

**KAJIAN PENGGUNAAN TEPUNG TERIGU DAN SUHU RENDAH
PENYIMPANAN TERHADAP MASA SIMPAN DAN SIFAT SENSORI
TEMPE KEDELAI PROBIOTIK DENGAN *Lactobacillus casei***

(Skripsi)

Oleh

RAISA AMALIA



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

STUDY OF UTILIZATION OF WHEAT FLOUR AND LOW TEMPERATURE STORAGE TO SHELF LIFE AND SENSORY PROPERTIES OF PROBIOTIC SOY TEMPEH WITH *Lactobacillus casei*

By

RAISA AMALIA

The aimed of the research were to determine the effect of wheat flour concentration, low temperature storage, and to get interaction between wheat flour concentration and low temperature storage which can extend the shelf life and maintain the sensory properties of probiotic soy tempeh. This study used a Complete Randomized Block Design (CRBD) with two factors and three replications. The first factor was concentration of wheat flour which consists of 5 levels (0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, and 0,8%) (w/v). The second factor was low temperature storage which consists of 3 levels (5°C, 10°C, dan 15°C). The data obtained were analyzed descriptively for determining of shelf life, while the data of sensory attribute (color, aroma, texture, and overall acceptance), were analyzed using Barlett for homogeneity and Tuckey tests for additivity, then data was further analyzed by using orthogonal polynomials (OP) on the significant level of 5% and 1%. The result showed that the shelf life of probiotic soy tempeh between

12,33-17,33 days. The results of OP test showed that wheat flour and low temperature storage were significant of increased color and texture score with quadratic and linear trend, but were significant of lowered aroma score with linear trend and overall acceptance with quadratic and linear trend. The best probiotic soy tempeh was with addition of 0,6% wheat flour and 5°C low temperature storage which has 17,33 days of shelf life, color score 3,72 (bright white), aroma score 2,78 (rather smell tempeh and rather sour), texture score 4,12 (compact and dense), overall acceptance 3,41 (rather like), and total lactic bacteria between 9,04 log CFU/g to 9,13 log CFU/g.

Keywords: *probiotic soy tempeh, wheat flour, low storage temperature, shelf life, Lactobacillus casei*

ABSTRAK

KAJIAN PENGGUNAAN TEPUNG TERIGU DAN SUHU RENDAH PENYIMPANAN TERHADAP MASA SIMPAN DAN SIFAT SENSORI TEMPE KEDELAI PROBIOTIK DENGAN *Lactobacillus casei*

Oleh

RAISA AMALIA

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi tepung terigu, suhu rendah penyimpanan, serta mendapatkan interaksi antara konsentrasi tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan yang dapat memperpanjang umur simpan dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan dua faktor dan tiga ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi tepung terigu (T) yang terdiri dari 5 taraf (0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, dan 0,8% (b/v)). Faktor kedua adalah suhu rendah penyimpanan (S), yang terdiri dari 3 taraf (5°C, 10°C, dan 15°C). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk parameter penentuan masa simpan, sedangkan data parameter sifat sensori (warna, aroma, tekstur, dan penerimaan keseluruhan) diuji kesamaan ragamnya dengan uji Barlett, kemenambahan data dengan uji Tuckey, dan uji lanjut dengan uji polinomial ortogonal (OP) pada taraf 5% dan 1%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

tempe kedelai probiotik perlakuan memiliki masa simpan berkisar antara 12,33-17,33 hari. Hasil uji lanjut OP menunjukkan bahwa tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan berpengaruh nyata secara kuadratik dan linier meningkatkan skor warna dan tekstur, tetapi berpengaruh nyata secara linier menurunkan skor aroma dan berpengaruh nyata secara linier dan kuadratik menurunkan penerimaan keseluruhan. Tempe kedelai probiotik terbaik adalah dengan penambahan tepung terigu 0,6% dan suhu rendah penyimpanan 5°C yang menghasilkan masa simpan 17,33 hari, skor warna sebesar 3,72 (putih cerah), skor aroma sebesar 2,78 (agak khas tempe dan agak asam), skor tekstur sebesar 4,12 (kompak dan padat), skor sebesar penerimaan keseluruhan 3,41 (agak suka), dan total bakteri asam laktat berkisar antara 9,04 log CFU/g hingga 9,13 log CFU/g.

Kata kunci: tempe kedelai probiotik, tepung terigu, suhu rendah penyimpanan, masa simpan, *Lactobacillus casei*

**KAJIAN PENGGUNAAN TEPUNG TERIGU DAN SUHU RENDAH
PENYIMPANAN TERHADAP MASA SIMPAN DAN SIFAT SENSORI
TEMPE KEDELAI PROBIOTIK DENGAN *Lactobacillus casei***

Oleh

RAISA AMALIA

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 PENGGUNAAN TEPUNG TERIGU
DAN SUHU RENDAH PENYIMPANAN
TERHADAP MASA SIMPAN DAN SIFAT
SENSORI TEMPE KEDELAI PROBIOTIK
DENGAN *Lactobacillus casei***

Nama Mahasiswa : Raisa Amalia

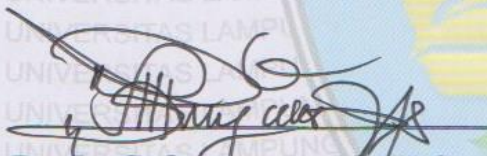
Nomor Pokok Mahasiswa : 1414051078


Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian

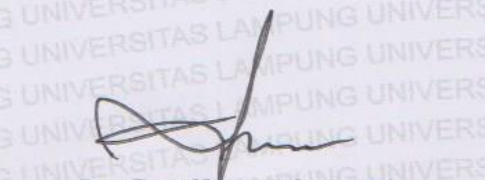
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Dr. Ir. Suharyono, AS, M.S.
NIP 19590530 198603 1 004


Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si.
NIP 19670624 199303 2 002

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

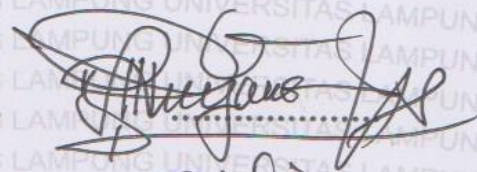

Ir. Susilawati, M.Si.
NIP 19610806 198702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

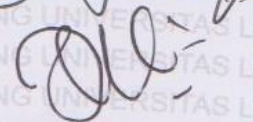
Ketua

: Dr. Ir. Suharyono A.S., M.S.



Sekretaris

: Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing : Ir. Samsul Rizal, M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



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

NIP 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 15 Agustus 2018

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Raisa Amalia

NPM : 1414051078

dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil dari plagiat karya orang lain.

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

Bandar Lampung, Agustus 2018
Pembuat pernyataan



Raisa Amalia
NPM. 1414051078

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Metro pada tanggal 20 Januari 1996, sebagai anak tunggal dari pasangan Bapak Muslihin, S.E. dan Ibu Rofiko. Pada tahun 2000, penulis menyelesaikan pendidikan taman kanak-kanak di Raudlatul Athfal Perwanida, kemudian melanjutkan pendidikan dasar di SD Negeri 1 Metro Pusat dan lulus pada tahun 2008. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah di SMP Negeri 1 Metro, kemudian pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan ke SMA Negeri 1 Metro dan lulus tahun 2014. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2014 melalui jalur tes tertulis Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Pada bulan Januari-Februari 2017, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Bumirahayu, Kecamatan Bumi Ratu Nuban, Kabupaten Lampung Tengah dengan tema “Pemberdayaan Kampung Berbasis Informasi dan Teknologi”. Pada bulan Juli-Agustus 2017, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Nusantara Tropical Farm, Labuhan Ratu, Lampung Timur, dan menyelesaikan laporan PU yang berjudul “Mempelajari Sistem Pengendalian Mutu Produksi Pisang Cavendish Pada *Packing House* di PT Nusantara Tropical Farm Lampung Timur”.

Selama menjadi mahasiswa, penulis bergabung dalam Forum Ilmiah Mahasiswa Fakultas Pertanian sebagai Tutor Jurusan Teknologi Hasil Pertanian pada tahun 2015. Penulis pernah menjadi Asisten Dosen mata kuliah Mikrobiologi Umum (Angkatan 2017) tahun ajaran 2017/2018.

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, bimbingan, dan dorongan baik itu langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ibu Ir. Susilawati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Ir. Suharyono, AS, M.S., selaku dosen pembimbing pertama dan dosen pembimbing akademik yang telah banyak memberikan pengarahan, bimbingan, saran, kritik, nasihat, dan motivasi selama pelaksanaan perkuliahan dan penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si., selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan banyak bantuan, bimbingan, motivasi, pengarahan, saran, nasihat dan kritikan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku pembahas yang telah memberikan bantuan, saran, kritik, dan masukan yang membangun untuk penulisan skripsi ini.

6. Kedua orang tuaku tercinta Papa dan Mama, Mbah Akung, serta keluarga besarku yang telah banyak memberikan kasih sayang, dukungan moral, spiritual, material, motivasi, dan do'a yang selalu menyertai penulis selama ini.
7. Segenap Bapak dan Ibu dosen serta staf administrasi dan laboratorium yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan, wawasan, dan bantuan kepada penulis selama menjadi mahasiswa di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
8. Keluarga THP angkatan 2014 dan sahabat-sahabat terbaikku serta teman-teman seperjuangan saat penelitian, terima kasih atas segala bantuan, semangat, dukungan, dan kebersamaannya selama ini.
9. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis sangat menyadari skripsi ini jauh dari kata sempurna, oleh sebab itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga Allah SWT membalas kebaikan bagi pihak-pihak tersebut dan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan bagi pembaca.

Bandar Lampung, Agustus 2018
Penulis

Raisa Amalia

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan	5
1.3. Kerangka Pemikiran.....	5
1.4. Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Kedelai	8
2.2. Tempe	9
2.3. Proses Pembuatan Tempe	12
2.4. Kerusakan pada Tempe	15
2.5. Probiotik	16
2.6. Bakteri Asam Laktat	18
2.7. <i>Lactobacillus casei</i>	20
2.8. Tepung Terigu	21
2.9. Mekanisme Tepung Terigu Sebagai Substrat <i>Lactobacillus casei</i>	23
2.10. Penyimpanan Tempe pada Suhu Rendah	25
III. BAHAN DAN METODE	27
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.2. Bahan dan Alat	27
3.3. Metode Penelitian	28
3.4. Pelaksanaan Penelitian	30
3.4.1. Penelitian Pendahuluan	30
3.4.2. Penelitian Utama	32
a. Pembuatan Starter <i>Lactobacillus casei</i>	32
b. Pembuatan Tempe Kedelai Probiotik	32
3.5. Pengamatan	35
3.5.1. Penentuan Masa Simpan Tempe Kedelai Probiotik	35
3.5.2. Uji Sensori	36
3.5.3. Analisis Proksimat	38
a. Kadar Air	38

b. Kadar Abu	38
c. Kadar Lemak	39
d. Kadar Protein	40
e. Kadar Karbohidrat	41
3.5.4. Analisis pH	42
3.5.5. Analisis Total Bakteri Asam Laktat (BAL)	42
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	44
4.1. Penelitian Pendahuluan	44
4.2. Penelitian Utama	48
4.2.1. Penentuan Masa Simpan Tempe Kedelai Probiotik	48
4.2.2. Uji Sensori	53
4.2.2.1. Warna	54
4.2.2.2. Aroma	56
4.2.2.3. Tekstur	58
4.2.2.4. Penerimaan Keseluruhan	61
4.2.2.5. Pemilihan Perlakuan Terbaik	62
4.2.3. Tempe Kedelai Probiotik Perlakuan Terbaik	64
4.2.3.1. Kadar Proksimat Tempe Kedelai Probiotik Perlakuan Terbaik	64
4.2.3.2. pH Tempe Kedelai Probiotik Perlakuan Terbaik	68
4.2.3.3. Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Tempe Kedelai Probiotik Perlakuan Terbaik	71
V. KESIMPULAN DAN SARAN	75
5.1. Kesimpulan	75
5.2. Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	77

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan gizi tempe	11
2. Standar mutu tempe kedelai (SNI 1344:3015).....	11
3. Kandungan nutrisi tepung terigu	23
4. Ciri-ciri fisik tempe kedelai kontrol pada penyimpanan suhu ruang dan suhu 5°C	45
5. Hasil uji pH tempe kedelai (kontrol)	47
6. Rekapitulasi hasil pengamatan pada seluruh perlakuan tempe kedelai probiotik.....	63
7. Perbandingan hasil analisis proksimat tempe kontrol dan tempe perlakuan terbaik	65
8. Hasil pengamatan uji pH tempe kedelai perlakuan terbaik	69
9. Perbandingan total bakteri asam laktat (BAL) tempe kontrol dan tempe kedelai probiotik perlakuan terbaik	72
10. Hasil pengamatan masa simpan tempe kedelai probiotik perlakuan	88
11. Hasil pengamatan skor warna tempe kedelai probiotik perlakuan	88
12. Uji Bartlett skor warna tempe kedelai probiotik	89
13. Hasil analisis ragam skor warna tempe kedelai probiotik	90
14. Uji polinomial ortogonal skor warna tempe kedelai probiotik	91
15. Hasil pengamatan skor aroma tempe kedelai probiotik perlakuan	92
16. Uji Bartlett skor aroma tempe kedelai probiotik	93
17. Hasil analisis ragam skor aroma tempe kedelai probiotik	94

18. Uji polinomial ortogonal skor aroma tempe kedelai probiotik	95
19. Hasil pengamatan skor tekstur tempe kedelai probiotik perlakuan	96
20. Uji Bartlett skor tekstur tempe kedelai probiotik	97
21. Hasil analisis ragam skor tekstur tempe kedelai probiotik	98
22. Uji polinomial ortogonal skor tekstur tempe kedelai probiotik	99
23. Hasil pengamatan skor penerimaan keseluruhan tempe kedelai probiotik perlakuan	100
24. Uji Bartlett skor penerimaan keseluruhan tempe kedelai probiotik	101
25. Hasil analisis ragam skor penerimaan keseluruhan tempe kedelai probiotik	102
26. Uji polinomial ortogonal skor penerimaan keseluruhan tempe kedelai probiotik	103

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kedelai	8
2. Tempe kedelai	10
3. Diagram alir pembuatan tempe kedelai	14
4. Tempe yang sudah rusak	15
5. <i>Lactobacillus casei</i>	20
6. Tepung terigu	22
7. Mekanisme pembentukan asam laktat oleh bakteri asam laktat amilolitik pada substrat pati	24
8. Diagram alir pembuatan tempe kedelai	31
9. Diagram alir pembuatan kultur <i>Lactobacillus casei</i>	32
10. Diagram alir pembuatan tempe kedelai probiotik	34
11. Lembar kuesioner uji skoring dan hedonik	37
12. Pengaruh penambahan terigu dan suhu rendah penyimpanan terhadap masa simpan pada tempe kedelai probiotik	49
13. Hubungan antara konsentrasi tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan terhadap skor warna tempe kedelai probiotik	54
14. Hubungan antara konsentrasi tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan terhadap skor aroma tempe kedelai probiotik	57
15. Hubungan antara konsentrasi tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan terhadap skor tekstur tempe kedelai probiotik	59

16. Hubungan antara konsentrasi tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan terhadap skor penerimaan keseluruhan tempe kedelai probiotik	61
17. Proses pembuatan tempe kedelai probiotik dengan penambahan kultur <i>Lactobacillus casei</i> dan tepung terigu	104
18. Pengujian sensori tempe kedelai probiotik	105
19. Analisis tempe kedelai probiotik perlakuan terbaik	105

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara produsen tempe terbesar di dunia dan menjadi pasar kedelai terbesar di Asia. Berdasarkan data SUSENAS tahun 2014 yang dirilis oleh BPS, konsumsi tempe di Indonesia sebesar 6,95 Kg/orang/tahun (Riniarsi, 2015). Tempe merupakan produk pangan tradisional Indonesia berbahan dasar kacang kedelai (*Glycine max*) yang diolah melalui proses fermentasi oleh kapang. Kapang yang tumbuh pada kedelai dapat menghidrolisis karbohidrat, protein, dan lemak menjadi bentuk lebih sederhana sehingga tempe lebih mudah dicerna oleh tubuh, mendegradasi zat antigizi, menghasilkan aroma dan citarasa spesifik tempe (Susanto dan Saneto, 1994). Secara umum tempe berwarna putih karena pertumbuhan miselia kapang yang merekatkan biji kedelai sehingga terbentuk tekstur yang memadat (Haryoko dan Kurnianto, 2006). Menurut Kemala (2006), selama fermentasi kapang pada tempe menghasilkan enzim protease yang menghidrolisis ikatan peptida pada protein dan senyawa peptida lainnya menjadi asam amino bebas. Degradasi komponen kedelai oleh kapang selama fermentasi menyebabkan timbulnya flavor tempe yang khas disertai perubahan pH.

Tempe memiliki kendala dalam pemanfaatannya, yaitu pada masa simpannya yang pendek dan memiliki sifat mudah rusak (*perishable*). Tempe segar yang

disimpan pada suhu ruang hanya dapat bertahan dua hari, sedangkan penyimpanan suhu rendah dapat bertahan satu minggu (Widowati *et al.*, 2004). Proses fermentasi pada pembuatan tempe berkisar antara 36–48 jam. Proses fermentasi tempe yang terlalu lama menyebabkan kenaikan jumlah bakteri dan asam lemak bebas, menurunnya pertumbuhan jamur, serta terjadi degradasi protein lanjut sehingga terbentuk amonia yang menimbulkan aroma busuk. Perubahan-perubahan yang terjadi ini memungkinkan mikroorganisme pembusuk untuk tumbuh sehingga daya simpan tempe menjadi terbatas (Winarno *et al.*, 1992).

Tempe kedelai probiotik merupakan tempe kedelai yang mengandung mikroorganisme probiotik berupa bakteri asam laktat (BAL), salah satunya adalah *Lactobacillus casei*. Probiotik didefinisikan sebagai suplementasi makanan dengan menggunakan mikroba hidup yang mempunyai pengaruh menguntungkan terhadap kesehatan organisme inangnya dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal (Soegijanto dan Soegeng, 2002). Bakteri yang digolongkan sebagai probiotik yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat terutama dari spesies *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, dan beberapa jenis bakteri lain. Menurut Emilia (2015), bakteri asam laktat yang terdapat di awal fermentasi tempe merupakan bakteri yang secara alami tumbuh selama perendaman dan bertahan setelah penyiraman air panas. *Lactobaacillus casei* yang ditambahkan pada tempe berpotensi sebagai probiotik. Pentingnya peranan BAL menyebabkan beberapa produsen tempe menambahkan kedelai dengan BAL pada saat perendaman untuk meningkatkan komposisi mikroba produk akhir (Nout and Kiers, 2005). Penggunaan mikroorganisme yang telah diisolasi dan dikarakterisasi dapat

menjaga proses fermentasi terkontrol, sehingga produk yang dihasilkan lebih stabil dan sesuai dengan karakteristik yang diinginkan. Tujuan lain penggunaan starter inokulum untuk meningkatkan rasa, aroma, aktivitas proteolitik, aktivitas lipolitik, dan penghambatan mikroba yang tidak diinginkan (Giraffa, 2004).

Keberadaan *Lactobacillus casei* dalam fermentasi tempe akan menghasilkan asam laktat yang berfungsi untuk mempertahankan nilai pH tempe dan bersifat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk maupun patogen, sehingga diharapkan mampu memperbaiki masa simpan dan keamanan tempe. Pertumbuhan bakteri asam laktat pada tempe berkaitan dengan pemanfaatan substrat yang terdapat pada kedelai. Bakteri asam laktat dapat memfermentasi oligosakarida yang terkandung dalam kedelai. Menurut Wang *et al.* (2007), oligosakarida utama pada kedelai adalah rafinosa dan stakiosa. Menurut Van den Hil and Nout (2011), bakteri asam laktat dapat terus tumbuh pada tempe mencapai 9 log CFU/g. Penambahan tepung terigu pada proses pembuatan tempe kedelai probiotik berfungsi sebagai media pertumbuhan *Lactobacillus casei*. Tepung terigu memiliki kandungan pati sebesar 65-70% dengan kadar amilosa sekitar 25% dan amilopektin 75% (Risti, 2013). Kandungan karbohidrat dan protein pada tepung terigu diharapkan mampu menyediakan nutrisi bagi pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan meningkatkan jumlahnya pada tempe kedelai probiotik.

Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk memperpanjang masa simpan tempe dengan memanfaatkan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dengan media tepung beras menghasilkan masa simpan

maksimal tempe pada suhu ruang maksimal 4 hari dan memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan pH dan peningkatan kadar air seiring meningkatnya konsentrasi *Lactobacillus plantarum* dan lama penyimpanan (Suharyono, 2008). Menurut Aptesia *et al.* (2013), bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* dengan media tepung tapioka menghasilkan masa simpan maksimal tempe hingga 9 hari pada suhu ruang. Bakteri asam laktat *Lactobacillus acidophilus* dengan media tepung sagu menghasilkan tempe yang memiliki masa simpan maksimal 112 jam (5 hari) pada suhu ruang (Hamzah *et al.*, 2014).

Upaya lain yang dapat dilakukan untuk memperpanjang umur simpan tempe adalah penyimpanan pada suhu rendah sehingga bakteri pembusuk menjadi tidak aktif. Suhu *refrigerator* mempunyai efek dalam penurunan reaksi kimia, mikrobiologi, dan biokimia yang berhubungan dengan proses pembusukan. *Refrigerator* komersial dan rumah tangga umumnya dioperasikan pada suhu 5–10°C, sehingga reaksi kimia pada bahan pangan dapat diperlambat. Penggunaan suhu rendah pada penyimpanan tempe belum diteliti, sehingga dengan mengkombinasikan penggunaan tepung terigu, suhu rendah penyimpanan tempe, dan *Lactobacillus casei* 2% (mengacu pada penelitian Aptesia *et al.*, 2013) dengan media tepung terigu, perlakuan tersebut diharapkan dapat memperpanjang masa simpan tempe lebih lama, dan penerapannya pada industri tempe dapat mengurangi kerugian serta menambah *profit* bagi industri tempe.

1.2. Tujuan

Tujuan penelitian adalah:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi media tepung terigu sebagai substrat *Lactobacillus casei* dalam proses fermentasi untuk memperpanjang masa simpan dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik.
2. Mengetahui pengaruh suhu rendah penyimpanan tempe kedelai probiotik untuk memperpanjang masa simpan dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik.
3. Mengetahui interaksi antara konsentrasi media tepung terigu sebagai substrat *Lactobacillus casei* dan suhu rendah penyimpanan yang dapat memperpanjang masa simpan dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik.

1.3. Kerangka Pemikiran

Kandungan pati dalam bentuk amilosa pada tepung terigu diduga dapat dimanfaatkan oleh kapang *Rhizopus oligosporus* pada tempe dan bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* sebagai nutrisi untuk pertumbuhan. *Lactobacillus casei* akan memecah amilosa menjadi senyawa glukosa dan melalui fermentasi menghasilkan asam laktat yang bersifat biopreservatif. Penggunaan tepung terigu sebagai substrat *Lactobacillus casei* pada tempe belum diteliti. Konsentrasi media tepung terigu yang digunakan adalah 0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% dan 0,8%. Pemilihan konsentrasi tepung terigu berdasarkan hasil terbaik pada penelitian sebelumnya, bahwa penggunaan *Lactobacillus casei* 2% dan media tepung tapioka 0,8% diperoleh masa simpan maksimal tempe 9 hari dan memiliki sifat sensori terbaik

(Aptesia *et al.*, 2013). Menurut Hamzah *et al.* (2014), masa simpan maksimal tempe 112 jam (5 hari) dan sifat sensori terbaik diperoleh pada perlakuan *Lactobacillus acidophilus* 1,5% dan media tepung sagu 0,4%. Tepung tapioka memiliki karbohidrat dan protein sebesar 86,9% dan 0,5%, sedangkan kadar karbohidrat pada tepung terigu adalah 77,3% dan kadar protein 8,9% (Rakhmawati *et al.*, 2014). Suplementasi tepung terigu pada konsentrasi tinggi meningkatkan ketersediaan sumber karbon dan nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri probiotik (Shah, 2001).

Penyimpanan tempe kedelai probiotik pada suhu rendah (5°C, 10°C, dan 15°C) diduga dapat menghambat kerusakan fisik, kimia maupun mikrobiologi.

Berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa penyimpanan tempe kedelai dengan campuran bahan pada suhu ruang hanya mampu bertahan selama 1 hari (Nugraha, 2007). Menurut Rochim (2014), tempe bacem yang dikemas dalam kemasan non-vakum memiliki umur simpan 2 hari pada penyimpanan suhu ruang (26°C–30°C) dan 6 hari pada suhu 10°C. Pendugaan umur simpan tempe kedelai pada suhu 15°C menggunakan metode Arrhenius adalah selama 5 hari (Weliana, 2015).

Interaksi antara konsentrasi media tepung terigu yang ditambahkan pada saat proses pembuatan tempe kedelai probiotik dan suhu rendah penyimpanan tempe kedelai probiotik diduga memberikan pengaruh terhadap sifat sensori (warna, aroma, dan tekstur) tempe kedelai probiotik.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian:

1. Terdapat konsentrasi media tepung terigu terbaik sebagai substrat bagi pertumbuhan *Lactobacillus casei* dalam proses fermentasi untuk memperpanjang masa simpan tempe dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik.
2. Terdapat suhu rendah penyimpanan terbaik tempe kedelai probiotik untuk memperpanjang masa simpan dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik.
3. Terdapat interaksi antara konsentrasi media tepung terigu sebagai substrat *Lactobacillus casei* dan suhu rendah penyimpanan terhadap masa simpan dan sifat sensori tempe kedelai probiotik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kedelai

Kedelai merupakan bahan pangan yang sangat populer di kalangan masyarakat. Hampir setiap hari masyarakat mengonsumsi makanan olahan dari kedelai seperti tempe, tahu, tauge atau kecambah, dan lain-lain. Kedelai merupakan sumber protein yang murah sehingga sebagian besar kebutuhan protein nabati dapat dipenuhi dari hasil olahan kedelai. Kedelai mengandung protein yang tinggi dan juga zat gizi lainnya yang lengkap (Cahyadi, 2007). Saat ini rata-rata kebutuhan kedelai $\pm 2.250.000$ ton/tahun. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut, produksi dalam negeri pada tahun 2013 baru mampu memenuhi $\pm 779,99$ ribu ton ($\pm 34,67$ %) dari kebutuhan, sedangkan kekurangannya berasal dari impor (BPS, 2014).



Gambar 1. Kedelai (Startfm, 2015)

Kedelai kuning impor banyak digunakan sebagai bahan baku utama dalam tempe. Varietas kedelai unggul yang ditanam di Indonesia juga dapat digunakan untuk

pembuatan tempe, tetapi masyarakat lebih banyak menggunakannya untuk pembuatan tahu. Kedelai impor yang banyak beredar di Indonesia berasal dari China, Amerika dan Thailand. Umumnya kedelai impor memiliki ukuran biji yang besar serta seragam dan kadar air yang relatif kecil (Krisdiana *et al.*, 2000). Komposisi gizi kedelai bervariasi tergantung varietas yang dikembangkan dan juga warna kulit maupun kotiledonnya. Kandungan protein dalam kedelai kuning bervariasi antara 31-48% sedangkan kandungan lemaknya bervariasi antara 11-21%. Minyak kedelai kasar umumnya mengandung 96% trigliserida, 2% fosfolipida, 0,5% asam lemak bebas, 1,6% senyawa tak tersabunkan dan sejumlah kecil pigmen karotenoid. Kedelai mengandung vitamin yang larut lemak antara lain vitamin A, D, E, K dan juga vitamin yang larut air yaitu vitamin B. Komponen lain yang dimiliki kedelai adalah senyawa isoflavon yang diketahui dapat mencegah penyakit kanker (Liu, 1997).

2.2. Tempe

Tempe adalah makanan dari kacang-kacangan yang dibuat dari proses fermentasi kedelai menggunakan kapang *Rhizopus* (ragi tempe). Tempe dapat didefinisikan sebagai produk makanan hasil fermentasi biji kedelai oleh kapang tertentu, berbentuk padatan kompak dan berbau khas serta berwarna putih atau sedikit keabu-abuan. Proses fermentasi menyebabkan kedelai terikat dan tertutup seluruhnya menjadi bentuk yang kompak berwarna putih (Buckle *et al.*, 2009). Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia yang dikonsumsi oleh semua lapisan masyarakat, dan mengandung komponen-komponen gizi tinggi, seperti protein dan vitamin B, bahkan tempe diketahui mengandung senyawa antioksidan

(Kasmidjo, 1990). Tempe mengandung protein yang tinggi dan lengkap terutama delapan macam asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh. Protein yang terkandung dalam tempe sebesar 56%-nya dapat langsung dimanfaatkan oleh manusia.



Gambar 2. Tempe kedelai (Tempebung, 2016)

Pengolahan kedelai menjadi tempe dapat mengubah sifat fisik dan kimia kedelai dan membuat kandungan gizi pada tempe lebih baik dibandingkan dengan kedelai. Menurut Rukmi *et al.* (2012), fermentasi pada kedelai oleh mikroba dapat memperbaiki nilai cerna dari protein dan karbohidrat. Selama fermentasi kedelai, spora-spora kapang pada tempe mampu menghasilkan enzim-enzim seperti proteolitik, lipolitik, dan hidrolitik yang dapat menguraikan substratnya menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna (Andayani *et al.*, 2008). Menurut Nout dan Kiers (2005), selama proses fermentasi tempe kadar protein dalam kedelai relatif tidak banyak berubah tetapi jumlah nitrogen yang larut meningkat 0,5-2,5%, dan jumlah asam amino bebas meningkat 1-85 kali dari kedelai yang tidak difermentasikan setelah 48 jam. Kadar vitamin B₁₂ pada tempe juga sangat tinggi sehingga tempe menjadi salah satu sumber vitamin yang potensial dari bahan pangan nabati. Kandungan gizi pada tempe (per 100 g) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan gizi tempe

Kandungan gizi	Jumlah
Kalori (kal)	149,00
Protein (g)	18,30
Lemak (g)	4,00
Karbohidrat (g)	12,70
Kalsium (mg)	129,00
Besi (mg)	10,00
Vitamin A (SI)	50,00
Vitamin B (mg)	0,17

Sumber: Mahmud *et al.* (2005)

Standar mutu tempe di Indonesia mengacu pada SNI 1344:2015 dapat dilihat pada

Tabel 2.

Tabel 2. Standar mutu tempe kedelai (SNI 1344:2015)

Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1. Keadaan		
1.1 Tekstur	-	Kompak, jika diris tetap utuh
1.2 Warna	-	Putih merata pada seluruh permukaan
1.3 Bau	-	Khas tempe tanpa adanya bau amoniak
2. Kadar Air (b/b)	%	Maks. 65
3. Kadar Lemak (b/b)	%	Min. 7
4. Kadar Protein (N x 6,25)	%	Min. 15
5. Kadar Serat Kasar (b/b)	%	Maks. 2,5
6. Cemarkan Logam		
6.1 Kadmium	mg/kg	Maks. 0,2
6.2 Timbal	mg/kg	Maks. 0,25
6.3 Timah	mg/kg	Maks. 40
6.4 Merkuri	mg/kg	Maks. 0,03
7. Cemarkan Arsen	mg/kg	Maks. 0,25
8. Cemarkan Mikroba		
8.1 Bakteri coliform	APM/g	Maks. 10
8.2 <i>Salmonella sp.</i>	-	Negatif/25 g

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2015)

Karakteristik dan mutu tempe kedelai dipengaruhi oleh teknologi proses, jenis kedelai, dan mikroorganisme yang digunakan. Ketiga faktor tersebut bersama-sama menentukan karakteristik mutu fisik, sensori, dan kimiawi. Tempe yang

bermutu tinggi berwarna putih, belum terbentuk spora kapang (berwarna abu-abu kehitaman), dan tidak beraroma amonia. Tempe yang baik permukaannya ditutupi oleh miselium kapang secara merata, kompak, dan berwarna putih (Warisno dan Kres, 2010).

Metode Angka Paling Mungkin (APM) disebut sebagai metode *Most Probable Number* (MPN). Prinsip metode MPN adalah perhitungan mikroorganisme berdasarkan data kualitatif hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik dalam seri tabung untuk memperoleh kisaran data kuantitatif jumlah mikroorganisme tersebut (MPN/ml (g)). Prinsip utama metode ini adalah mengencerkan sampel sampai tingkat tertentu sehingga didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai dan jika ditanam dalam tabung menghasilkan frekuensi pertumbuhan tabung positif. Semakin besar jumlah sampel yang dimasukkan (semakin rendah pengenceran), semakin sering tabung positif yang muncul. Semua tabung positif yang dihasilkan tergantung dengan probabilitas sel yang terambil saat memasukkannya ke dalam media (Gronewold *et al.*, 2008).

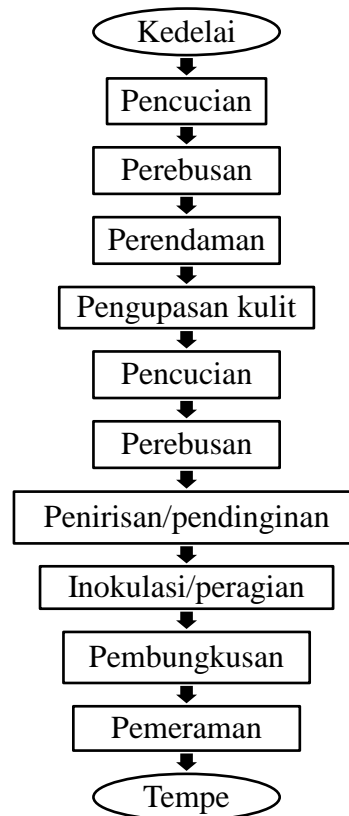
2.3. Proses Pembuatan Tempe

Menurut Sayuti (2015), secara umum proses pembuatan tempe terdiri dari proses sortasi dan pencucian, perebusan pertama, pengupasan kulit, perendaman, perebusan kedua, penirisan, penambahan inokulum (peragian), pembungkusan, dan pemeraman. Proses sortasi dan pencucian bertujuan untuk membuang kotoran yang menempel serta membuang kedelai yang tidak ada isinya dan mengambang dalam proses pencucian. Proses perebusan pertama dilakukan untuk memudahkan

dalam melepaskan kulit yang menempel pada biji kedelai. Proses perendaman bertujuan untuk memberikan kesempatan bagi bakteri asam laktat untuk tumbuh sehingga pertumbuhan bakteri kontaminan menjadi terhambat. Proses perebusan kedua bertujuan untuk membunuh bakteri-bakteri kontaminan, menonaktifkan senyawa tripsin inhibitor, dan membantu pelepasan senyawa-senyawa dalam biji yang diperlukan untuk pertumbuhan jamur (Satiawan, 2011). Menurut Satiawan (2011), proses penirisan bertujuan untuk mengurangi kadar air dan menurunkan suhu biji kedelai hingga sesuai dengan suhu pertumbuhan kapang tempe.

Pemberian inokulum berupa mikroorganisme yang umum digunakan pada proses pembuatan tempe antara lain *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, dan *Rhizopus stolonifer*, sehingga terjadi proses fermentasi yang mengubah komponen-komponen dalam biji kedelai. Kapang *Rhizopus* menghasilkan senyawa antibiotika dan menghasilkan karbondioksida sehingga menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan pada tempe.

Menurut Sukardi *et al.*, (2008), tiga faktor penting dalam proses pembuatan tempe yaitu bahan baku (kedelai), mikroorganisme (kapang tempe), dan lingkungan (suhu, pH, dan kelembaban). Suhu yang cocok untuk proses inokulasi tempe berkisar 25-37°C dengan kelembaban antara 90-95%. Suhu kedelai maksimal pada saat proses inokulasi adalah 37-43°C dengan nilai pH 4,8-5,0. Suhu yang optimal pada saat inokulasi tempe yaitu 31°C dengan kelembaban 70-80%. Waktu inkubasi rata-rata pembuatan tempe yaitu 36-48 jam pada suhu 31°C, 21 jam pada suhu 37°C, dan 44-52 jam pada suhu 25°C (Sayuti, 2015). Diagram alir proses pembuatan tempe menurut Astawan (1991) dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan tempe kedelai (Astawan, 1991)

Karakteristik dan mutu tempe kedelai dipengaruhi oleh teknologi prosesnya, jenis kedelai, dan mikroorganisme yang digunakan. Ketiga faktor tersebut bersama-sama menentukan karakteristik mutu fisik, organoleptik, dan kimiawi. Tempe bermutu tinggi berwarna putih, belum terbentuk spora kapang (berwarna abu-abu kehitaman), dan tidak beraroma amonia. Tempe yang baik permukaannya ditutupi oleh miselium kapang secara merata, kompak, dan berwarna putih (Warisno dan Kres, 2010). Mutu tempe yang kurang baik disebabkan oleh pertumbuhan kapang pada tempe, seperti oksigen, suhu, dan derajat keasaman. Oksigen yang berlebihan menyebabkan metabolisme yang berlebihan dan peningkatan suhu sehingga kapang tidak dapat tumbuh. Kondisi yang kurang asam juga menyebabkan kegagalan dalam proses pembuatan tempe (Sayuti, 2015).

2.4. Kerusakan pada Tempe

Tempe tergolong sebagai bahan pangan yang memiliki daya simpan yang rendah dan bersifat mudah rusak. Proses fermentasi yang terlalu lama menyebabkan terbentuknya amonia dan perubahan nilai pH serta menyebabkan tempe ditumbuhi spora kapang yang berwarna abu-abu atau hitam. Ciri-ciri tempe yang sudah tidak layak dikonsumsi yaitu berwarna kehitaman, basah, berlendir, dan berbau amonia (Cahyadi, 2007).



Gambar 4. Tempe yang sudah rusak (Stegman, 2014)

Amonia akan terbentuk lebih cepat apabila tempe disimpan pada suhu ruang. Produksi amonia akan berkorelasi positif dengan meningkatnya pH. Peningkatan pH yang disebabkan aktivitas enzim dalam tempe dapat menyebabkan bau busuk. Selain amonia, bakteri kontaminan pada tempe dapat terus tumbuh. Enzim proteolitik yang dihasilkan bakteri kontaminan dapat mendegradasi atau menguraikan protein menjadi peptida atau asam amino secara anaerobik, kemudian diuraikan kembali oleh enzim deaminase menjadi senyawa-senyawa berbau busuk seperti NH_3 , H_2S , metil sulfida dan senyawa berbau busuk lainnya yang merupakan sumber kerusakan utama pada tempe (Kemala, 2006). Semakin lama waktu fermentasi maka mutu tempe yang dihasilkan akan semakin menurun, namun selama tidak timbul bau amonia tempe tetap layak dikonsumsi. Apabila

tempe menjadi basah dan berlendir dengan warna kecoklatan, berbentuk rapuh, dan miselium tumbuh tidak merata, serta dalam keadaan busuk dan berbau amonia, maka tempe tidak layak lagi untuk dikonsumsi (Sarwono, 2002).

2.5. Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai mikroba hidup yang memiliki kemampuan terapeutik pada manusia yang mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung bakteri probiotik (Praja, 2011). Istilah probiotik pertama kali dicetuskan oleh Lily dan Stiwell pada tahun 1965 untuk menyatakan efek stimulasi pertumbuhan dari suatu mikroorganisme lain. Definisi probiotik kemudian berkembang sebagai suplementasi pangan yang berisi mikroorganisme hidup yang digunakan untuk memperbaiki keseimbangan mikrobiota yang hidup dalam jalur *intestine*. Saat ini probiotik diartikan sebagai konsumsi mikroba hidup sebagai aditif makanan untuk kesehatan. Cara kerja dari probiotik ini yaitu dengan memperbaiki keseimbangan mikroba yang sudah terdapat dalam saluran pencernaan manusia. Probiotik dapat meningkatkan pertahanan usus dengan jumlahnya dalam usus yang besar dan beragam. Hal ini dapat menciptakan kondisi lingkungan usus yang kurang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga mencegah kolonisasi mikroorganisme patogen (Lu and Walker 2001).

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi dalam jumlah cukup dapat memberikan manfaat kesehatan bagi *host* atau pengonsumsinya (FAO/WHO, 2002). Menurut FAO/WHO (2001), manfaat mengonsumsi probiotik

antara lain dapat mencegah diare, kanker, mengatasi konstipasi, menjaga kesehatan jantung, mencegah alergi, meningkatkan sistem imun, dan kesehatan. Probiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen di dalam usus karena menghasilkan asam organik, komponen organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Lahtinen *et al.*, 2012). Bakteri probiotik juga memberi manfaat lain dengan memproduksi substansi anti bakteri, misalnya asam organik, bakteriosin, mikrosin, reuterin, *volatile fatty acid*, hidrogen peroksida dan ion hidrogen (Gibson *et al.*, 2004).

Mikroba yang digunakan sebagai probiotik yaitu *Bacillus sp*, *Lactobacillus sp*, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Geotricum sp*, dan yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*). Mikroba tersebut dapat menurunkan populasi bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* (Sumardi *et al.*, 2010). Syarat bakteri probiotik adalah tidak bersifat patogenik dan toksigenik, juga mampu menempel dan kolonisasi disaluran pencernaan, dapat memanfaatkan nutrisi pada substrat yang ada, dapat bertahan selama sistem pencernaan, memiliki viabilitas yang baik dalam bentuk utuh di dalam tubuh pengonsumsi, memberikan efek menguntungkan kepada *host* atau pengonsumsinya dengan mencegah infeksi atau penyakit, meningkatkan kesehatan atau meningkatkan nutrisi (Hui *et al.*, 2005). FAO/WHO (2002) menyatakan uji *in vitro* untuk probiotik yang akan digunakan untuk pangan adalah uji ketahanan terhadap asam dan garam empedu, uji penempelan di lendir dan sel epitel manusia, uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen, uji kemampuan mengurangi jumlah patogen yang menempel pada permukaan vili usus, dan uji aktivitas hidrolase garam empedu.

2.6. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan istilah umum untuk menyebut bakteri yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat sebagai produk utamanya. Sebagian besar bakteri asam laktat dapat tumbuh baik pada lingkungan yang memiliki maupun tidak memiliki oksigen sehingga termasuk *anaerob aerotolerance* (Siagian, 2012). Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu kelompok bakteri yang telah banyak digunakan sebagai probiotik. Probiotik adalah mikrobia hidup sebagai suplemen makanan atau pakan yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi kesehatan melalui peningkatan keseimbangan mikrobial dalam saluran pencernaan (Fuller, 1992). Bakteri asam laktat dikatakan memiliki potensi probiotik apabila bakteri tersebut tahan terhadap pengolahan, pH asam lambung, garam empedu, mampu bertahan hidup di dalam saluran pencernaan, dan mampu memberikan efek kesehatan yang baik bagi tubuh (FAO/WHO, 2002).

Dalam proses fermentasi, bakteri asam laktat (BAL) akan menfermentasikan bahan pangan untuk menghasilkan perubahan yang diinginkan dan membentuk asam laktat. Asam laktat bersifat menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) dan menimbulkan rasa asam. Hal ini juga berakibat menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme patogen lainnya. Secara morfologis, bakteri asam laktat (BAL) dibagi menjadi kelompok *coccus* dan *bacillus*. Menurut kondisi pertumbuhannya, bakteri asam laktat (BAL) dibagi menjadi bakteri anaerob fakultatif yang tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen (*Lactobacillus*, *Streptococcus*) dan bakteri anaerob obligat

(*Bifidobacterium*). Produk yang dihasilkan dari fermentasi bakteri asam laktat (BAL) akan berbeda tergantung pada jenis bakteri asam laktatnya apakah homofermentatif atau heterofermentatif (Waspodo, 2004).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan jenis bakteri yang telah lama dikenal mampu memperpanjang masa simpan bahan pangan karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa anti bakteri seperti asam laktat, hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin yang mampu menghambat bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Clostridia* (Widodo, 2003). BAL yang termasuk dalam genera *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, dan *Pediococcus* diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Motarjemi *et al.*, 2014).

Asam laktat dan bakteriosin memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba dalam makanan, sehingga meningkatkan keamanan dan daya simpan pangan (Klaenhammer, 1998). Bakteriosin merupakan substansi protein, umumnya mempunyai berat molekul kecil serta memiliki aktivitas sebagai bakterisidal dan bakteristatik. Bakteriosin yang dihasilkan BAL termasuk pengawet yang aman, tidak mengubah nilai gizi, efektif pada konsentrasi rendah, dan dipercaya dapat memberi efek kesehatan manusia (Lahtinen *et al.*, 2012). Bakteriosin telah banyak dimanfaatkan sifat antagonistiknya dalam bidang biopreservatif pangan, karena kemampuannya dalam menghambat bakteri gram positif atau gram negatif dan mempunyai efek terapeutik. Saat ini bakteriosin sudah mulai diterapkan sebagai salah satu biopreservatif karena sifatnya yang

alami dan tidak menyebabkan efek negatif pada konsumen (Cleveland *et al.*, 2001).

2.7. *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei adalah bakteri gram-positif, anaerob fakultatif, tidak memiliki alat gerak, tidak menghasilkan spora, berbentuk batang dan menjadi salah satu bakteri yang berperan penting. Bakteri ini berukuran 0,7–1,1 x 2,0–4,0 µm dan merupakan bakteri yang penting dalam pembentukan asam laktat. Seperti bakteri asam laktat lain, *Lactobacillus casei* toleran terhadap asam, tidak bisa mensintesis perfirin, dan melakukan fermentasi dengan asam laktat sebagai metabolit akhir yang utama. Bakteri ini membentuk koloni tunggal maupun berantai dan merupakan bagian dari spesies heterofermentatif fakultatif. Bakteri ini memproduksi asam laktat dari gula heksosa dengan jalur Embden-Meyerlhof dan dari pentosa dengan jalur 6-fosfoglukonat, fosfoketolase (Anakunhas, 2011). Sorbitol, laktosa, sukrosa, dan manosa adalah jenis gula yang dapat difermentasi oleh *Lactobacillus casei* (Madigan *et al.*, 2000).



Gambar 5. *Lactobacillus casei* (Strickland, 2013)

Menurut Surono (2004), *Lactobacillus casei* tersebar di alam dan telah diisolasi dari produk olahan susu dan saluran pencernaan berbagai hewan. Jenis bakteri ini

dapat tumbuh pada pH 4,4-9,6. Suhu optimum untuk pertumbuhan *Lactobacillus casei* adalah 30-37°C, namun pada suhu 15°C *Lactobacillus casei* masih dapat tumbuh (Najgebauer-Lejko *et al.*, 2011). Bakteri *Lactobacillus casei* dapat memecah glukosa menjadi asam laktat dan menghasilkan sejumlah kecil asam sitrat, malat, asetat, suksinat, asetaldehid, diasetil dan aseton (Selamat, 1992).

2.8. Tepung Terigu

Tepung terigu merupakan tepung yang berasal dari bahan dasar gandum yang diperoleh dengan cara penggilingan biji gandum dan banyak digunakan dalam industri pangan. Gandum yang diolah menjadi tepung terigu adalah yang berasal dari jenis *Triticum vulgare*. Kandungan protein dan asam-asam amino pada gandum lebih tinggi dan lengkap jumlahnya dibandingkan jagung dan beras. Tepung dari biji-biji lainnya seperti beras dan jagung tidak mengandung banyak zat pelengkap sehingga sukar untuk membuat adonan yang baik. (Pato dan Yusmarini, 2004).

Granula pati disusun oleh dua polimer berbeda yaitu amilosa dan amilopektin. Pati pada umumnya mengandung 25% amilosa. Amilosa merupakan polimer linier yang terdiri dari 200-300 monomer α -1,4-glikosidik tergantung dari sumbernya. Amilopektin terdiri dari rantai utama amilosa dengan rantai cabang D-glukopiranososa yang terikat dengan ikatan α -1,6-glikosidik. Amilopektin merupakan molekul yang lebih besar dari amilosa dan memiliki banyak cabang (Krochta *et al.*, 1994). Komponen terbesar tepung terigu adalah pati yakni 65–70% dengan kadar amilosa 25% dan amilopektin 75%, tepung tapioka hanya

memiliki kadar amilosa 17% dan kadar amilopektin 83% (Risti, 2013), tepung beras ketan mengandung pati sebanyak 66,31% dengan kadar amilosa 0,88% dan amilopektin 90,11%, sedangkan pada tepung beras memiliki pati 67,68% dengan kadar amilosa 11,78% dan amilopektin 88,22% (Imanningsih, 2012).



Gambar 6. Tepung terigu (Daya Cipta Budaya Media, 2015)

Tepung terigu yang digunakan dalam penelitian adalah jenis tepung terigu protein sedang merek segitiga biru yang memiliki kadar protein 11,0%–12,5%. Tepung terigu jenis ini biasa disebut tepung terigu serbaguna (*all purpose flour*) karena penggunaannya fleksibel dan bisa digunakan untuk berbagai macam kebutuhan, sedangkan tepung terigu jenis *high* protein memiliki kelemahan yaitu masa simpan yang lebih singkat dibandingkan jenis terigu lainnya. Hal ini karena kandungan proteinnya yang lebih tinggi, semakin tinggi kadar protein dalam tepung terigu maka daya serap air semakin besar (Suhardjito, 2005). Kandungan nilai gizi yang terdapat pada tepung terigu (per 100 g) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan nutrisi tepung terigu

Zat Gizi	Kandungan
Kalori (kal)	362,00
Protein (g)	8,90
Lemak (g)	1,30
Karbohidrat (g)	72,30
Kalsium (mg)	16,00
Fosfor (mg)	106,00
Besi (mg)	1,20
Vitamin A (mg)	0,00
Vitamin B (mg)	0,12
Vitamin C (mg)	0,00

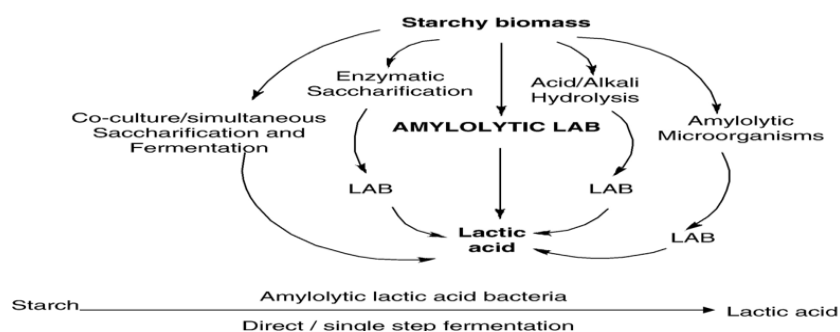
Sumber: Mahmud *et al.* (2005)

2.9. Mekanisme Tepung Terigu Sebagai Substrat *Lactobacillus casei*

Fermentasi asam laktat pada bahan baku karbohidrat dapat menggunakan mikroba antara lain bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp*) dan jamur *Rhizopus oryzae*.

Lactobacillus melalui proses fermentasi menghasilkan asam laktat bentuk D(-) dan L(+). L-asam laktat merupakan bentuk yang diinginkan untuk dimanfaatkan dalam industri terutama pada industri makanan (Hidayat, 2006). Bakteri asam laktat amilolitik adalah bakteri yang dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu amilase dan pululanase yang dapat menghidrolisis sebagian pati alami menjadi gula sederhana dan oligosakarida lain atau dekstrin (Sikorsi, 2002). Beberapa produk pertanian merupakan substrat potensial untuk produksi asam laktat oleh bakteri asam laktat amilolitik salah satunya adalah pati gandum (tepung terigu). Pati dapat dijadikan alternatif bahan baku selain glukosa murni yang harganya mahal sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri asam laktat amilolitik, selain itu pati mudah diperoleh dan harganya lebih murah.

Bakteri asam laktat amilolitik menghasilkan enzim amilase selama proses fermentasi yang dapat menghidrolisis pati (amilosa) menjadi glukosa dan selanjutnya glukosa akan dikonversi langsung menjadi asam laktat sebagai metabolit akhir (Reddy *et al.*, 2008). Pemanfaatan bakteri asam laktat pada makanan memiliki dampak positif terhadap kualitas makanan yaitu bersifat biopreservatif karena asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan pH sampai 4 yang dapat berpengaruh terhadap daya simpan dan rasa makanan, serta mikroba pembusuk dan patogen tidak dapat tumbuh pada pH asam (Ray, 1996). Mekanisme pembentukan asam laktat oleh bakteri asam laktat amilolitik pada substrat pati ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Mekanisme pembentukan asam laktat oleh bakteri asam laktat amilolitik pada substrat pati (Reddy *et al.*, 2008)

Lactobacillus casei merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat yang banyak dimanfaatkan sebagai probiotik dan memiliki keunggulan dalam menggunakan gula sebagai sumber karbon dalam jangka waktu yang cukup lama dibandingkan dengan kelompok bakteri probiotik yang lain, sehingga produk memiliki umur simpan yang cukup lama (Salminen, 1993).

2.10. Penyimpanan Tempe pada Suhu Rendah

Prinsip utama dalam penyimpanan adalah pengendalian laju transpirasi, respirasi, infeksi penyakit, dan mencegah perubahan-perubahan yang tidak dikehendaki.

Suhu merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap perubahan produk hasil pengolahan pertanian. Pada umumnya, semakin tinggi suhu penyimpanan maka laju reaksi dari berbagai senyawa kimia yang terkandung di dalamnya akan meningkat. Umur simpan pada tempe dapat diartikan sebagai rentang waktu antara tempe dinyatakan berhasil dibuat hingga mengalami kerusakan.

Penyimpanan tempe pada suhu ruang merupakan tindakan yang kurang tepat karena tempe hanya dapat bertahan selama dua hari, hal ini disebabkan karena kapang pada tempe terus aktif melakukan aktivitas metabolisme. Penyimpanan tempe pada suhu rendah dapat memperpanjang umur simpan dan mempertahankan mutu tempe. Semakin rendah suhu penyimpanan maka proses pembusukan akan semakin melambat (Mutiarawati, 2007).

Penyimpanan pada suhu rendah dapat menghambat kerusakan makanan, antara lain kerusakan fisiologis, kerusakan enzimatik maupun kerusakan mikrobiologis.

Pendinginan atau refrigerasi ialah penyimpanan dengan suhu rata-rata yang digunakan masih di atas titik beku bahan biasanya antara -1°C sampai 4°C . Pada suhu tersebut, pertumbuhan bakteri dan proses biokimia akan terhambat.

Pendinginan biasanya akan mengawetkan bahan pangan selama beberapa hari atau beberapa minggu, tergantung pada jenis bahan pangannya. Pendinginan yang biasa dilakukan di rumah-rumah tangga adalah dalam lemari es yang mempunyai suhu -2°C sampai 16°C (Rusendi *et al.*, 2010).

Menurut Mathlouthi (2013), setiap penurunan suhu 10°C kecepatan reaksi enzimatik dapat diperlambat kurang lebih setengahnya. Pada penelitian Nugraha (2007), tempe dengan campuran bahan yang disimpan pada suhu 4°C dapat bertahan hingga 12 hari. Hasil penelitian Rochim (2014) menunjukkan bahwa tempe bacem yang dikemas dalam kemasan non vakum dan disimpan pada suhu 10°C memiliki umur simpan selama 6 hari. Menurut Weliana (2016), pendugaan umur simpan tempe pada berbagai suhu penyimpanan menggunakan persamaan Arrhenius menunjukkan bahwa umur simpan tempe pada suhu ruang diperkirakan selama 2 hari, pada suhu 5°C diperkirakan selama 13 hari, dan pada suhu 15°C selama 5 hari.

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian, dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2018.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian dibagi menjadi dua kelompok yaitu bahan utama dan bahan pembantu. Bahan utama yang digunakan adalah kacang kedelai impor (*Glycine max*), inokulum tempe yang diperoleh dari salah satu industri tempe di Gunung Sulah, tepung terigu jenis protein sedang, air, kultur *Lactobacillus casei* dalam bentuk kultur murni yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta, dan media MRS Broth untuk pembuatan kultur. Bahan pembantu terdiri dari media MRS Agar sebagai media tumbuh bakteri asam laktat (BAL), aquades, alkohol, dan bahan-bahan untuk analisis lainnya.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dibagi dalam empat kelompok yaitu alat untuk proses pembuatan tempe, alat untuk pembuatan starter, alat untuk uji sensori dan alat untuk analisis kimia. Peralatan yang digunakan untuk membuat tempe adalah panci, baskom, kompor, alat peniris, pisau, tampah, timbangan analitik, dan plastik pengemas. Peralatan untuk pembuatan starter adalah tabung reaksi, erlenmeyer, jarum ose, kapas, aluminium foil, bunsen, mikropipet, pipet tip, spatula, vortex, *hotplate*, autoklaf, dan inkubator. Peralatan untuk uji sensori yaitu lembar kuesioner, piring sampel, alat tulis, dan tisu. Peralatan analisis kimia meliputi *bulb*, cawan aluminium, cawan porselen, desikator, erlenmeyer, gelas arloji, gelas piala, gelas ukur, kompor listrik, labu takar, *magnetic stirrer*, mortar, timbangan analitik, oven, perangkat kjeldahl, perangkat soxhlet, pipet tetes, pipet volumetrik, pompa vakum, *shaker waterbath*, sudip, tanur, dan pH meter.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dalam dua tahapan, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mengetahui masa simpan dan sifat sensori (warna, aroma, dan tekstur) tempe kedelai tanpa perlakuan (normal). Penelitian pendahuluan dilakukan setiap 24 jam menggunakan panca indera secara langsung hingga tempe kedelai mengalami perubahan fisik (kerusakan) pada penyimpanan suhu ruang (kontrol) dan suhu 5°C. Data hasil pengamatan penelitian pendahuluan kemudian dianalisis deskriptif.

Penelitian utama bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan media tepung terigu dan penyimpanan tempe kedelai probiotik pada suhu rendah yang memiliki masa simpan maksimal dengan sifat sensori sesuai standar mutu tempe kedelai (SNI. 1344:2015). Pengamatan yang dilakukan pada penelitian utama adalah penentuan masa simpan dan uji sensori tempe kedelai probiotik.

Pengamatan masa simpan tempe kedelai probiotik dilakukan setelah proses fermentasi kedelai (\pm 48 jam) dan seterusnya setiap 24 jam hingga tempe kedelai probiotik mengalami kerusakan dengan 3 kali ulangan. Data hasil penentuan masa simpan tempe kedelai probiotik yang diperoleh pada masing-masing ulangan kemudian dianalisis deskriptif dengan cara mengamati sifat fisik (warna, aroma, dan tekstur) tempe kedelai probiotik menggunakan data pembandingan dari hasil penelitian pendahuluan (tempe kedelai normal). Data dari setiap ulangan dirata-rata untuk memperoleh masa simpan tempe kedelai probiotik pada setiap perlakuan dan disajikan dalam bentuk grafik.

Pada penelitian utama dilakukan uji sensori terhadap warna, aroma, tekstur, dan penerimaan keseluruhan tempe kedelai probiotik. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) secara faktorial dengan 3 kali ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi tepung terigu yang terdiri dari 5 taraf yakni 0% (b/b) (T0); 0,2% (b/b) (T1); 0,4% (b/b) (T2); 0,6% (b/b) (T3) dan 0,8% (b/b) (T4). Faktor kedua adalah suhu rendah penyimpanan tempe yang terdiri dari 3 taraf yaitu 5°C (S1); 10°C (S2); dan 15°C (S3). Kesamaan ragam data diuji dengan uji Bartlett dan kementerian data diuji dengan uji Tuckey. Data dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan dan diuji lanjut menggunakan uji polinomial ortogonal pada taraf nyata 1% dan

5%. Terhadap perlakuan terbaik yang diperoleh dari hasil penentuan masa simpan dan uji sensori dilakukan analisis proksimat meliputi kadar protein (AOAC, 2005), kadar karbohidrat (Winarno, 1996), kadar lemak (AOAC, 2005), kadar abu (AOAC, 2005), kadar air (AOAC, 2005), analisis pH (AOAC, 2005), dan analisis total bakteri asam laktat (BAL) (Fardiaz, 1989).

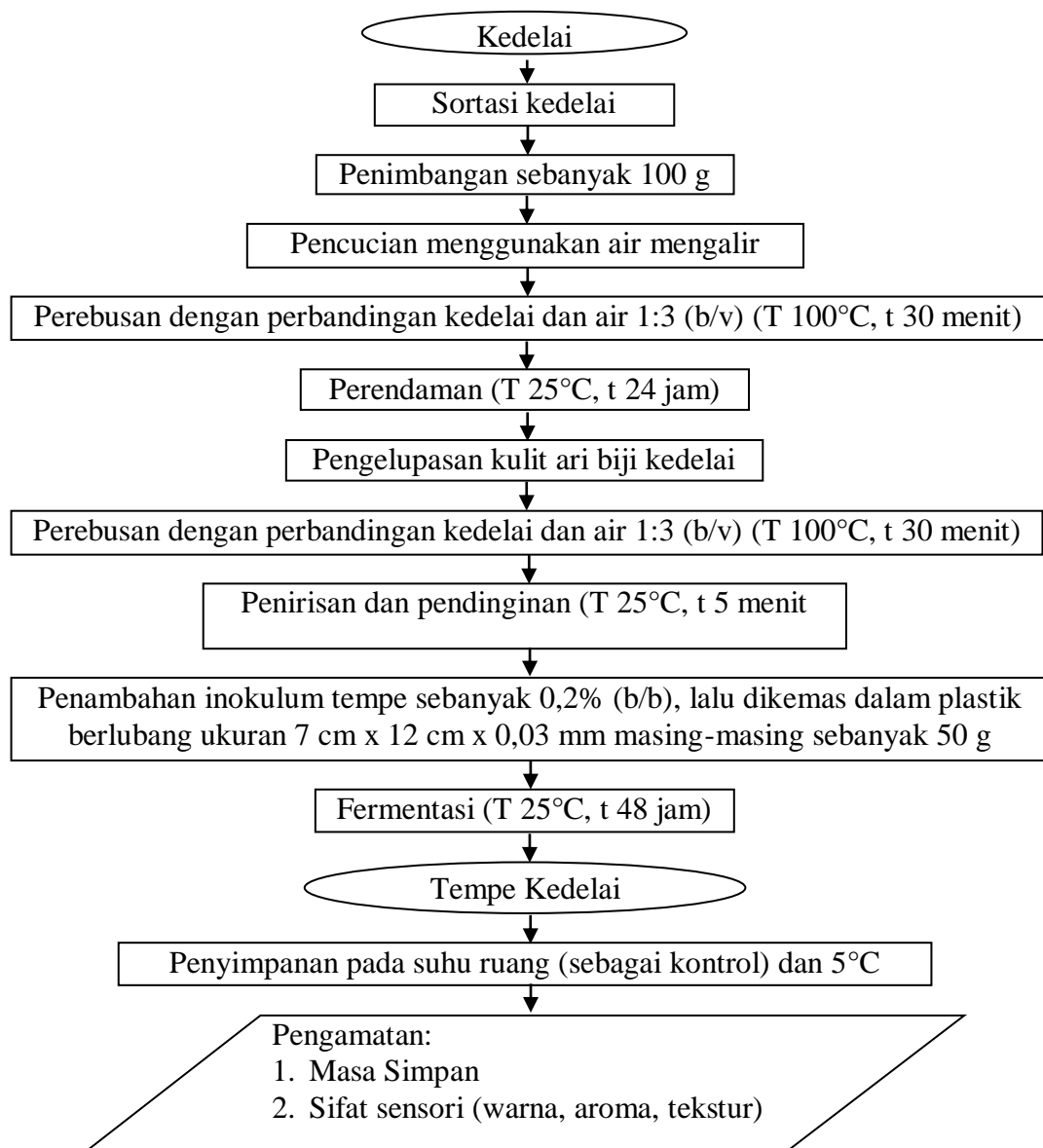
3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui umur simpan tempe kedelai tanpa perlakuan yang disimpan pada suhu ruang dengan cara mengamati perubahan fisik tempe kedelai selama penyimpanan. Proses pembuatan tempe kedelai mengikuti prosedur Aptesia *et al.* (2013), yaitu kedelai disortasi lalu ditimbang sebanyak 100 g kemudian dilakukan pencucian menggunakan air mengalir sampai kotoran yang melekat terlepas. Selanjutnya kedelai direbus pada suhu 100°C dengan perbandingan kedelai dan air 1:3 (b/v) selama 30 menit sampai kulit ari kedelai mudah terkelupas, lalu kedelai direndam pada suhu 25°C selama 24 jam dan dikupas kulit ari kedelai.

Selanjutnya tahap perebusan kedua pada suhu 100°C dengan perbandingan kedelai dan air 1:3 (b/v) selama 30 menit, kemudian dilakukan penirisan dan pendinginan pada suhu 25°C selama 5 menit. Tahap selanjutnya yaitu setiap 100 g kedelai ditambahkan inokulum tempe sebanyak 0,2% (b/b) lalu kedelai dimasukkan ke dalam plastik berukuran 7 cm x 12 cm x 0,03 mm masing-masing sebanyak 50 g. Selanjutnya kedelai difermentasi selama 48 jam pada suhu ruang.

Setelah proses fermentasi, dilakukan pengamatan terhadap masa simpan dan sifat sensori tempe kedelai hasil percobaan meliputi warna, aroma, dan tekstur pada tempe kedelai tanpa perlakuan yang disimpan pada suhu ruang (kontrol) dan suhu 5°C. Data hasil pengamatan kemudian dianalisis deskriptif dan digunakan sebagai kontrol pada penelitian utama. Diagram alir pembuatan tempe kedelai menurut Aptesia *et al.* (2013) dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir pembuatan tempe kedelai (Aptesia *et al.*, 2013) yang

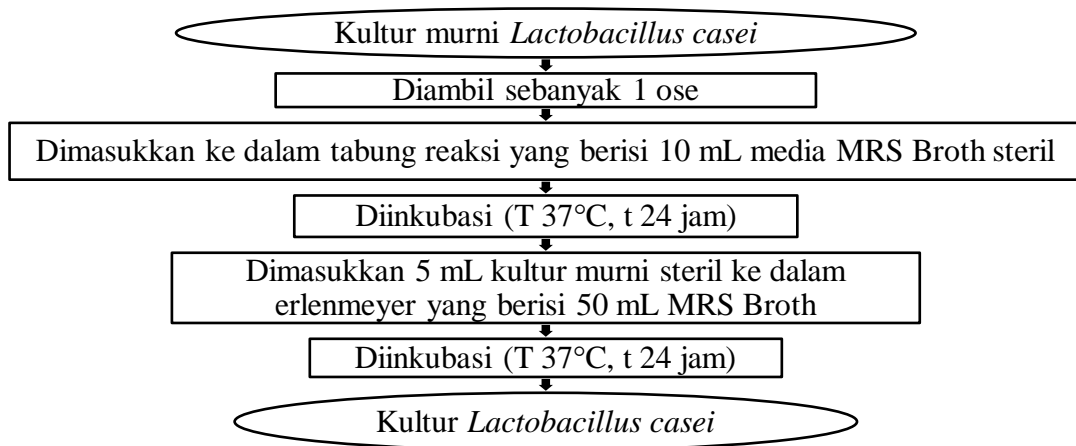
telah dimodifikasi

3.4.2. Penelitian Utama

Penelitian utama meliputi persiapan starter dan pembuatan tempe kedelai.

a. Pembuatan Starter *Lactobacillus casei*

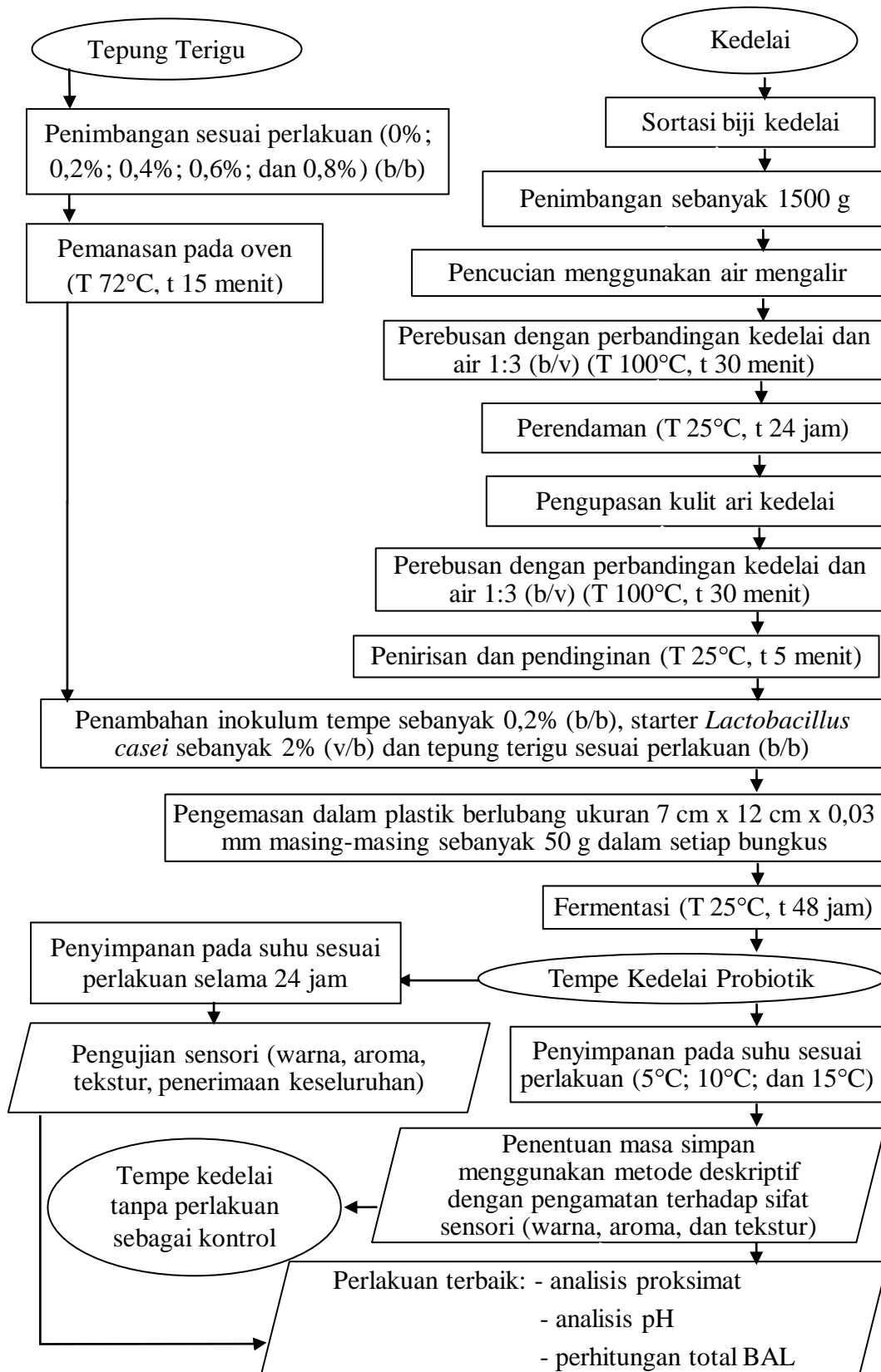
Pembuatan starter ini berdasarkan metode Aptesia *et al.* (2013), yaitu starter kultur murni *Lactobacillus casei* disiapkan dan diambil sebanyak 1 ose lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL media MRS Broth steril dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian, sebanyak 5 mL kultur murni dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 mL MRS Broth steril lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diperoleh kultur *Lactobacillus casei*. Diagram alir pembuatan starter *Lactobacillus casei* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir pembuatan kultur *Lactobacillus casei* (Aptesia *et al.*, 2013)

b. Pembuatan Tempe Kedelai Probiotik

Proses pembuatan tempe kedelai probiotik mengikuti prosedur Aptesia *et al.* (2013). Pertama kedelai disortasi (dipisahkan kedelai yang cacat dan dipilih yang padat dan berisi). Kedelai lalu ditimbang sebanyak 1500 g kemudian dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Selanjutnya kedelai direbus pada suhu 100°C dengan perbandingan kedelai dan air 1:3 (b/v) selama 30 menit hingga kulit ari kedelai mudah terkelupas, kemudian direndam pada suhu 25°C selama 24 jam dan dilakukan pengelupasan kulit ari kedelai. Tahap berikutnya yaitu tahap perebusan kedua pada suhu 100°C dengan perbandingan kedelai dan air 1:3 (b/v) selama 30 menit, lalu kedelai ditiriskan dan didinginkan pada suhu ruang selama 5 menit. Pada tahap peragian, kedelai ditambahkan inokulum tempe sebanyak 0,2% (b/b) (0,2 g/100 g kedelai), dan diberi kultur *Lactobacillus casei* 2% (v/b) yang telah bercampur media MRS Borth serta tepung terigu yang telah ditimbang masing-masing sebanyak sesuai perlakuan (0% (b/b); 0,2% (b/b); 0,4% (b/b); 0,6% (b/b) dan 0,8% (b/b)) dan dikeringkan pada oven (T 72°C, t 15 menit), lalu semua bahan diaduk agar tercampur merata. Selanjutnya kedelai dimasukkan ke dalam plastik pengemas berukuran 7 cm x 12 cm x 0,03 mm yang telah dilubangi masing-masing sebanyak 50 g dalam setiap bungkus dan diberi label, kemudian diletakan pada tampah dan disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang $\pm 25^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam. Kemudian tempe kedelai probiotik disimpan pada suhu penyimpanan sesuai perlakuan yaitu 5°C; 10°C; dan 15°C dan dilakukan pengamatan terhadap masa simpan dan sifat sensori. Diagram alir pembuatan tempe kedelai probiotik dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Diagram alir pembuatan tempe kedelai probiotik(Aptesia*et al.*, 2013) yang telah dimodifikasi

3.5. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap produk tempe kedelai probiotik dengan konsentrasi tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan yang berbeda adalah penentuan masa simpan dan sifat sensori (warna, aroma, tekstur, dan penerimaan keseluruhan). Terhadap tempe kedelai probiotik perlakuan terbaik, dilakukan analisis proksimat, meliputi kadar air (AOAC, 2005), kadar abu (AOAC, 2005), kadar protein (AOAC, 2005), kadar lemak (AOAC, 2005), kadar karbohidrat dengan metode *by different* (Winarno, 1996) dan analisis pH (AOAC, 2005), serta total bakteri asam laktat (BAL).

3.5.1. Penentuan Masa Simpan Tempe Kedelai Probiotik

Pengamatan masa simpan dilakukan untuk mendapatkan tempe kedelai probiotik dengan perlakuan konsentrasi media tepung terigu dan suhu penyimpanan yang memiliki masa simpan paling lama dan memiliki ciri-ciri fisik mendekati tempe kedelai normal. Pengamatan terhadap tempe kedelai probiotik dilakukan setelah proses fermentasi kedelai (\pm 48 jam) dan seterusnya setiap 24 jam hingga tempe kedelai probiotik mengalami perubahan fisik (kerusakan) menggunakan metode deskriptif sebanyak 3 kali ulangan. Perubahan fisik yang diamati meliputi warna, aroma, dan tekstur tempe kedelai probiotik menggunakan data pembandingan dari hasil penelitian pendahuluan (tempe kedelai kontrol). Data masa simpan setiap ulangan pada masing-masing perlakuan dirata-rata untuk mendapatkan masa simpan tempe kedelai probiotik yang tepat kemudian data disajikan dalam bentuk grafik.

3.5.2. Uji Sensori

Pengujian sensori terhadap tempe kedelai probiotik dilakukan untuk mengetahui respon panelis terhadap tempe kedelai probiotik dengan perlakuan konsentrasi tepung terigu dan suhu rendah penyimpanan yang berbeda menggunakan metode uji skoring dan hedonik. Uji skoring bertujuan untuk memberikan skor terhadap karakteristik mutu yang meliputi warna, aroma, dan tekstur pada setiap perlakuan tempe kedelai probiotik, sedangkan uji hedonik bertujuan untuk memberikan nilai berdasarkan tingkat kesukaan panelis terhadap tempe kedelai probiotik dengan berbagai perlakuan. Pengujian sensori dilakukan 24 jam setelah penyimpanan tempe probiotik pada masing-masing suhu perlakuan. Panelis diminta memberikan nilai terhadap atribut sensori yaitu warna, aroma, dan tekstur untuk uji skoring, serta penerimaan keseluruhan untuk uji hedonik. Panelis yang digunakan adalah panelis semi terlatih sebanyak 30 orang yaitu mahasiswa jurusan Teknologi Hasil Pertanian yang telah mengambil mata kuliah uji sensori. Sampel yang sudah diberi kode disajikan secara acak kepada panelis, kemudian panelis diminta untuk memberikan nilai menurut tingkat skoring dan kesukaannya. Lembar kuesioner uji skoring dan hedonik dapat dilihat pada Gambar 11.

Lembar Kuesioner Uji Skoring dan Hedonik

Nama:

Tanggal :

Di hadapan Anda disajikan 15 sampel tempe kedelai probiotik. Evaluasi sampel-sampel tersebut berdasarkan warna, aroma, tekstur, dan penerimaan keseluruhan dengan cara mengamati sampel satu persatu. Gunakan skala yang tersedia untuk menunjukkan penilaian Anda terhadap masing-masing parameter sampel.

Kode Sampel	Parameter			
	Warna	Aroma	Tekstur	Penerimaan Keseluruhan
413				
162				
590				
721				
663				
825				
316				
903				
244				
297				
112				
438				
671				
894				
562				

Keterangan:

Skala uji skoring

Warna

1. Putih gelap
2. Putih agak gelap
3. Putih
4. Putih agak cerah
5. Putih cerah

Aroma

1. Sangat tidak khas tempe dan asam
2. Tidak khas tempe dan asam
3. Agak khas tempe dan agak asam
4. Khas tempe dan tidak asam
5. Sangat khas tempe dan tidak asam

Tekstur

1. Sangat tidak kompak dan sangat tidak padat
2. Tidak kompak dan tidak padat
3. Agak kompak dan agak padat
4. Kompak dan padat
5. Sangat kompak dan padat

Skala uji hedonik

Penerimaan Keseluruhan

1. Sangat tidak suka
2. Tidak suka
3. Agak suka
4. Suka
5. Sangat suka

Gambar 11. Lembar kuesioner uji skoring dan hedonik

3.5.3. Analisis Proksimat

a. Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven (AOAC, 2005). Prinsipnya adalah dengan menguapkan molekul air bebas yang ada dalam sampel. Sampel lalu ditimbang sampai didapat bobot konstan dengan asumsi semua air yang terkandung dalam sampel sudah diuapkan. Selisih bobot sebelum dan sesudah pengeringan merupakan banyaknya air yang diuapkan. Cawan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100-105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama 6 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang (C). Tahap ini diulangi hingga dicapai bobot yang konstan. Penentuan kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : berat cawan kosong (g)

B : berat cawan + sampel awal (g)

C : berat cawan + sampel kering (g)

b. Kadar Abu

Analisis kadar abu dilakukan menggunakan metode oven (AOAC, 2005).

Prinsipnya adalah pembakaran bahan-bahan organik yang diuraikan menjadi air

dan karbondioksida tetapi zat anorganik tidak terbakar. Zat anorganik ini disebut abu. Cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C. Cawan didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap dan dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur bersuhu 550-600°C sampai pengabuan sempurna. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap pembakaran dalam tanur diulangi sampai didapat bobot yang konstan. Penentuan kadar abu dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : berat cawan kosong (g)

B : berat cawan + sampel awal (g)

C : berat cawan + sampel kering (g)

c. Kadar Lemak

Analisis kadar lemak dilakukan dengan metode Soxhlet (AOAC, 2005), yaitu lemak yang terdapat dalam sampel diekstrak dengan menggunakan pelarut lemak nonpolar. Prosedur analisis kadar lemak sebagai berikut: labu lemak yang akan digunakan dioven selama 15 menit pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 5 gram (B) lalu dibungkus dengan kertas timbel, ditutup

dengan kapas bebas lemak dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi Soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak yang telah dioven dan diketahui bobotnya. Pelarut heksan dituangkan sampai sampel terendam dan dilakukan refluks atau ekstraksi lemak selama 5-6 jam atau sampai pelarut lemak yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut lemak yang telah digunakan, disuling dan ditampung setelah itu ekstrak lemak yang ada dalam labu lemak dikeringkan dalam oven bersuhu 100-105°C selama 10 menit, lalu labu lemak didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang (C). Tahap pengeringan labu lemak diulangi sampai diperoleh bobot yang konstan. Penentuan kadar lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Lemak total} = \frac{(C - A) \times 100\%}{B}$$

Keterangan :

A : berat labu alas bulat kosong (g)

B : berat sampel (g)

C : berat labu alas bulat dan lemak hasil ekstraksi (g)

d. Kadar Protein

Analisis kadar protein dilakukan dengan metode Kjeldahl (AOAC, 2005), yaitu oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia oleh asam sulfat, selanjutnya amonia bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Amonium sulfat yang terbentuk diuraikan dan larutan dijadikan basa dengan NaOH. Amonia yang diuapkan akan diikat dengan asam borat. Nitrogen yang terkandung dalam larutan ditentukan jumlahnya dengan titrasi menggunakan

larutan baku asam. Prosedur analisis kadar protein sebagai berikut: sampel ditimbang sebanyak 0,1-0,5 g, dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL, kemudian didekstruksi sampai larutan menjadi hijau jernih dan SO₂ hilang. Larutan dibiarkan dingin dan dipindahkan ke labu 50 mL dan diencerkan dengan aquades sampai tanda tera, kemudian dimasukkan ke dalam alat destilasi, ditambahkan dengan 5-10 mL NaOH 30-33% dan dilakukan destilasi. Destilat ditampung dalam larutan 10 ml asam borat 3% dan beberapa tetes indikator (larutan *bromcresol green* 0,1% dan larutan metil merah 0,1%) dalam alkohol 95% secara terpisah dan dicampurkan antara 10 mL *bromcresol green* dengan 2 mL metil merah) kemudian dititrasi dengan larutan HCl 0,02 N sampai larutan berubah warnanya menjadi merah muda. Penentuan kadar protein dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Protein} = \frac{(VA - VB) \text{ HCL} \times N \text{ HCL} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\%}{W \times 1000}$$

Keterangan :

VA : mLHCl untuk titrasi sampel	14,007 : berat atom Nitrogen
VB : mLHCl untuk titrasi blangko	6,25 : faktor konversi protein
N : normalitas HCl standar yang digunakan	W : berat sampel (g)

e. Kadar Karbohidrat

Penentuan kadar karbohidrat dihitung menggunakan *by difference* (Winarno, 1996) dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - (\text{kadar air} + \text{kadar protein} + \text{kadar abu} + \text{kadar lemak})\%$$

3.5.4. Analisis pH

Nilai pH diukur menggunakan pH meter dengan metode elektroda gelas menurut prosedur AOAC (2005). Nilai pH diukur pada suhu yang sama. Sebelum pengukuran, pHmeter distandarisasi dengan menggunakan buffer standar pH 4 dan pH 7. Pengukuran dilakukan dengan cara elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu. Sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam gelas piala 100 ml kemudian ditambahkan dengan aquades dengan perbandingan sampel dan air 1:5 (b/v). Elektroda pH meter kemudian 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.

3.5.5. Analisis Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Pengujian total bakteri asam laktat (BAL) diukur dengan metode hitungan cawan atau *Total PlateCount* (TPC) menurut Fardiaz (1989). Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer berupa garam fisiologis sebanyak 9 ml sehingga diperoleh suspensi sampel dengan pengenceran 10^{-1} . Campuran kemudiandihomogenkan dan diambil 1 ml larutan dari tabung pertama dan dimasukkan kedalam tabung reaksi berikutnya yang berisi 9 ml larutan garam fisiologis sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai diperoleh pengenceran yang sesuai (10^{-8} sampai dengan 10^{-10}). Dari pengenceran yang dikehendaki diambil sebanyak 1 ml sampel dengan pipet lalu dimasukkan ke dalam cawanpetri steril, kemudian ditambahkan sebanyak ± 15 ml media MRS Agar steril dan dihomogenkan dengan cara memutar cawan seperti

membentuk angka 8. Setelah media agar memadat, cawan dibungkus dengan kertas lalu diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam dan dihitung koloni yang tumbuh menggunakan *colony counter*. Total koloni bakteri asam laktat yang terhitung harus memenuhi standar *International Commission Microbiology Food (ICMF)* yaitu antara 30 sampai 300 koloni per cawan petri dan dinyatakan dalam CFU/g. Total bakteri asam laktat (BAL) dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total BAL (CFU/g)} = \text{Jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Konsentrasi tepung terigu terbaik yang dapat memperpanjang masa simpan dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik adalah 0,6%.
2. Suhu rendah penyimpanan terbaik untuk memperpanjang masa simpan dan mempertahankan sifat sensori tempe kedelai probiotik adalah 5°C.
3. Interaksi antara konsentrasi media tepung terigu sebagai substrat *Lactobacillus casei* dan suhu rendah penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap masa simpan dan sifat sensori tempe kedelai probiotik. Tempe perlakuan terbaik adalah perlakuan konsentrasi tepung terigu 0,6% dan suhu rendah penyimpanan 5°C (T3S1) dengan skor warna sebesar 3,72 (putih cerah), skor aroma sebesar 2,78 (agak khas tempe dan agak asam), skor tekstur sebesar 4,12 (kompak dan padat), skor penerimaan keseluruhan sebesar 3,41 (agak suka), total bakteri asam laktat berkisar 9,04-9,13 log CFU/g (memenuhi syarat produk probiotik), dan masa simpan maksimal hingga 17,33 hari. Masa simpan tempe kedelai probiotik dengan penambahan tepung terigu 0% dan suhu rendah penyimpanan 5°C (T0S1) adalah 15,67 hari, sedangkan tempe kedelai (kontrol) tanpa penambahan tepung terigu,

tanpa BAL, pada penyimpanan suhu ruang dan suhu 5°C masing-masing hanya dapat bertahan selama 2 hari dan 9 hari.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang jenis karbohidrat (pati) lainnya yang berpotensi sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat dan jenis bakteri asam laktat lainnya yang mempunyai peran sama dalam memperpanjang masa simpan, memperbaiki sifat kimia, dan sensori tempe kedelai probiotik.
2. Perlu adanya pengakajian lebih lanjut tentang aktivitas antimikroba *Lactobacillus casei* tempe kedelai probiotik dengan penambahan tepung terigu yang disimpan pada suhu rendah.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi peran *Lactobacillus casei* dalam tempe kedelai probiotik secara in vivo sebagai probiotik terhadap ketahanan asam lambung, garam empedu, kemampuan menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan, dan persyaratan-persyaratan probiotik lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anakunhas. 2011. Pengertian *Lactobacillus casei*. <http://www.anakunhas.com/2011/04/pengertian-lactobasillus-casei.html>. Diakses pada tanggal 03 Oktober 2017.
- Andayani, P., A.K. Wardani, dan E.S. Murtini. 2008. Isolasi dan Identifikasi Mikroba dari Tempe Sorgum Coklat (*Sorghum bicolor*) serta Potensinya dalam Mendegradasi Pati dan Protein. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9(2):95-105.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. *Official Methods of Analysis*. Benjamin Franklin Station. Washington. 1.230 hlm.
- Aptesia, L.T., Suharyono, dan H.A. Rasyid. 2013. Pemanfaatan *Lactobacillus casei* dan Tapioka dalam Upaya Menghambat Kerusakan Tempe Kedelai. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 18(2):175-184.
- Astawan, M. 1991. *Teknologi Pengolahan Pangan Nabati Tepat Guna*. Akademika Pressindo. Jakarta. 57 hlm.
- Astawan, M. 2004. *Tetap Sehat dengan Produk Makanan Olahan*. Tiga Serangkai. Solo. 117 hlm.
- Badan Pusat Statistik. 2014. *Data Produksi Padi, Jagung, dan Kedelai Provinsi Lampung Tahun 2013*. Berita Resmi Statistik. Lampung No. 01/07/18/Th.VIII. 4 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional. 2015. *SNI 3144:2015 Tempe Kedelai*. BSN. Jakarta. 26 hlm.
- Beuchat, L.R. 2001. *Traditional Fermented Foods*. ASM Press. Washington. hal 701-719.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet and M. Wooton. 1985. *Ilmu Pangan*. Terjemahan Hari Purnomo dan Aldiano. UI-Press. Jakarta. 365 hlm.
- Cahyadi, W. 2007. *Kedelai: Khasiat dan Teknologi*. Bumi Aksara. Jakarta. 196 hlm.

- Champbell, J.R. and R.T. Marshall. 1975. *The Science of Providing Milk for Man*. Mc Graw Hill Book. New York. 801 hlm.
- Charteris, W.P., P.M. Kelly, L. Morelli, and J.K. Collins. 1998. Development and Application of in-vitro Methodology to Determine The Transit Tolerance of Potentially Probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Species in The Upper Human Gastrointestinal Tract. *Journal of Applied Bacteriology*. 84:759–768.
- Cleveland, J., J.T. Montville, I.F. NES, and M.L. Chikindas. 2001. Bacteriocin: Safe, Natural Antimicrobials for Food Preservation. *International Journal Food Microbiology*. 71:1-20.
- Daya Cipta Budaya Media. 2015. Memilih Tepung Terigu yang Benar. <http://dcbmedia.blogspot.co.id/2015/04/memilih-tepung-terigu-yang-benar.html>. Diakses pada tanggal 02 November 2017.
- De Man, M. J. 1989. *Kimia Makanan*. ITB-Press. Bandung. 550 hlm.
- Djaafar, T.F. dan E.S. Rahayu. 2006. Karakteristik Yogurt dengan Inokulum *Lactobacillus* yang Diisolasi dari Makanan Fermentasi Tradisional. *Jurnal Agros*. 8(1):73-80.
- Efriwati, A. Suwanto, G. Rahayu, dan L. Nuraida. 2013. Population Dynamics of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB) during Tempeh Production. *Hayati Journal of Biosciences*. 20(2):57-64.
- Emilia, Q. 2015. Perilaku *Bacillus cereus* selama Fermentasi Tempe yang Diperkaya dengan Bakteri Asam Laktat. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 38 hlm.
- FAO/WHO World Health Organization. 2001. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Argentina, Cordoba.
- FAO/WHO Joint of Food and Agriculture Organization/World Health Organization of the United Nations. 2002. Guidelines for The Evaluation of Probiotics in Food. *Working Group Report*. London, Ontario, Canada.
- Fardiaz, S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fellows. 1992. *Food Processing Technology*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge. 575 hlm.
- Feng, X.M., Eriksson, R.B. Anders, and S. Johan. 2005. Growth of Lactic Acid Bacteria and *Rhizopus oligosporus* during Barley Tempeh Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 104(3):249–256.

- Feng, X.M. 2006. Microbial Dynamics during Barley Tempeh Fermentation (Thesis). Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1995. *Food Microbiology*. Tata McGraw-Hill. New Delhi. 384 hlm.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in Man and Animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66:365-378.
- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotics. In: Probiotics The Scientific Basis (R. Fuller, ed)*. Chapman & Hall. London, UK. 386 hlm
- Gibson, G.R. and Fuller, R. 1999. Prebiotics, Probiotics and Human Gut Microbiology. *International Dairy Journal*. 9:53-61.
- Gibson, G.R., H.M. Probert, J.A.E. Van Loo, R.A. Rastall, and M.B. Roberfroid. 2004. Dietary Modulation of The Human Colonic Microbiota: Updating The Concept of Prebiotics. *Nutrition Research Review*. 17:257-259.
- Giraffa, 2004. Studying the Dynamics of Microbial Populations during Food Fermentation. *FEMS Microbiology Reviews*. 28:251-260.
- Hamzah, F., Marniza, dan S. Rizal. 2014. Pengaruh Konsentrasi *Lactobacillus acidophilus* dan Tepung Sagu terhadap Umur Simpan dan Sifat Sensori Tempe Kedelai. *Jurnal Kelitbangan*. 02(03):46-68.
- Hanif, M. 2009. Produksi Karakterisasi Tepung Kasava Termodifikasi. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 118 hlm.
- Haryoko, M. dan N. Kurnianto. 2006. Pembuatan Tempe Saga (*Adenanthera pavonia L.*) Menggunakan Ragi Tepung Tempe dan Ragi Instan. (Makalah Seminar Penelitian). Universitas Diponegoro. Semarang. 23 hlm.
- Hidayat, M.A. 2006. Fermentasi Asam Laktat oleh *Rhizopus oryzae* pada Substrat Singkong Hasil Hidrolisis Asam. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 114 hlm.
- Hughenoltz, J. 2013. Traditional Biotechnology for New Foods and Beverages. *Current Opinion in Biotechnology*. 24 (2):155-159.
- Hui, Y.H., M.L. Goddick, A.S. Hansev, J. Josephen, W.K. Nip, P.S. Stanfield, F. Toldra. 2005. *Handbook of Food and Beverages Fermentation Technology*. Marcel Dekker. New York. 1000 hlm.
- Imanningsih, N. 2012. Profil Gelatinisasi Beberapa Formulasi Tepung-Tepungan untuk Pendugaan Sifat Pemasakan. *Penelitian Gizi dan Makanan*. 35(1):13-22.

- Isnaeni, dan N.M. Mertaniasih. 2015. Antibacterial Activity of Probiotic Mixed Culture Against MRSA and ESBL. *Journal Chemical Pharmaceutical Research*. 7(4): 1005-1010.
- Karsono Y, A. Tunggal, A.Wiratrama, dan P. Adimulyo. 2009. Pengaruh Jenis Kultur Starter terhadap Mutu Organoleptik Tempe Kedelai. (Artikel Ilmiah). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 10 hlm.
- Kasmidjo, R.B. 1990. *Tempe: Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan serta Pemanfaatannya*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta. 57 hlm.
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. UI-Press Jakarta. 315 hlm.
- Kemala, S. 2006. *Upaya Memperpanjang Umur Simpan Tempe dengan Metode Pengeringan dan Sterilisasi*. Departemen Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. 5 hlm.
- Klaenhammer, T.R. 1998. Bacteriocin of Lactic Acid Bacteria. *Biochemistry*. 70:337-349.
- Klaenhammer, T.R. 2007. Probiotics and Prebiotics. ASM Press. Washington DC. 891-907.
- Krisdiana, R. dan Heriyanto. 2000. Penggunaan Komoditas Kedelai untuk Industri Produk Olahan Rumah Tangga di Pulau Jawa. Makalah Balitkabi No.2000-149. Disampaikan pada Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian untuk Mendukung Ketahanan Pangan. Denpasar, 23-24 Oktober 2000. 20 hlm.
- Krochta, J.M., E.A. Baldwin., and M.N. Carriedo. 1994. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Technomic Pub. Co Inc. Lancaster. 448 hlm.
- Kustyawati, M.E. 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. *Agritech*. 29(2):64-70.
- Lahtinen S, A.C., Ouwehand, S. Salminen, A.V. Wright. 2012. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects 4th Edition*. CRC Press. Boca Raton. 789 hlm.
- Liu, K. 1997. *Soybean: Chemistry, Technology, and Utilization*. Chappman and Hall. London, UK. 169 hlm
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall. London. 991 hlm

- Mathlouthi, M. 2013. *Food Packaging and Preservation*. Springer-Science and Business Media B.V. Salisbury, UK. 127 hlm.
- Mahmud, M.K., Hermana, N.A. Zulfianto, R. Rozzana, I. Ngadiarti, B. Hartati, dan Bernadus. 2005. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI)*. Elex Media Komputindo. Jakarta. 84 hlm.
- Moreno, M.F., J.J. Leisner, L.K. Tee, C. Ley, S. Radu, G. Rusul, M. Vancanneyt, and L. De Vuyst. 2002. Microbial Analysis of Malaysian Tempe and Characterization of Two Bacteriocins Produced by Isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Applied Microbiology*. 92:147-157.
- Motarjemi, Y., G. Moy, and E. Todd. 2014. *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier. London. 2304 hlm.
- Muslikhah, S., C. Anam, dan M.A.M. Andriani. Penyimpanan Tempe dengan Metode Modifikasi Atmosfer (Modified Atmosphere) untuk Mempertahankan Kualitas dan Daya Simpan. 2013. *Jurnal Teknosains Pangan*. 2(3):51-60.
- Mutai, M. 1981. *The Properties of Lactobacillus Product "Yakult 80"* (Japanese). New Food Industries. 19 hlm.
- Mutiarawati, T. 2007. Penanganan Pascapanen Hasil Pertanian. (Workshop Pemandu Lapangan 1 (PL-1) Sekolah Lapangan Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian (SL-PPHP)). Departemen Pertanian. 4 hlm.
- Najgebauer-Lejko, D.E., M. Sade, T. Grega., and M. Walczykca. 2011. The Impact of Tea Supplementation on Microflora, pH and Antioxidant Capacity of Yoghurt. *International Dairy Journal*. 21:568-574.
- Nouts, M.J.R., and J.L. Kiers. 2005. A Review Tempe Fermentation, Innovation and Functionality: Update into The Third Millenium. *Journal of Applied Microbiology*. 98:789-805.
- Nugraha, R. 2007. Pengembangan Produk Beku Berbasis Tempe dan Sayur sebagai Pangan Fungsional. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 68 hlm.
- Nugroho, A.I. 2007. Penentuan Proporsi Inokulum Tempe Tip Hasil Perbaikan pada Proses Pembuatan Tempe di UKM Tempe Sanan-Kota Malang. (Skripsi). Universitas Brawijaya. Malang.
- Palupi, N.S., F.R. Zakaria, dan E. Prangdimurti. 2007. *Pengaruh Pengolahan terhadap Nilai Gizi Pangan*. (Modul e-Learning ENBP). Institut Pertanian Bogor. Bogor. hal 9-10.

- Pato, U. dan Yusmarini. 2004. *Teknologi Pengolahan Hasil Tanaman Pangan*. Unri Press. Pekanbaru. 15 hlm.
- Pisol B, L. Nuraida, N. Abdullah, Suliantari, dan K.A. Khalil. 2013. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Indonesian Soybean Tempe. *Prosiding. 2013 4th International Conference on Biology, Environment and Chemistry*. Singapore (SG): IACSIT Press.
- Praja, D.I. 2011. *The Miracle of Probiotics*. DIVA Press. Yogyakarta. 44 hlm.
- Popoola, T.O.S., A.L. Kolapo, and O.R. Afolabi. 2007. Biochemical Deterioration of Soybean Daddwa- A Condiment. *Journal Food Agri Environ*. 5(1):67-70.
- Pratomo, A. 2000. Pemanfaatan *Lactobacillus plantarum* dan Tepung Beras dalam Upaya Menghambat Kerusakan Tempe Kedelai. (Thesis). Universitas Brawijaya. Malang.
- Puryana, I.G.P.S. 2008. Pemanfaatan Kedelai dalam Pembuatan Bubur Sumsum sebagai Makanan Pendamping ASI (MP-ASI). *Jurnal Skala Husada*. 5(2): 91-97 hlm
- Rakhmawati, N., B.S. Amanto, dan D. Prasetianga. 2014. Formulasi dan Evaluasi Sifat Sensoris dan Fisikokimia Produk *Flakes* Komposit Berbahan Dasar Tepung Tapioka, Tepung Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.), dan Tepung Konjac (*Amorphallus oncophillus*). *Jurnal Teknosains Pangan*. 3(1):63-73.
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press. Boca Raton, New York. 608 hlm.
- Reddy, G., M.D. Altaf, B.J. Naveena, M. Venkateshwar, and E.V. Kumar. 2008. Amylolytic Bacterial Lactic Acid Fermentation-a Review. *Biotechnology Advances*. 26:22–34.
- Riniarsi, D. 2015. *Outlook Komoditas Pertanian Tanaman Pangan: Kedelai*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Kementerian Pertanian. Jakarta. 73 hlm.
- Risti, Y. 2013. Pengaruh Penambahan Telur terhadap Kadar Protein, Serat, Tingkat Kekenyalan dan Penerimaan Mie Basah Bebas Gluten Berbahan Baku Tepung Komposit. (Skripsi). Universitas Diponegoro. Semarang. 116 hlm.
- Robinson, R.K. 1981. *Dairy Microbiology: The Microbiology of Milk Products, Volume II*. Applied Science Publishing. London. 70 hlm.

- Rochim, D.A. 2014. Peningkatan Umur Simpan Tempe Bacem dengan Metode Vakum pada Beberapa Kondisi Penyimpanan. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 93 hlm.
- Rukmi, D.W., Z. Elok, dan M. Monika. 2012. Pembuatan Starter Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat *Saccharomyces cereviceae* untuk Proses Fermentasi Produk Sereal Instan. *Jurnal Keteknik Pertanian*. 4(1):56-69.
- Rusendi, D., Sudaryanto, S. Nurjannah, A. Widhyasanti, dan S. Rosalinda. 2010. *Penuntun Praktikum MK. Teknik Penanganan Hasil Pertanian*. Universitas Padjajaran. Bandung. 23 hlm.
- Salminen, S. and A. Von-Wright. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, Inc. New York. 239 hlm.
- Samad, M.Y. 2006. Pengaruh Penanganan Pascapanen terhadap Mutu Komoditas Hortikultura. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 8(1):31-36.
- Sarwono, B. 2002. *Membuat Tempe dan Oncom*. Penebar Swadaya. Jakarta. 46 hlm.
- Satiawan, D. 2011. Tempe. *Wacana Didaktika*. 1(6):25-32.
- Sayuti. 2015. Pengaruh Bahan Kemasan dan Lama Inkubasi terhadap Kualitas Tempe Kacang Gude sebagai Sumber Belajar IPA. *Jurnal Pendidikan Biologi*. 6(2):148-158.
- Selamat, D.P. 1992. Masa Simpan Yakult Kedelai yang Difermentasi oleh *Lactobacillus casei* subsp Rhamnosus pada Suhu Ruang dan Suhu Lemari Es. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Shah, N.P. 2001. Functional Foods from Probiotics and Prebiotics. *Journal Food Technology*. 55:46-53.
- Shurtleff, W. and Aoyogi. 1979. *The Book of Tempeh*. Harper and Row Publishers. New York, Hagerstown, San Fransisco, London. 245 hlm.
- Sikorsi, Z.E. 2002. *Chemical and Functional Properties of Food Components*. CRC Press. Boca Raton. 384 hlm.
- Siagian, P. 2012. *Keajaiban Antioksidan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 51 hlm.
- Soegijanto dan Soegeng. 2002. *Ilmu Penyakit Anak, Diagnosis dan Penatalaksanaan Edisi 1*. Salemba Medika. Jakarta.

- Sparringa, R.A., M. Kendall, A. Westby, and J.D. Owens. 2002. Effects of Temperature, pH, Water Activity and CO₂ Concentration on Growth of *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710. *Journal of Applied Microbiology*. 92:329-337.
- Speck, M.L. 1978. *Development in Industrial Microbiology, Economic Microbiology Fermented Food Vol. VII*. Academic Press. London. 86 hlm.
- Stainkneus, K.H. 1995. *Handbook of Indigenous Fermented Food Second Edition Revised and Expanded*. Marcel Dekker. New York. 792 hlm.
- Startfm. 2015. Pengembangan Kedelai di Madina Capai Ratusan Hektar. <http://startfmmadina.com/pengembangan-kacang-kedelai-di-madina-capai-ratusan-hektar/>. Diakses pada tanggal 02 November 2017.
- Stegman, G. 2014. Galau Tempe Busuk. https://www.google.co.id/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&ved=0ahUKEwid5Z7s8LLXAhWVrwKHeKgClMQjxwIAw&url=https%3A%2F%2Fwww.kompasiana.com%2Fgaganawati%2Fgalau-tempe-busuk_54f6a7a4a333111b598b4579&psig=AOvVaw0f8nrzVqT1C0LCdD3U_Hry&ust=1510364623512360. Diakses pada tanggal 02 November 2017.
- Strickland, J. 2013. Gotta Get Bacteria in Time. <https://www.fwthinking.com/blogs/bac-show-notes.html>. Diakses pada tanggal 07 November 2017.
- Sudarmadji, S., B. Haryono., dan Suhardi. 2007. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta. 172 hlm
- Sukardi, Wignyanto, dan P. Isti. 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):207-215.
- Sumardi, S., C.N. Ekowati, dan D. Haryani. 2010. Isolasi Bacillus Penghasil *Selulase* dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. *Jurnal Sains MIPA*. 16(1):62-68.
- Suhardjito. 2005. *Pastry dalam Perhotelan*. Penerbit Andi. Yogyakarta. 51 hlm.
- Suharyono, A.S. 2008. Pemanfaatan *Lactobacillus plantarum* dan Tepung Beras dalam Menghambat Kerusakan Tempe Kedelai. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*. 13(2):21-25.
- Sulandri, L. 2001. Penambahan Ekstrak Tempe untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Biosains*. 3(1):14-16.

- Suprapti, M.L. 2003. *Pembuatan Tempe*. Kanisius. Yogyakarta. 63 hlm.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. Unesa University Press.
- Susanto, T. dan B. Saneto. 1994. *Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian*. Bina Ilmu. Surabaya. 74 hlm.
- Tempebumbung. 2016. Manfaat Tempe Kedelai Bagi Kesehatan Kita. <https://tempebumbung.wordpress.com/2016/01/29/manfaat-tempe-kedelai-bagi-kesehatan-kita/>. Diakses pada 02 November 2017.
- Triyono, M., Nazaruddin, dan W. Werdiningsih. 2017. Uji Aktivitas Inokulum Tempe dari Bahan Limbah Kulit Pisang terhadap Mutu Tempe Kedelai. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 3(1):200-206.
- Van den Hil P.J.R., and Nout, M.J.R. 2011. Anti-Diarrhoeal Aspects of Fermented Soya Beans. *Soybean and Health*. hal 383-406
- Warisno, dan D. Kres. 2010. *Meraup Untung dari Olahan Kedelai*. Agro Media Pustaka. Jakarta. 150 hlm.
- Waspodo, I. 2004. *Agar Probiotik Menyehatkan Saluran Cerna*. Harian Kompas, 6 November 2004. Jakarta. 28 hlm.
- Wang, Q., L. Ke, D. Yang, and B. Bao. 2007. Change in Oligosaccharides during Processing of Soybean Sheet. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*. 16(1):89-94.
- Weliana. 2016. Respon Kualitas Tempe Kedelai yang Disimpan pada Berbagai Suhu Penyimpanan. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 41 hlm.
- Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Lacticia Press. Yogyakarta. 39 hlm.
- Widowati, S., M.E. Yuniar, Christina, dan R. Holinesti. 2004. Analisis Kerusakan Produk Tempe Kedelai. (Laporan Mata Kuliah Pengawetan Pangan). Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 22 hlm.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz, dan D. Fardiaz. 1992. *Pengantar Teknologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 92 hlm.
- Winarno, F.G. 1996. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta. 112 hlm.
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 253 hlm.

- Winarno, F.G. dan I.E. Fernandez. 2007. *Susu dan Produk Fermentasinya*. M-Brio Press. Bogor. 172 hlm.
- Yulneriwarni. 2006. Bakteri Asam Laktat sebagai Fermentatif, Biospeservatif dan Probiotik. *Jurnal Ilmu dan Budaya*. 27(2):164-168.
- Zain, S., S. Ujan, Sawitri, dan I. Ulfi. 2005. *Teknik Penanganan Hasil Pertanian*. Pustaka Giratuna. Bandung. hal 69-94.
- Zein, U., K.H. Sagala., dan J. Ginting. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. (Artikel Ilmiah). Universitas Sumatera Utara. Medan. 15 hlm.