasilkan bersifat racun bagi khamir (Kavanagh, 2005). Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* tersebut disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. a). Grafik pertumbuhan koloni *S.cerevisiae* terhadap waktu fermentasi
Sumber : Wahoyo *et al.* (2011)
b). Kurva pertumbuhan mikroba
Sumber : Fardias (1998)

2.6 Laju Pertumbuhan Mikroba

Menurut Fardiaz (1992), laju pertumbuhan adalah perubahan pada jumlah sel atau massa per unit waktu. Selama siklus pembelahan sel, semua struktur komponen sel membelah (*double*). Interval pembentukan 2 sel dari 1 sel disebut generasi, dan waktu yang dibutuhkan untuk pembelahan sel disebut waktu generasi. Waktu generasi kadang-kadang juga disebut waktu penggandaan (*doubling time*). Selama “*single generation*” jumlah sel dan massa sel menggandakan diri.

Sebagian besar bakteri mempunyai waktu generasi 1-3 jam tetap. Sebagian kecil organisme tumbuh sangat cepat 10 menit dan yang lainnya mempunyai waktu generasi beberapa jam atau beberapa hari. Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup. Pada organisme multiseluler, yang disebut pertumbuhan adalah peningkatan jumlah sel per organisme, dimana ukuran sel juga menjadi lebih besar. Pada organisme uniseluler (bersel tunggal), pertumbuhan merupakan penambahan jumlah sel.

2.6.1 Faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba

Menurut Fardiaz (1992), sifat – sifat fisik, kimia, dan struktur makanan yang mempengaruhi populasi dan pertumbuhan mikroorganisme adalah faktor intrinsik. Faktor – faktor tersebut adalah pH, air, potensi oksidasi – reduksi, kandungan nutrisi senyawa mikroba dan struktur biologi.

1. Nilai pH (Derajat keasaman)

Kebanyakan mikroba tumbuh baik pada pH sekitar netral dan pH 4,6 – 7,0 merupakan kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri, sedangkan kapang dan khamir tumbuh pada pH yang lebih rendah. Kegunaan pH adalah untuk menunjukkan keasaman dan kebasaan suatu larutan. Derajat keasaman (pH) yang dapat menyebabkan aktivitas enzim optimum disebut pH optimum. Tiap enzim memiliki pH tertentu yang dapat menyebabkan enzim tersebut bekerja secara optimum (Volk and Wheeler, 1988). Kisaran pH optimum untuk aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme adalah berkisar antara 5-7, tetapi masih dapat hidup pada pH 3-8,5 (Fardiaz, 1992).

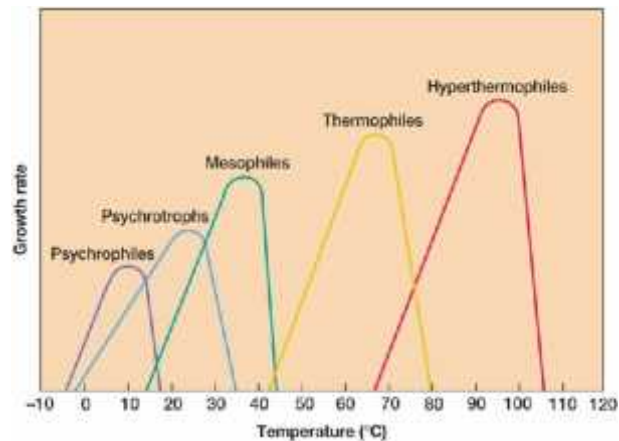
2. Nutrient

Komposisi bahan makanan dapat menentukan jenis mikroorganisme yang dominan didalamnya, karena hal ini akan menentukan jenis zat gizi yang penting tersedia untuk perkembangan mikroorganisme. Ketiadaan atau kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Kondisi tidak bersih dan higienis pada lingkungan adalah kondisi yang menyediakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba sehingga mikroba dapat tumbuh berkembang di lingkungan seperti ini.

3. Suhu

Pertumbuhan mikrobial memerlukan kisaran suhu tertentu. Kisaran suhu pertumbuhan dibagi menjadi suhu minimum, suhu optimum, dan suhu maksimum. Suhu minimum adalah suhu terendah tetapi mikrobial masih dapat hidup. Suhu optimum adalah suhu paling baik untuk pertumbuhan mikrobial. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi untuk kehidupan mikrobial.

1. Psikrofil, yaitu mikroba yang mempunyai kisaran suhu pertumbuhan pada suhu 0-20° C.
2. Mesofil, yaitu mikroba yang mempunyai kisaran suhu pertumbuhan 20- 45° C.
3. Termofil, yaitu mikroba yang suhu pertumbuhannya diatas 45° C. Suhu berbagai jenis mikroba disajikan pada Gambar 6.



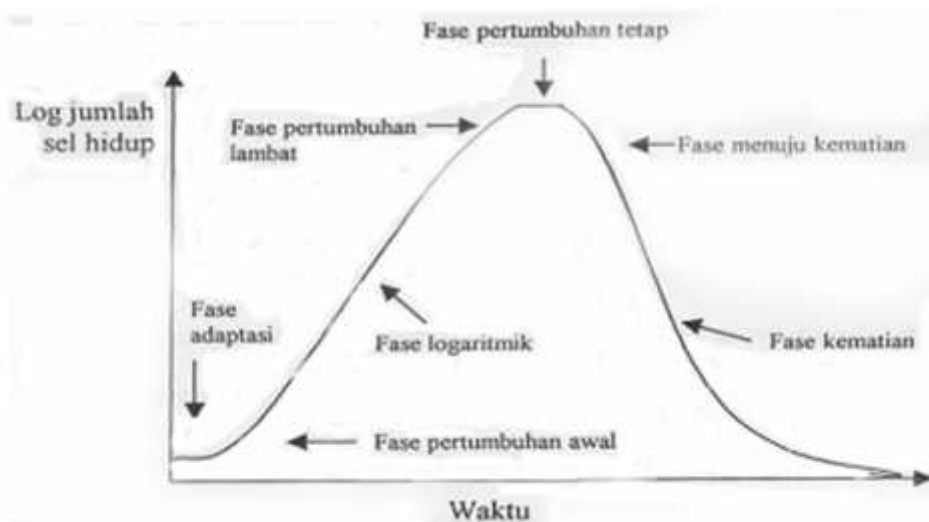
Gambar 6. Suhu pertumbuhan berbagai jenis mikroba
Sumber : Adams (2000)

4. Aktivitas Air ($a_w = \text{water activity}$)

Nilai aktivitas air untuk beberapa bahan makanan dan jenis mikroorganisme khusus yang terdapat didalamnya kan berbeda untuk setiap jenis bahan makanan. Bahan makanan dengan kadar air tinggi (nilai a_w : 0,95 – 0,99) umumnya dapat ditumbuhi oleh semua jenis mikroorganisme dan biasanya kerusakan akan lebih banyak karena bakteri dapat tumbuh lebih cepat dibandingkan dengan kapang dan khamir.

2.6.2 Kurva Pertumbuhan Mikroba

Kurva pertumbuhan merupakan bagian yang penting dari suatu penelitian karena dapat menggambarkan karakteristik kolonisasi bakteri. Selain itu, perhitungan waktu generasi juga diperlukan untuk mengetahui prediksi populasi setiap mikroorganisme dalam jangka waktu yang sama dengan keaktifannya dalam proses metabolisme (Fardiaz, 1992). Kurva pertumbuhan mikroba disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Kurva pertumbuhan mikroba
Sumber : Wuryanti (2008)

Pertumbuhan mikroba dalam suatu kultur melewati beberapa fase. Fase-fase pertumbuhan mikroba menurut Fardiaz (1992), yaitu sebagai berikut:

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

2. Fase Pertumbuhan Awal (stasioner)

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.

Laju pertumbuhan $dt/dX = \mu$ meningkat mencapai nilai maksimumnya.

μ = Laju pertumbuhan mikroba (sel/detik)

X = jumlah mikroba hidup

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, 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. Karena kekurangan nutrisi, sel mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik.

6. Fase Menuju Kematian atau Fase Kematian (*Death Phase*)

Sel – sel yang berada dalam fase tetap akhirnya akan mati bila tidak dipindahkan ke media segar lainnya. Dalam bentuk logaritmik fase menurun atau kematian merupakan penurunan secara garis lurus yang digambarkan oleh jumlah sel – sel hidup terhadap waktu, jumlah bakteri hidup berkurang dan menurun. Dan

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 (Suhartono, 1989).

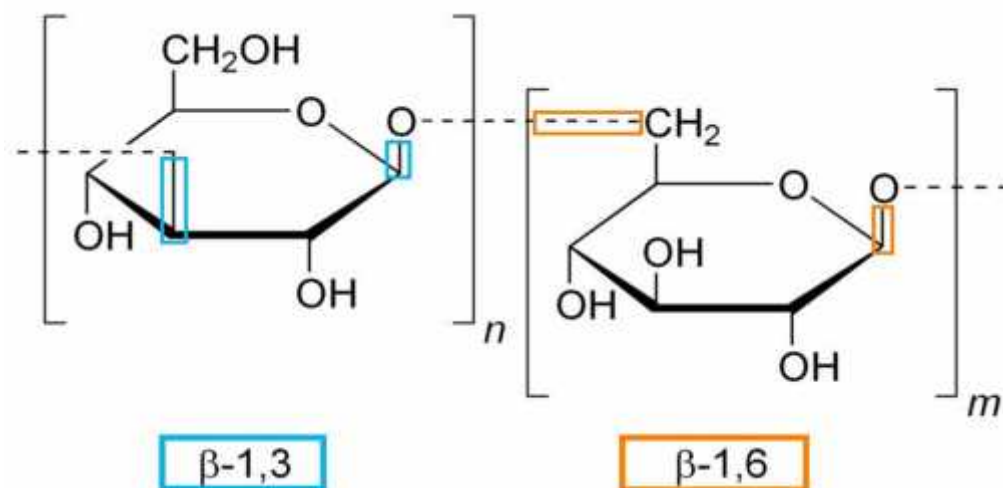
2.7. -glukan

-glukan merupakan homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan α -(1,3) dan α -(1,6)-glukosida (Ha *et al.*, 2002) dan banyak ditemukan pada dinding sel beberapa bakteri, tumbuhan, dan khamir (Hunter *et al.*, 2002). -glukan terbukti secara ilmiah sebagai *biological defense modifier* (BDM) dan termasuk kategori *generally recognized as safe* (GRAS) menurut FDA, serta tidak memiliki toksisitas atau efek samping (Ber, 1997 dalam Nurfajarwati, 2006). -glukan memiliki berbagai aktivitas biologis sebagai antitumor, antioksidan, antikolesterol, anti penuaan dini, dan peningkat sistem imun (Kulickle *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2001; Miura *et al.*, 2003 dalam Kusmiati 2006). Selain itu, senyawa ini dapat juga dimanfaatkan sebagai zat aditif dalam industri makanan (Cheeseman dan Malcon, 2000 dalam Nurfajarwati, 2006). -glukan memiliki berbagai sifat fungsional yang dapat digunakan dalam industri makanan untuk persiapan sup, saus, minuman, dan produk makanan lainnya di mana -glukan bertindak sebagai zat penstabil, penebalan, dan pengemulsi (Dawkins dan Nnanna, 1995; Burkus dan Temelli, 2000; Sánchez-Madrigal *et al.*, 2015 dalam Pengkumsri *et al.*, 2016).

-glukan berfungsi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menurunkan kolestrol. -glukan juga memiliki efek antitumor dan berpotensi sebagai

antioksidan yang melindungi makrofag darah dari serangan radikal bebas, serta mampu menyembuhkan luka. β -glukan memiliki beberapa sifat yang menguntungkan bagi tubuh, dimana β -glukan merupakan bahan alami, tidak beracun, tidak memiliki efek samping yang dapat merugikan, membantu memperbaiki jaringan dan regenerasi, mengaktifasi dan memperkuat imun, serta dapat meningkatkan keaktifan obat antibioktik dan antiviral (Yenti, 2005). β -glukan juga dikenal karena beberapa efek yang menguntungkan pada berbagai penyakit dan gangguan seperti kanker kolorektal (Dongowski *et al.*, 2002 dalam Pengkumsri *et al.*, 2016), pencegahan penyakit jantung koroner (Wang *et al.*, 2002), kadar glukosa darah dan resistensi insulin (Hallfrisch *et al.*, 2003; Hlebowicz *et al.*, 2008), kadar kolesterol serum, dan mikroflora usus (Tungland, 2003). Menurut Volman *et al.*(2008) dalam Pengkumsri *et al.* (2016), β -glukan merupakan senyawa imunomodulator yang kuat.

β -glukan memiliki tiga bentuk konformasi yaitu untai ganda tiga, untai tunggal, dan gulungan acak (Ha *et al.* 2002). Struktur primer β -glukan dapat dilihat pada Gambar 8. Menurut Cheeseman dan Brown (1995), dalam keadaan alami β -glukan berbentuk butiran kristal yang kurang baik seperti pati, bersifat tidak larut dalam air, tetapi mudah dilarutkan dalam larutan alkali, dan dapat membentuk gel jika dipanaskan pada suhu diatas 54°C. Gel yang terbentuk bersifat tidak memiliki rasa, warna, dan bau serta tidak memiliki nilai kalori (Jezequel, 1998 dalam Nurfajarwati, 2006).



Gambar 8. Struktur primer makromolekul β -glukan
 Sumber : Cheeseman dan Brown (1995)

β -glukan dapat diisolasi dari dinding sel ragi roti dan bir *S. cerevisiae* (Many *et al.*, 2014). Untuk ekstraksi dan pemurnian ragi β -glukan, sejumlah besar metode dan teknologi yang berbeda telah diusulkan dan banyak dari mereka telah dipatenkan (Kwiatkowski *et al.*, 2012). Metode ekstraksi β -glukan pertama didasarkan pada metode hidrolisis asam alkali dan kemudian pada oksidasi sel oleh natrium hipoklorida. Dalam beberapa tahun terakhir, metode isolasi bioteknologi dengan enzim dan atau sonikasi telah dikembangkan (Varelas *et al.*, 2015; Banyak *et al.*, 2014; Tam *et al.*, 2013 dalam Varelas *et al.*, 2016).

Langkah-langkah penting dalam proses ekstraksi β -glukan adalah lisis sel ragi dan selanjutnya pemurnian dinding sel yang harus mengarah ke bagian yang kurang terdegradasi dari rantai glukosa, distribusi massa β -glukan dalam supernatan dan dapat mengurangi hasil β -glukan yang didapat (Varelas *et al.*, 2015).

2.7.1 Ekstraksi -glukan

Menurut Kwiatkowski *et al.* (2012), langkah-langkah yang digunakan dalam proses pemecahan struktur polisakarida (-glukan) adalah sebagai berikut:

1. Purifikasi (Pemurnian)

Polisakarida padat, kasar, dan tidak homogen, harus dilarutkan dengan pelarut (air) yang tepat atau, untuk polisakarida yang tidak larut, harus menggunakan bahan kimia atau degradasi enzimatik (dengan kerusakan minimal pada struktur asli) untuk mengurangi ukuran polimer yang kemudian memungkinkan sampel menjadi larut. Contoh pembuatan solubilisasi penggunaan berbagai teknik kromatografi (yaitu, kromatografi pertukaran ion, ukuran kromatografi eksklusi, kromatografi afinitas, kromatografi sorben-cair) untuk fraksinasi sampel dan pemurnian.

2. Analisis komposisi

Hidrolisis asam lengkap digunakan untuk memotong semua ikatan glikosidik di polisakarida dan melepaskan D-glukosa sebagai produk tunggal (glukan), yang kemudian dapat diidentifikasi dan dibandingkan dengan standar D-glukosa.

3. Analisis hubungan metilasi

Semua gugus polisakarida hidroksil (OH) dimetilasi menggunakan *methylation reagent* (*dimethyl sodium* diikuti oleh *methyl iodide*). Diperoleh turunan O-methylated dengan cara ini, kemudian mengalami hidrolisis asam dari semua ikatan glikosidik. Turunan O-methylated dari D-glukosa: 2, 3, 4, 6-O-tetramethyl-D-glucose; 2, 3, 4-O-trimetil-D-glukosa; 2, 4-O-dimethyl-D-glukosa diidentifikasi dan diukur menggunakan HPLC / MS dan standar yang sesuai.

4. Spektroskopi

^1H dan ^{13}C NMR dan MS digunakan untuk menetapkan urutan cincin glukopiranos, posisi titik percabangan, jumlah ujung yang tidak mereduksi dan sifat dari ikatan glikosidik (atau). Jika polisakarida mengandung urutan berulang, rasio mereka bisa juga didirikan.

5. Tindakan enzimatik

Glikosidase dan lektin yang diketahui diterapkan untuk mengkonfirmasi struktur oligosakarida glukosa, dan asal komponen polisakarida yang lengkap sehingga dapat disimpulkan.

2.7.2 Komponen Dinding Sel *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Penghasil - glukan

Dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* mengandung tiga konstituen utama: glukan (glukosa polisakarida), mannan (mannose polysaccharide) dan fraksi protein. Ada tiga jenis polisakarida glukosa yang terkenal di ragi: poli- (1 3) (1 6) - - D-glukopiranos - nama komersial: ragi -D-glukan, ragi glukan; poly- (1 4) - - Dglucopyranose (nama komersial ragi glukogen) dan poli- (1 6) (1 3) (1 4) - -Dglucopyranose. Dalam *S.cerevisiae* , - dan -glukan serta -mannan adalah polisakarida utama pada dinding sel *S.cerevisiae*, dan persentase kitin berkisar 1-2 % yang tersusun pada dinding sel *S.cerevisiae*. Persentase komponen tersebut tidak menentu tergantung regangan *S.cerevisiae*, tahap pertumbuhan *S.cerevisiae*, dan kondisi pertumbuhan termasuk ketersediaan oksigen, nutrisi suhu, dan pH medium (Stewart & Russell, 1998 dalam Varelas, 2016).

Komponen dinding sel *S.cerevisiae* disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Komponen dinding sel *S.cerevisiae*

Komponen	Berat massa dinding sel % (db)
1 3)- -D-glucan 50-55	50-55
(1 6)- -D-glucan 5-10	5-10
(1 4)- -(1 3)- -D-glucan 3-7*	3-7
Mannoprotein complex	35-40
Chitin	2

Sumber : Kwiatkowski (2012)

(1 3) - -D-glucan dan (1 6) - -D-glucan membentuk struktur tunggal dengan (1 3) - -D-glucan membentuk rantai tulang belakang dengan cabang (1 6) - -D-glucan yang melekat dan percabangan glukopiranosida bercincin pada C-6 (Lessage *et al.*, 2006). 1 3 - -D-glucan rantai berbentuk triple helix struktur tridimensional dengan sifat mekanik dan bertanggung jawab atas kekuatan dinding sel *S.cerevisiae* (Klis *et al.*, 2002) dan berkemampuan untuk menyerap racun (Yiannikouris *et al.*, 2004). 1 6 - -D-glucan adalah penghubung antara (1 3) - -D-glucan, chitin dan mannoprotein (Kaptein *et al.*, 1999; Kollar *et al.*, 1997 dalam Pengkumsri, 2017) yang berperan menstabilkan keseluruhan struktur dan merupakan faktor utama insolubilitas dinding sel *S.cerevisiae*. Mannoprotein sebagian besar terletak di permukaan luar dinding sel. Beberapa enzim dinding sel semacam itu sebagai glukanasase, mannanase, invertase, alkalin fosfatase dan lipase adalah mannoprotein yang menghidrolisis nutrisi dan berpartisipasi dalam rekonstruksi sel polisakarida selama pertumbuhan sel dan tunas. Dinding sel mannans terhubung dengan dinding sel glukans melalui ikatan kovalen, tetapi dapat dilepaskan di bawah tindakan medium basa di mana mereka sangat larut. Proses memisahkan dinding sel *S.cerevisiae* (yang tinggal

sebagai fraksi tidak larut) dari manan ragi digunakan pada skala industri (Kwiatkowski *et al.*, 2012).

2.7.3 Bioaktivitas -glukan

-glukan memiliki fungsi bioaktivitas terhadap penyakit yaitu sebagai antikanker. Mekanisme kerja -glukan dilakukan dengan cara mengaktivasi neutrofil dan makrofag yang berperan dalam proses membunuh sel kanker (Liou *et al.*, 2009). Selain itu -glukan berfungsi untuk memperkuat kekebalan diri terhadap berbagai penyakit (Hofer and Pospisil, 2011 dalam Kwiatkowski *et al.*, 2012). Penghambatan sel kanker oleh -glukan secara tidak langsung dilakukan, -glukan yang menempel pada makrofag menstimulasi makrofag membentuk sitotoksik T limposit yang menghasilkan komponen kimia antikanker lain yang dapat menghancurkan sel kanker (Noor, 2010). Selain itu, kegiatan terapeutik -glukan yang mampu mengobati: infeksi pasca-bedah pneumonia rumah sakit, gagal ginjal akut (Klis *et al.*, 2011), ulkus tekanan (luka tidur), luka penyembuhan operasi dan sebagai akibat dari cedera, dan luka bakar yang disebabkan oleh panas, UV atau Radiasi sinar X (Kwiatkowski *et al.*, 2012).

III. METODELOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, dan Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi, 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 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 merek dagang Soybean USA no. 1 yang diperoleh dari Gunung Sulah di Bandar Lampung, Ragi tempe merk Raprima, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA) *Malt Extract Agar* (MEA), *De Man, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) *Buffered Peptone Water*, buffered 4 dan 7, aquadest, *chloramphenicol*, NaOH 0,7 N, buffer fosfat pH 4 dan pH 7, $Pb(C_2H_3O_2)_2$, H_2SO_4 , C_6H_5OH , CH_3COOH , $Na_2C_2O_4$, garam fisiologis 0,85%, alkohol 70%, 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 disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) faktorial dengan tiga kali ulangan. Faktor pertama adalah jenis inokulum dengan 4 taraf ragi tempe komersial (kontrol positif) (J1), *Saccharomyces cerevisiae* (kontrol negatif) (J2), *Rhizopus oligosporus* (J3), *Rhizopus oligosporus*+*Saccharomyces cerevisiae* (J4). Faktor kedua adalah lama fermentasi dengan 6 taraf yaitu 0 jam (T1), 8 jam (T2), 16 jam (T3), 24 jam (T4), 32 jam (T5), dan 40 jam (T6). Kombinasi perlakuan jenis inokulum dan lama fermentasi disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Kombinasi perlakuan jenis inokulum dan lama fermentasi

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 komersial dengan lama fermentasi 0 jam
- J1t2 : Kedelai+Ragi tempe komersial dengan lama fermentasi 8 jam
- J1t3 : Kedelai+Ragi tempe komersial dengan lama fermentasi 16 jam

- J1t4 : Kedelai+Ragi tempe komersial dengan lama fermentasi 24 jam
 J1t5 : Kedelai+Ragi tempe komersial dengan lama fermentasi 32 jam
 J1t6 : Kedelai+Ragi tempe komersial dengan lama fermentasi 40 jam
 J2T1 : Kedelai+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 0 jam
 J2T2 : Kedelai+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 8 jam
 J2T3 : Kedelai+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 16 jam
 J2T4 : Kedelai+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 24 jam
 J2T5 : Kedelai+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 32 jam
 J2T6 : Kedelai+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 40 jam
 J3T1 : Kedelai+ *R. oligosporus* dengan lama fermentasi 0 jam
 J3T2 : Kedelai+ *R. oligosporus* dengan lama fermentasi 8 jam
 J3T3 : Kedelai+ *R. oligosporus* dengan lama fermentasi 16 jam
 J3T4 : Kedelai+ *R. oligosporus* dengan lama fermentasi 24 jam
 J3T5 : Kedelai+ *R. oligosporus* dengan lama fermentasi 32 jam
 J3T6 : Kedelai+ *R. oligosporus* dengan lama fermentasi 40 jam
 J4T1 : Kedelai + *R. oligosporus*+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 0 jam
 J4T2 : Kedelai + *R. oligosporus*+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 8 jam
 J4T3 : Kedelai + *R. oligosporus*+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 16 jam
 J4T4 : Kedelai + *R. oligosporus*+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 24 jam
 J4T5 : Kedelai + *R. oligosporus*+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 32 jam
 J4T6 : Kedelai + *R. oligosporus*+ *S. cerevisiae* dengan lama fermentasi 40 jam

Kedelai yang diinokulasi dengan inokulum sesuai perlakuan dilakukan pengujian analisis jumlah total kapang dan khamir, nilai pH, dan kandungan -glukan pada lama fermentasi 0 jam, 8 jam, 16 jam, 24 jam, 32 jam, dan 40 jam. Kehomogenan data yang diperoleh diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Data hasil pengamatan dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan dan data dilakukan uji lanjut dengan uji Polinomial Ortogonal – Ortogonal Contras (OP-OC) pada taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Persiapan pembuatan biakan *Saccharomyces cerevisiae*

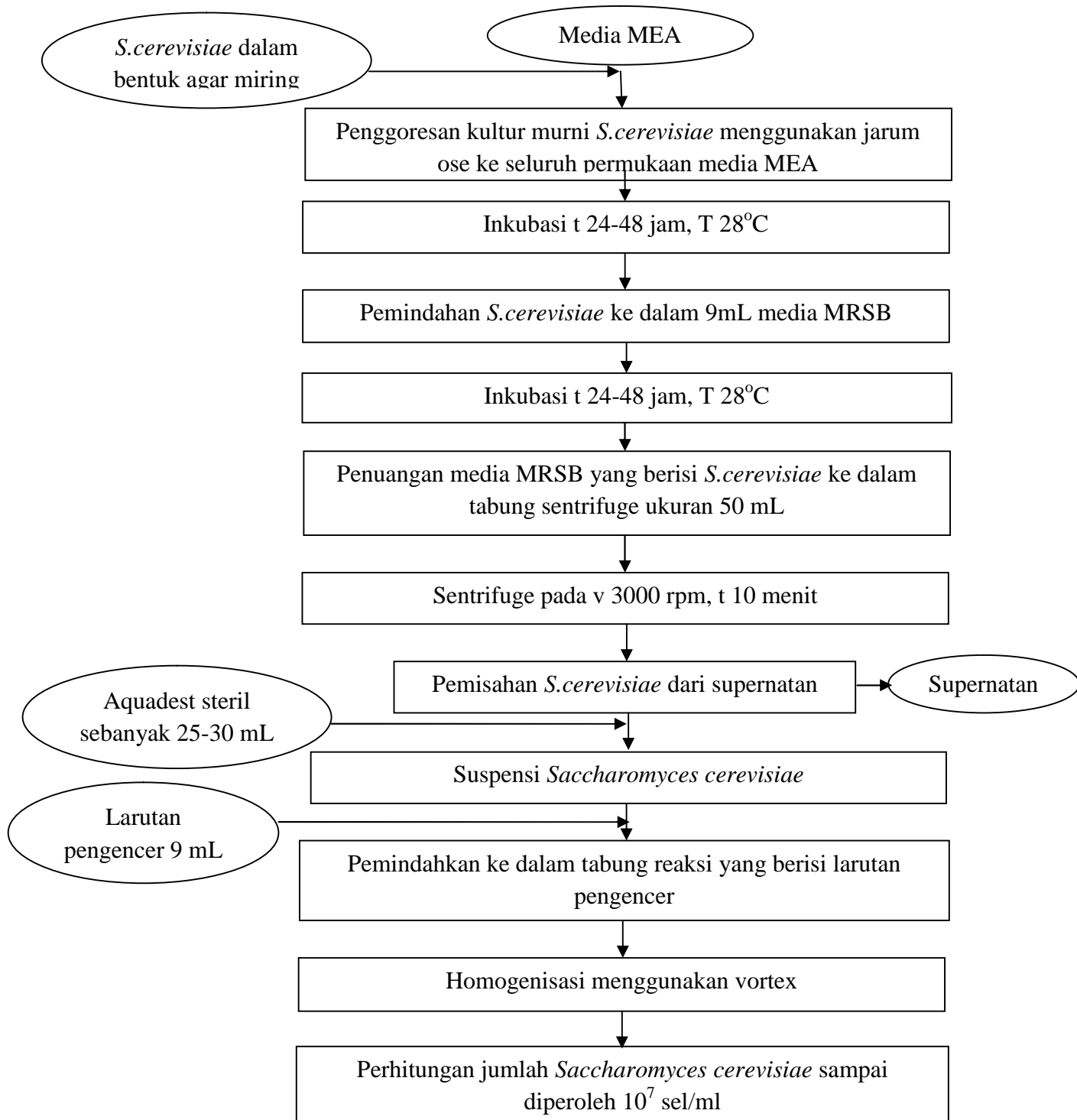
1. Pembuatan media MEA (*Malt Extract Agar*)

Sebanyak 5 g media *Malt Extract Agar* dilarutkan ke dalam aquadest sebanyak 100 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hotplate

sampai media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi pada suhu 115°C selama 10 menit. Setelah didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan sebanyak 20-25 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

2 Persiapan pembiakan *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae dari bentuk agar miring dibiakan ke dalam media *Malt Extract Agar* (MEA) menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi, selanjutnya diinokulasi dengan metode cawan gores. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C sehingga diperoleh *Saccharomyces cerevisiae* murni dalam bentuk koloni. Koloni-koloni *S. cerevisiae* tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media *De Man, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) 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 25-30 mL pada proses sentrifugasi yang kedua. Kemudian didapat padatan yang terpisah dari larutan, larutan tersebut dibuang dan ditambahkan kembali aquadest steril sebanyak 25-30 mL. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan 9 mL larutan pengencer dan di vortex. Jumlah sel *S. cerevisiae* dalam larutan pengencer dihitung menggunakan *haemocytometer* sampai diperoleh *S. cerevisiae* berjumlah 10^7 sel/gram. Tahapan tahapan persiapan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir persiapan inokulum *Saccharomyces cerevisiae*

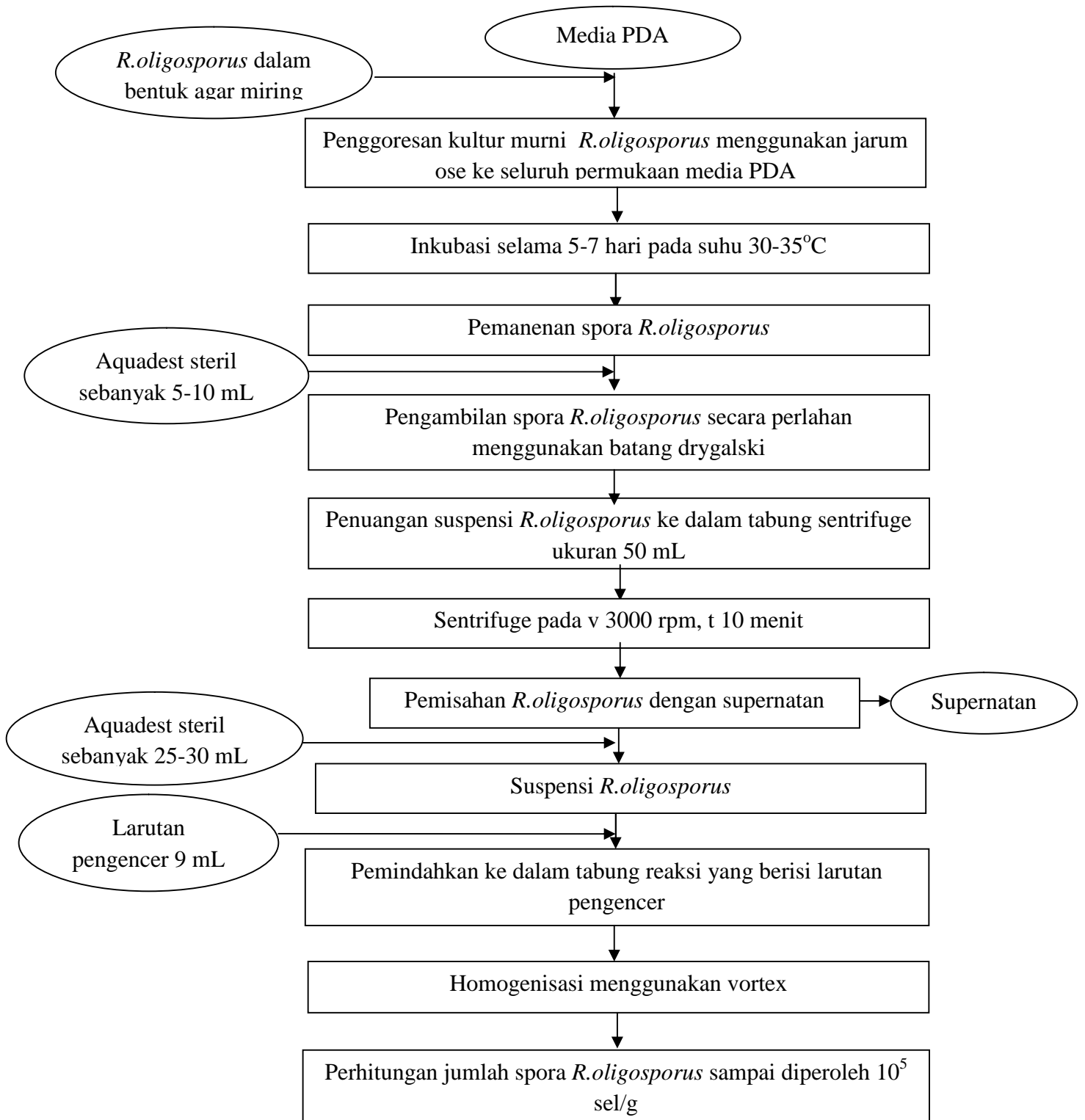
3.4.2. Persiapan pembuatan biakan *R. oligosporus*

1. Pembuatan media Potato Dextrose Agar (PDA)

Sebanyak 7,8 g media PDA ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hotplate sampai media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah tu, didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan sebanyak 20-25 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

2. Pemiakan *Rhizopus oligosporus*

R. oligosporus dari bentuk agar miring dibiakan ke dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi, selanjutnya diinokulasi ke seluruh permukaan media dengan metode cawan gores. Kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 30-35°C sehingga diperoleh *R. oligosporus* murni dalam bentuk koloni di dalam media. Koloni-koloni *R. oligosporus* tersebut dipanen menggunakan drygalski 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 sel/gram. Tahapan tahapan persiapan inokulum *R. oligosporus* dapat dilihat pada Gambar 10.

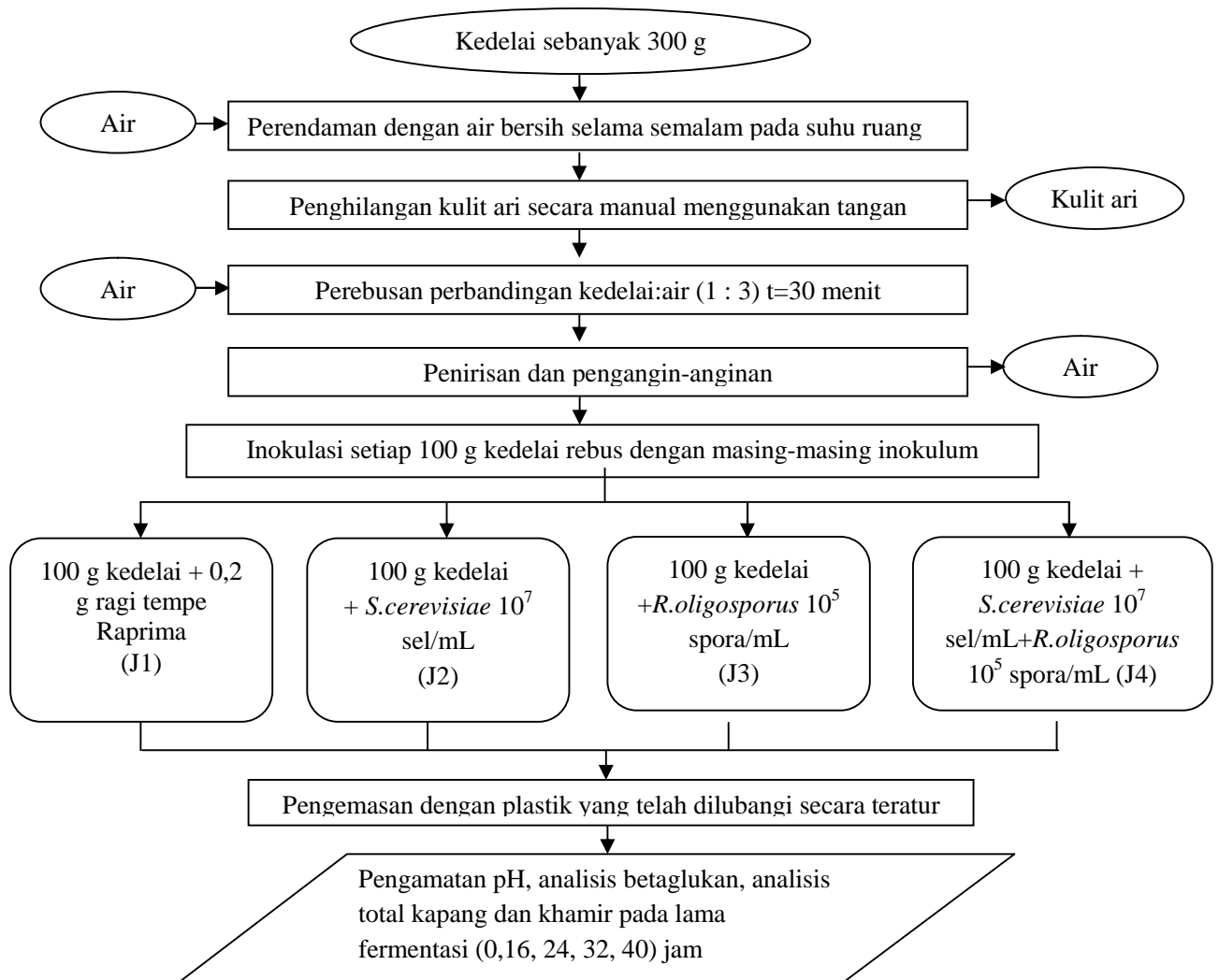


Gambar 10. Diagram alir persiapan inokulum *R. oligosporus*

3.5. Pembuatan Tempe Kedelai

Proses pembuatan tempe mengikuti prosedur Kustyawati (2009). Sebanyak 300 g kedelai direndam dalam air bersih pada suhu ruang selama semalam. Kemudian kedelai yang telah direndam dihilangkan kulit arinya secara manual. Selanjutnya kedelai direbus menggunakan air bersih dengan perbandingan 1 : 3 (kedelai : air) selama 30 menit, ditiriskan lalu diangin-anginkan sampai suhu kedelai mencapai suhu ruang dan siap diinokulasi dengan inokulum sesuai dengan perlakuan.

Pembuatan tempe dibuat secara duplo. Tahap inokulasi dilakukan dengan cara mencampurkan setiap 100 g kedelai rebus dengan inokulum antara lain : ragi tempe Raprima sebanyak 0,2 g, 1 mL suspensi 10^5 spora/mL *R. oligosporus*, dan 1 mL suspensi 10^7 sel/mL *Saccharomyces cerevisiae*, serta 1 mL suspensi 10^5 spora/mL *R. oligosporus*+1 mL suspensi 10^7 sel/mL *Saccharomyces cerevisiae*. Selanjutnya kedelai yang telah diinokulasi dikemas dalam kemasan plastik yang telah dilubangi secara teratur untuk tujuan aerasi dan diinkubasi pada suhu 32°C dilakukan pengamatan terhadap nilai pH tempe, jumlah kapang dan khamir, dan kandungan -glukan pada lama fermentasi 0 jam, 8 jam, 16 jam, 24 jam, 32 jam ,dan 40 jam. Diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram alir pembuatan tempe
Sumber : Kustyawati (2009)

3.6. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap tempe kedelai yang diinokulasi dengan inokulum sesuai dengan perlakuan, meliputi pengamatan mikroorganisme yaitu jumlah total kapang dan total khamir selama fermentasi. Kemudian dilakukan analisis nilai pH dan kandungan betaglukan pada lama fermentasi ke-0, 8, 16, 24, 32, dan 40 jam.

3.6.1 Derajat Keasaman (pH) (AOAC, 2005)

Nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter menurut prosedur AOAC (2005).

Nilai pH diukur pada suhu yang sama. Sebelum pengukuran, pH-meter distandarisasi dengan menggunakan buffer standar pH 4 dan pH 7. Pengukuran dilakukan dengan cara elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu. Sampel dimasukkan ke dalam gelas piala 100 ml kemudian elektroda dicelupkan hingga tenggelam pada larutan sampel dan dibiarkan kurang lebih satu menit hingga diperoleh angka yang stabil dan dicatat nilainya. Nilai pH diukur secara duplo.

3.6.2. Analisis –glukan (Kusmiati, 2007)

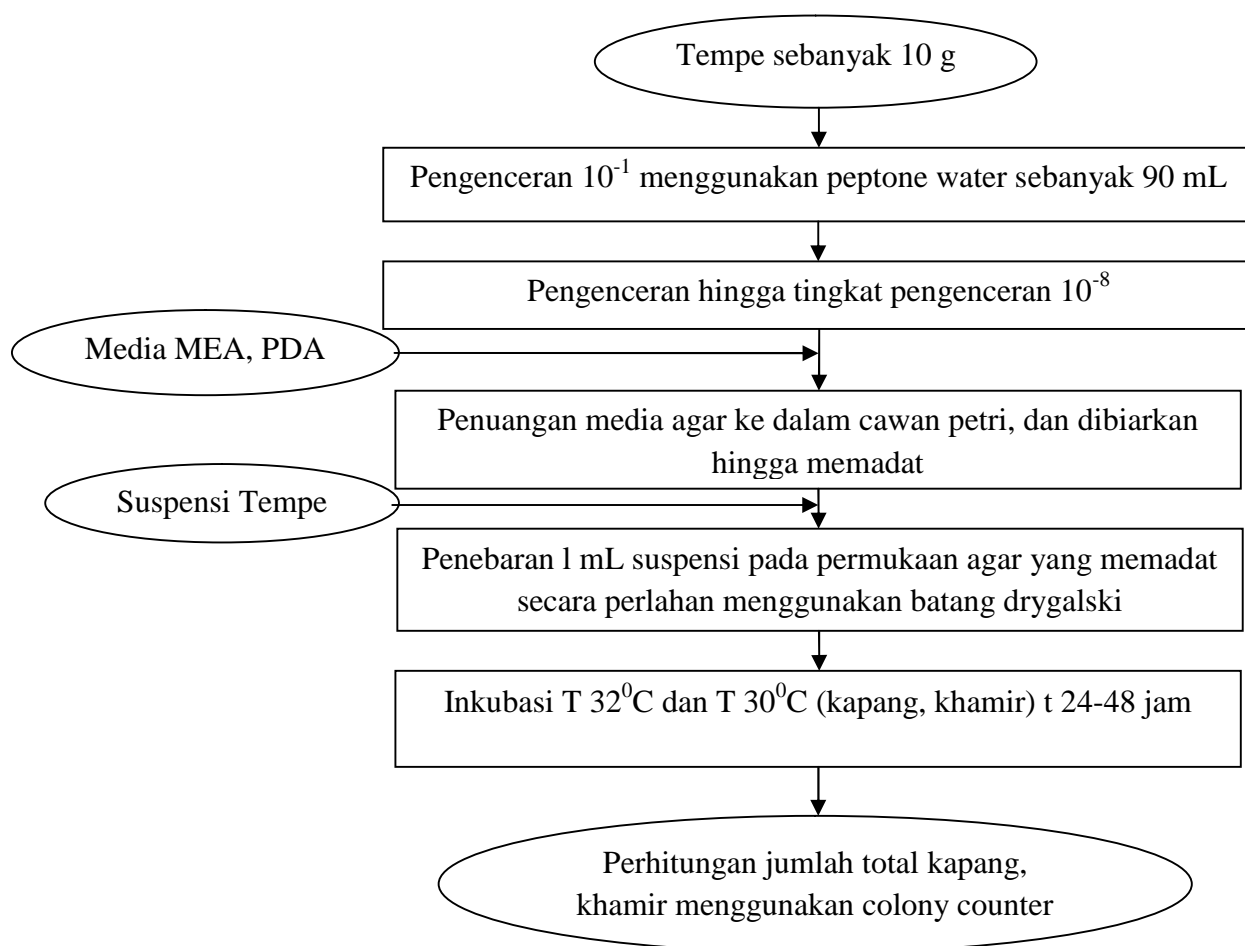
Pengujian –glukan dilakukan mengikuti prosedur Kusmiati *et al* (2007). Setiap sampel kedelai yang telah diinokulasi dengan nokulum sesuai perlakuan, dilakukan pengujian terhadap kandungan –glukan. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 g sampel tempe kering kemudian ditambahkan NaOH 0,7 N 30 mL. Selanjutnya dihidrolisis selama 6 jam dengan suhu 75°C. Kemudian didapat larutan keruh dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 25°C selama 30 menit. Selanjutnya supernatan dibuang, dan didapat residu yang kemudian dicuci dengan 30 mL larutan asam asetat 0,5 M dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 25°C selama 30 menit kemudian supernatan dibuang, pencucian dengan asam asetat tersebut dilakukan sebanyak tiga kali. Kemudian residu dicuci dengan 20 mL aquadest dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Pencucian dengan aquadest dilakukan sebanyak dua kali.

Residu yang didapat ditambahkan dengan 20 mL etanol lalu disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit, sehingga menghasilkan α -glukan (crud) basah. Biomassa tersebut dioven pada suhu 45°C selama 1 hari dan ditimbang sebagai berat α -glukan (crud) kering/ bobot α -glukan kasar. Residu kering tersebut ditambahkan NaOH 1M 4 mL dan dibiarkan selama 1 jam. Larutan tersebut diencerkan dengan menggunakan aquadest dan dishaker. Kemudian ditambahkan Pb Asetat 2 mL dan didiamkan selama \pm 30 menit. Selanjutnya larutan tersebut ditambahkan natrium oksalat 1 g sehingga didapat larutan yang jernih, kemudian larutan tersebut diambil 2 mL dan ditambahkan fenol dan asam sulfat . kemudian diuji menggunakan spektrofotometer sugar free content dengan panjang gelombang 490 A.

3.6.3. Perhitungan Jumlah Kapang dan Khamir menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC)

Perhitungan jumlah total kapang dan khamir pada tempe dilakukan dengan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*) dengan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk kapang dan media *Malt Extract Agar* (MEA) untuk khamir yang mengikuti metode Lay (1994).. Prinsip dari metode hitungan cawan adalah menumbuhkan sel-sel mikroba yang masih hidup pada suatu atau beberapa media. Kedelai dengan penambahan berbagai jenis inokulum dilakukan analisis jumlah total khamir dan kapang pada lama fermentasi 0 jam, 8 jam, 16 jam, 24 jam, 32 jam, dan 40 jam. Masing masing tempe diambil sampelnya dan dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-10} secara duplo. Pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi kedelai meliputi unit pembentuk koloni (CFU) dari khamir dan kapang yang dilakukan pada saat selama fermentasi kedelai.

Persiapan sampel pengujian mengikuti metode Kustyawati (2009). Sebanyak 10 g sampel dicampur dengan 90 mL peptone water, dihomogenkan dengan stomaker selama 5 menit, selanjutnya dibuat seri pengenceran sampai konsentrasi tertentu. Kemudian diambil 1 mL dari pengenceran tertentu dan dilakukan penanaman mikroorganisme dengan metode *spread plate* pada media agar padat yang sesuai. Inkubasi dilakukan pada suhu 32 °C untuk menumbuhkan kapang dan 30 °C untuk menumbuhkan khamir, selama 24-48 jam. Diagram alir perhitungan jumlah total kapang dan khamir disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Diagram Alir Penghitungan jumlah kapang dan khamir pada tempe
Sumber : Lay *et al.* (1994) dimodifikasi

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Pertumbuhan kapang pada tempe dengan penambahan ragi tempe komersial, *R.oligosporus*, dan campuran *R.oligosporus* dan *S.cerevisiae* meningkat sampai akhir fermentasi, meskipun pertumbuhannya terlambat diawal fermentasi ke- 0 jam sampai ke- 16 jam, dengan laju pertumbuhan spesifik maksimum kapang pada masing-masing jenis inokulum sebesar $0,014 \text{ jam}^{-1}$, $0,0113 \text{ jam}^{-1}$, dan $0,016 \text{ jam}^{-1}$.
2. Pertumbuhan khamir pada fermentasi kedelai dengan penambahan *S.cerevisiae* dan campuran *R.oligosporus* dan *S.cerevisiae* mengalami peningkatan hingga akhir fermentasi meskipun mengalami penurunan pada lama fermentasi ke-32 jam dengan laju pertumbuhan spesifik maksimum sebesar $0,012 \text{ jam}^{-1}$ dan $0,013 \text{ jam}^{-1}$.
3. Tempe dengan penambahan inokulum ragi tempe komersial, *S.cerevisiae*, *R.oligosporus*, dan campuran *R.oligosporus* + *S.cerevisiae* menghasilkan kandungan betaglukan yang lebih tinggi dibandingkan kedelai tanpa inokulum. Kandungan betaglukan tertinggi pada tempe dengan penambahan campuran *R.oligosporus* dan *S.cerevisiae* sebagai inokulum pada lama fermentasi 40 jam, yaitu sebesar 0,578% (w/w).

5.2 Saran

Saran yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan pelubangan kemasan plastik secara teratur, besar maupun jarak antar lubang seragam, untuk memperbaiki penampakan warna hitam (spora) tempe akibat ketersediaan oksigen yang berlebih.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap laju spesifik penggunaan substrat selama fermentasi tempe.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penambahan sumber gula pada substrat atau sumber C dalam pembuatan tempe untuk melihat pertumbuhan khamir dan kontribusinya terhadap peningkatan kandungan betaglukan tempe
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pembuatan ragi tempe dengan penambahan *S.cerevisiae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aak. 1995. *Kedelai*. Kanisius. Yogyakarta.
- Adams, M.R. 2000. *Food Microbiology*. University of Surrey. Guildford. New York
- Agawane, S.B. dan P.S. Lonkar. 2004. Effect of probiotic containing *Saccharomyces boulardii* on experimental ochratoxicosis in broilers: Hematobiochemical studies. *J. Vet. Sci.* 5: 359-367.
- Ahmad, R, Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk Ternak. *WARTAZOA*. 15(1). Bogor (ID): Balai Penelitian Veteriner.
- Ahmad, R, Z. 2008. Efektivitas Cendawan *Duddingtonia flagrans* dan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pengendalian Cacing *Haemonchus contortus* pada Domba. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ambarwati, G. A. 2017. Pengaruh Konsentrasi Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Perubahan Kandungan Kimia pada Tempe. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Andriani, Y. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Betaglukan Dari *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Gradien*. 3(1) : 226-230
- AOAC.2005. *Official Methods of Analysis. Association of Official. Analytical Chemists*. Benjamin Franklin Station. Washington.
- Astawan, M. 2004. *Tetap Sehat dengan Produk Makanan Olahan*. Tiga Serangkai. Solo.
- Astuti, M., Meliala, Andreanyta., Fabien, Dalais., Wahlq, dan Mark. 2000. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pacific Journal Clinical Nutritional*
- Astuti, Sussi. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13 (2)
- Babu, P.D., R. Bhagyaraj, and R. Vidhyalakshmi. 2009. A Low Cost Nutritious Food "Tempeh"- a Review. *World Journal of Dairy and Food Sciences*.

4 (1): 22-27.

- Badan Pusat Statistik (BPS). 2014. *Ironi Kedelai Impor di Negeri Tempe*. Berita Industri Kementerian Perindustrian Republik Indonesia. <http://www.kemenperin.go.id/artikel/3853/Ironi-Kedelai--Impor-di-Negeri-Tempe>. Diakses 19 September 2017.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia 01-3922-1995. Tentang syarat mutu biji kedelai
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia 01-3144-2009. Tentang syarat mutu tempe
- Barnett, P. 2000. *Saccharomyces cerevisiae* PTS1 Receptor Pex5p Interacts with The SH3 Domain of the Peroxisomal Membrane Protein Pex13p in an Unconventional Non-PXXP-related Manner. *Molecular Biology of the Cell*. 11(11): 3963-3976.
- Barus, T., A. Suwanto, A.T. Wahyudi, dan H. Wijaya. 2008. Role of Bacteria in Tempe Bitter Taste Formation and Molecularbiological Analysis Base on 16S rRNA Gene. *Journal Microbiologi Indonesia*. 2 (1) :17-21.
- 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 soflavon pada Proses Pengolahan Tempe. *Jurnal Biosantifika* 1 (3): 1-8
- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Bumi Aksara. Bandung.
- Delatte, S. J., J. Evans, A. Hebra, W. Adamson, H. B. Othersen, and E.P. Tagge. 2001. *Journal Pediatritional. Surg*. 36 :113.
- De Mot, R. 1990. *Conversion of starch by yeasts* dalam: Verachtert, H. dan De Mot R. (ed.). *Yeasts biotechnology and biocatalysis*. Macel Dekker, New York.
- Dube, H.C. 1996. *An Introduction to Fungi*. Edisi ke-2. Vikas House PVT. Delhi.
- 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, dan L. Nuraida. 2013. Populations Dinamic of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB) during Tempeh Production. *Hayati Journal of Biosciences* 20 (2) : 57-64. DOI: 10.4308/hjb.20.2.57
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Lembaga Sumber Daya Informasi-IPB, Bogor.

- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Feng, X. M. 2006. Microbial Dynamics during Barley Tempeh Fermentation. *Acta*. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala. 59.
- Gandjar, I. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta
- Ha, C., K. Lim, Y. Kim, S. Lim, C. Kim, and H. Chang. 2002. Analysis of Alkali-soluble Glucan Produced by *Saccharomyces cerevisiae* Wild-type and Mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58 (3): 370-377.
- Hunter, K.W.Jr., R.A. Gault, and M.D. Berner. 2002. Preparation of Microparticulate β -Glucan from *Saccharomyces cerevisiae* for Use in Immune Potentiation. *Letters in Applied Microbiology*. 35 (4): 267-269.
- Haslina., E. Pratiwi. 2009. Manfaat Tempe Bagi Gizi dan Kesehatan Manusia. *Sainteks*. 3(4)
- Hermana, M. Karmini, dan D. Karyadi. 1996. *Komposisi Gizi Tempe Serta Manfaatnya dalam Peningkatan Gizi Pangan*. Dalam Bunga Rampai Tempe Indonesia, Yayasan Tempe Indonesia.
- Hetland, G., E. Johnson, D.M. Eide, B. Grinde, A.B.C. Samuelsen, and H. G. Wiker. 2013. Antimicrobial effects of β -glucans and pectin and of the *Agaricus blazei* Based Mushroom Extract, AndoSan™. 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. 889-898.
- Hubert, J., Berger, M., Nepveu, F., Paul, F. and Dayde, J. 2008. Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. *Journal of Food Chemistry*. 109: 709-721.
- Hsiao, N.W., Y. Chen, Y.C. Kuan, Y.C. Lee, SK. Lee, H.H. Chan, and C.H. Kao. 2014. Purification and characterization of an aspartic protease from the *Rhizopus oryzae* protease extract, peptidase R. *Electron Journal Biotechnology*. 17:89-94.
- Intan, W. R. 2010 . Karakteristik Sensorik, Nilai Gizi dan Antioksidan Tempe Kacang Gude dan Tempe Kacang Tunggak dengan Berbagai Variasi Waktu Fermentasi. (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Sumatra.
- Iskandar, Y.M. 2002. Isoflavonoida Hasil Fermentasi Kedelai Menggunakan Inokulum Kultur Campuran. *Prosiding Semnas XI*. Jasakiai. Yogyakarta.
- 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

- Javmen, A., S. Grigiškis, and R. Gliebute. 2012. β -glucan extraction from *Saccharomyces cerevisiae* yeast using *Actinomyces rutgersensis* 88 Yeast Lyzing Enzymatic Complex. *BIOLOGIJA*. 2 (58) 51–59
- Jha, H.C., Kiriakidis, S., Hoppe, M. dan Egge, H. 1997. *Antioxidative constituents of tempe*. Dalam: Sudarmadji, S., Suparmo dan Raharjo, S. *Reiventing the Hidden Miracle of Tempe, Proceeding International Tempe Symposium, Bali*, hal 73-84. Indonesian Tempe Foundation. Jakarta.
- Jelen, H., M. Majcher, A. Ginja, and M. Kuligowski. 2013. Determination of Compounds Responsible for Tempeh Aroma. *Food Chemistry*. 141 : 459-465.
- Jordan, F.M. 2001. *Betaglukan with four imunology patent*, Nutritional Supply Corporation, www.Athomes web.
- Judoamidjojo., M. A.D Abdul, G.S. Endang.1992. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Press. Jakarta
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi Biology and Applications*. John Willey and Sons Ltd, England.
- Kasmidjo, R.B. 1990. *TEMPE : Mikrobiologi dan Kimia Pengolahan serta Pemanfaatannya*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Kiers, J.L., J.C. Meijer, M.J.R. Nout, F.M. Rombouts, M.JA. Nabuurs, and J.V. Meulen. 2003. Effect of Fermented Soya Beans on Diarrhoea and Feed Efficiency in Weaned Piglets. *Journal of Applied Microbiology* 95 : 545–552.
- Kim, S.P., S.O. Park, S.J. Lee, S.H. Nam, and M.A. Friedman. 2014. Polysaccharide Isolated from The Liquid Culture Of *Lentinus edodes* (Shiitake) Mushroom Mycelia Containing Black Rice Bran Protects Mice Against Salmonellosis Through Upregulation Of The Th1 Immune Reaction. *Journal Agriculture Food Chemical*. 62 :2384–2391
- Klis, F. M., Boorsma, A. and DeGroot, P. W. J. 2011. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. 23, 185-202.
- Kusmiati., F. Rachmawati, S. Siregar, S. Nuswantara, dan A. Malik. 2006. Produksi Beta-1,3 glukon dari *Agrobacterium* dan Aktivitas Penyembuhan Luka Terbuka pada Tikus Putih. *MAKARA, SAINS*. 10(1): 24-29
- Kusmiati., Swasono R. Tamat, S. Nuswantara, dan N. Isnaini. 2007. Produksi dan Penetapan Kadar β -glukan dari Tiga Galur *Saccharomyces cerevisiae* dalam

- Media Mengandung Molase. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5 (1): 7-16
- 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., 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.
- 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.
- Kwiatkowski, S., S.E. Kwiatkowski. 2012. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Glucan Polysaccharides – Occurrence, Separation and Application in Food, Feed and Health Industries. InTech.
- Lay, W., Bibiana, dan S. Hastowo. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 61-71.
- Lee, J.N. 2001. Purification of Soluble β -Glucan with Immuno-Enhancing activity from The Cell Wall of Yeast. *Bioschi. Biotechnol. Biochemical* 65: 837-841.
- Lesage, G., H. Bussey. 2006. Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 70(2) :317-343.
- Liu, K. S. 1997. *Soybean : Chemistry, Technology and Utilization*. Chapman and Hall. New York.
- Liou, X.L., Q. Wang, S. W. Cui, and H. Z. Liou. 2009. A new isolation method of β -D-glucans from spent yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Hydrocolloids*, 22, pp. 239-247.
- Lodder J. 1970. *The Yeast: A Taxonomic Study Second Revised and Enlarged Edition*. The Netherland, Northolland Publishing Co. Amsterdam.
- Muchtadi, T.R dan Sugiyono. 2010. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Alfabeta : Bandung.
- Mulia, D.S., Eka, Yulyanti, Heri, Maryanto, Cahyono, dan Purbomartono. 2015. Peningkatan Kualitas Ampas Tahu Sebagai Bahan Baku Pakan Ikan dengan Fermentasi *Rhizopus Oligosporus*. *Jurnal Sainteks*. 12 (1)

- Moore-Landecker, M.E.1996. *Fundamentals of the fungi*. Fourth edition, Prentice-Hall, Inc., New Jersey.
- M, Nuraemon., Romanee, S. Cheunjit, P. Xiao, H. Mc. Landsborough, and L. A, Pawadee. 2013. Influence of additives on *Saccharomyces cerevisiae* - glucan production. *International Food Research Journal*. 20(4): 1953-1959
- Mursyid. 2014. Kandungan Zat Gizi dan Nilai Gizi Protein Tepung Tempe Kedelai Lokal dan Impor serta Aktivitas Antioksidannya. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Naim, M.B., Gestetner, S. Zilkah, Y. Bilk, and A. Bondi. 1974. Soybean isoflavone, characteristic, determination and antifungal activity. *Journal Agriculture Food Chemical*. 22(5): 806-809.
- Nicolasi R. 1999. Plasmalipid Changes After Supplementation with Beta-glucan Fiber from Yeast. *Am Journal Clinic Nutritional*. 70:208212.
- Nout, M. J. R. and J. L. Kiers. 2005. Tempe Fermentation, Innovation and Functionality: Update Into the Third Millennium. *Journal of Applied Microbiology*. 98: 789-805.
- Nout, M.J.R. and F. M. Rombouts. 1990. Recent Developments in Tempe Research. *Journal of Applied Bacteriology*. 69:609-633.
- Nurfajarwati, W. 2006. Produksi β -Glukan dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan Variasi Sumber Nitrogen. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurrahman., M. Astuti, Suparmo, dan Marsetyawan., HNE Soesatyo. 2012. Pertumbuhan Jamur, Sifat Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan Tempe Kedelai Hitam yang Diproduksi Dengan Berbagai Jenis Inokulum. *AGRITECH*. 32(1)
- Pagarra, H. 2009. Laju Pertumbuhan Jamur *Rhizopus sp.* pada Tempe Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L.). *Bionature* .ISSN: 1411-4720. 10 (2): 69 – 74
- Pangastuti dan Triwibowo. 1996. *Proses Pembuatan Tempe Kedelai dengan Analisis Mikrobiologi*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Pawiroharsono, S. 1996. Aspek mikrobiologi tempe. *Dalam: Sapan dan Soetrisno, N. Bunga Rampai Tempe Indonesia*. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta. 169-204.
- Pawiroharsono, S. 1997. *Prospect of Tempe as functional food*. *Dalam: Sudarmadji, S., Suparmo dan Raharjo, S. Reiventing the Hidden Miracle of Tempe, Proceeding International Tempe Symposium, Bali*, hal 101-113. Indonesian Tempe Foundation, Jakarta.

- Pengkumsri, N., B.S. Sivamaruthi, S.Sirilun, S. Peerajan, P. Kesika, K. Chaiyasut, and 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. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.10716>
- Popoola, T. O., A. Kolapo, and O. Afolabi. 2007. Hanges in functional properties as a Measure of Biochemical Deterioration of Stored Soybean Daddawa Condiment. *Journal Acta Science Polytechnic Technologia Alimentaria*. 6(3): 51-59.
- Raditriono. 2012. *Tumbuhan Berbiji*. <https://raditriono.wordpress.com/>. Diakses 15 September 2017.
- Rahayu, K. dan S. Sudarmadji. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Rizal, S., M. E. Kustyawati, Marniza, I. Ramadhani. 2017. Pengaruh Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Sifat Organoleptik Tempe Kedelai. *PROSIDING, Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) : "Peran Ahli Teknologi Pangan dalam Mewujudkan Ketahanan Pangan Nasional"*. Bandar Lampung. 1096-1105
- Roubos-van den Hil PJR. 2010. Bioactive components of fermented soya beans effective against diarrhea-associated bacteria (Tesis). Belanda (NL): Wageningen University.
- Ruiz, H. 1992. *Fungal cell wall structure , shyntetis and assembly*. CRC Press, Barca, Raton. Florida
- Rusmin., Simon, and Swan Djien Ko. 1974. Rice- Grown Rhiopus oligosporus Inoculum for Tempeh Fermentation. *Applied Microbiology* . 28 (3) : 347-350.
- Saija, A. *et al.* 1995. Flavonoids as antioxidant agents : importance of their interaction with biomembranes. *Free Radic. Biol. and Med.* 19(4): 481-486.
- Samson, R.A., V. Kooij, and E. deBoer. 1987. Microbiological Quality of Commercial Tempeh in The Netherlands. *Journal of Food Protection*.50 : 92- 94.
- Sanger. 2004. *Peptidase of Saccharomyces cerevisiae*. [internet] Diakses pada tanggal 6 November 2017. <http://merops.Sanger.ac.Uk/speccards/peptidase/spOO0895.htm>.
- 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.

- Sarwono, B. 2004. *Membuat Tempe dan Oncom*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Schmild, M.K. and T.P. Labuza. 2001. *Essentials of Functional Foods*. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Sefriana, F. 2012. Variasi Nitrogen dan Hidrolisis Enzimatis pada Produksi α -glukan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Medium Onggok Ubi Kayu dan Onggok Umbi Garut. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Seumahu, C., A. Suwanto, Rusmana, and D.D. Solihin. 2013. Bacteria and Fungal Communities In Tempe As Reveal By Amplified Ribosomal Intergenic Sequence Analysis. *Journal Hayati of Bioscience*. 20(2):65-71
- Shokri, H., F. Asadi, and A. R. Khosravi. 2008. Isolation of α -glukan from The Cell Wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Natural Product Research*. 22 (5) : 414-421. DOI : 10.1080/14786410701591622
- Sitompul B. 2003. Antioksidan dan penyakit aterosklerosis. *Medika*. 29 (6) : 373-377.
- Sukardi, W., dan Purwaningsih, I. 2008. Uji Coba Penggunaan Inokulum Tempe dari Kapang *Rhizopus oryzae* dengan Substrat Tepung Beras dan Ubi Kayu pada Unit Produksi Tempe Sanan Kodya Malang. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9(3), 207-215.
- Sugoro dan M.R. Pikoli. 2006. Pertumbuhan Khamir pada Tapioka Iradiasi. *A Scientific Journal for The Applications of Isotopes and Radiation*. 2 (1) : 1907-0322
- Suhendri, T., T. Tandean, C. Haryasyah, M. Octavia, dan K. A. Saputra. 2006. Aplikasi Proses Termal sebagai Solusi Umur Simpan Pendek pada Tempe. *Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan*. IPB. Bogor.
- Suliantari dan W. P. Rahayu. 1990. *Teknologi Fermentasi Biji-bijian dan Umbi-umbian*. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor.
- Somaatmadja. 1985. Peningkatan produksi kedelai melalui perakitan varietas, hal 243-259. Dalam: S. Somaatmadja, M. Ismunadji, Sumarno, M. Syam, S.O. Manurung dan Yuswadi (Eds.). *Kedelai*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor.
- Suprapti, L. 2003. *Pembuatan Tempe*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNESA Pres. Surabaya.
- Syarief, R. 1999. *Wacana Tempe Indonesia*. Universitas Katolik Widya. Mandala Press. Surabaya.
- Tarwotjo, C.S., 1998. *Dasar-Dasar Gizi Kuliner*. Grasindo, Jakarta.
- Thontowi, A., Kusmiati., S. Nuswantara. 2007. Produksi α -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor. *Biodiversitas*. 8 (4):. 253-256
DOI:10.13057/biodiv/d080401
- Triwibowo, R. 2011. Kajian Kimiawi Stakhiosa dan Asam Lemak Esensial pada Tempe Kedelai (*Glycine max*) selama Proses Fermentasi. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Van der Maarel et al. 2002. Properties and Application of Starch-converting Enzymes of The α -amylase Family. *Journal of Biotechnology*. 94 :137–155
- Varelas, V., M. Liouni, A. C. Calokerinos, and E. T. Nerantzis. 2015. An evaluation study of different methods for the production of α -D-glucan from yeast biomass. *Journal of the Institute of Brewing*, doi 10.1002/dta.1833.
- Varelas, V., P. Tataridis, M. Liouni, dan E. T. Nerantzis. 2016. Application of different methods for the extraction of yeast α -glucan.. *e-Journal of Science and Technology (e-JST)*.2 (1) : 75-81
- Wahono ,S.K., E. Damayanti., Vita,T.R., Evi, I., Sadyastuti. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor l.*). *Conference:Proceedings of National Seminar on Chemical Engineering and Processes - Diponegoro University, At Semarang, Indonesia*. 4(1) : 1411-4216
- Wardlaw, G.M. 1999. *Protein*. In Perspectives in nutrition. The McGraw-Hill. San Francisco.
- Wang, H. and P.A. Murphy. 1994. Isoflavone content in commercial soybeans foods. *Journal Agriculture. FoodChem*. 42: 1666-1673.
- Widianarko. 2002. *Tips Pangan ‘Teknologi, Nutrisi, dan Keamanan Pangan’*. Grasindo. Jakarta.
- Widyastuti, N., T. Baruji., R. Giarni., H. Isnawan., P.Wahyudi., dan Donawati. 2011. Analisa Kandungan Beta-Glukan Larut Air dan Larut Alkali dari Tubuh Buah Jamur Tiram(*Pleurotus ostreatus*) dan Shitake (*Lentimus edodes*). *Jurnal Sains dan Teknologi*. 13 (3): 182-191.

- Winanti, R., S.H. Bintari, dan D. Mustikaningtyas. 2014. Studi Observasi Higienitas Produk Tempe Berdasarkan Perbedaan Metode Inokulasi. *Unnes Journal of Life*. 3(1).
- Winarno, F. G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsi, H. 2010. *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wuryanti. 2008. Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*. *Jurnal BIOMA*. 10 (2) : 46-50
- Wood, B.J.B. 1985. Microbiology of Fermented Foods.. *Elsevier Applied Science Publishers*. New York. 2.
- Yiannikouris,A., G, Andre., L, Poughon., J. Francois,C.G. Dussap, G.Jeminet, G. Bertin, and J.P.JOoany. 2006. Chemical and Conformational Study of The Interactions Involved in Mycotoxin complexation With beta-d-Glucans. *Biomacromolecules* 7: 1147-1155.
- Yenti. 2005. Produksi β -glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentor Air Lift dengan Variasi Sumber Karbon. (Skripsi). Universitas Indonesia. Depok
- Zechner-Krpan, V., V. Petravi -Tominac, P. Galovi , V. Galovi , J. Filipovi - Gr i , S. Sre ec, S. 2010. Application of Different Drying Methods on β -Glucan Isolated from Spent Brewer's Yeast Using Alkaline Procedure. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 75 (1) :45-50.