

**PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI TEPUNG TERHADAP
PERTUMBUHAN KHAMIR DAN KANDUNGAN β -GLUKAN TEMPE**

(Skripsi)

Oleh

RAFA ZAHRAH



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

EFFECT OF TYPES AND FLOUR CONCENTRATION ON THE GROWTH OF YEAST AND β -GLUCAN CONTENT OF TEMPE

By

RAFA ZAHRAH

Tempe is a food made of boiled soybeans which is fermented by enzymatic activity of mold *Rizopus oligosporus*. Based on several studies that have been conducted, it is known that there are also the involvement of yeast in fermentation process of tempe. One type of yeast found in tempe fermentation is *Sacharomyces Cerevisiae* which is known as a source of β -glucan. The aims of this study are to determine the effect of addition tapioca flour and wheat flour on the growth of yeast and β -glucan content of tempe which was extracted with pure culture *R. oligosporus* and *S. cerevisiae*. This research was done by Randomized Complete Block Design (RCBD) with two factors. The first factor are type of flour : tapioca flour and wheat flour. The second factor are flour concentration % (w/w), consist of 0%, 2.5%, 5%, 7.5% and 10%. The observations that were done on tempe are the total molds, total yeast, beta glucan content and pH value. The data that was done by the advanced test with the True Significant Difference *Test*

(SDT) with 5% level. The results showed that the addition of types and concentrations of flour had a significant on the total mold, total yeast, β -glucan content and pH value. The addition of tapioca flour or wheat flour can increase yeast cells, mold cells and β -glucan content, where the higher the concentration of flour added in the process of making tempe, the higher yield of yeast cells, mold cells, and β -glucans. The addition of 10% tapioca flour produced the highest amount of yeast and β -glukan which was equal to 9.505 log cfu/g and 0.707% (w/w).

Key Word : *β -glucan, flour, tempe, yeast*

ABSTRAK

PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI TEPUNG TERHADAP PERTUMBUHAN KHAMIR DAN KANDUNGAN β -GLUKAN TEMPE

Oleh

RAFA ZAHRAH

Tempe merupakan makanan yang terbuat dari kedelai rebus yang difermentasi oleh aktifitas enzimatik kapang *Rizopus oligosporus*. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, diketahui terdapat pula keterlibatan khamir dalam proses fermentasi tempe. Salah satu jenis khamir yang ditemukan dalam fermentasi tempe adalah *Sacharomyces Cerevisiae* yang dikenal sebagai sumber penghasil β -glukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan tepung tapioka dan tepung terigu terhadap pertumbuhan khamir dan kandungan β -glukan tempe yang diinokulasi dengan kultur murni *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap faktorial (RAKL) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah jenis tepung yaitu : tepung tapioka dan tepung terigu. Faktor kedua adalah konsentrasi tepung yaitu : 0 %, 2.5 %, 5 %, 7.5 % dan 10 %. Tempe yang dihasilkan selanjutnya dilakukan pengamatan total kapang, total khamir, kandungan

β -glukan dan nilai pH. Data yang diperoleh dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan jenis dan konsentrasi tepung berpengaruh nyata terhadap total kapang, total khamir, kandungan β -glukan dan nilai pH. Penambahan tepung tapioka maupun terigu mampu meningkatkan sel khamir, sel kapang dan kandungan β -glukan, dimana semakin tinggi konsentrasi tepung yang ditambahkan maka semakin tinggi pula sel khamir, sel kapang, dan β -glukan. Penambahan tepung tapioka 10 % mampu menghasilkan jumlah khamir dan β -glukan tertinggi yaitu sebesar 9.505 log cfu/g dan 0.707 % (b/b).

Kata Kunci : *β -glukan, khamir, tempe, tepung*

**PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI TEPUNG TERHADAP
PERTUMBUHAN KHAMIR DAN KANDUNGAN β -GLUKAN TEMPE**

Oleh

RAFA ZAHRAH

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Tepung Terhadap Pertumbuhan Khamir dan Kandungan β -glukan Tempe**

Nama Mahasiswa : **Rafa Zahrah**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1514051002

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

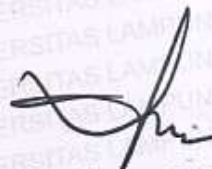


Ir. Samsul Rizal, M.Si.
NIP 19690225 199403 1 002



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

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian



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

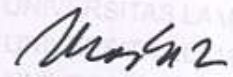
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

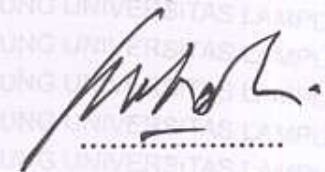
Ketua : **Ir. Samsul Rizal, M.Si.**



Sekrestaris : **Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.**



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



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611020 198603 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **08 Agustus 2019**

PENYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya adalah Rafa Zahrah NPM 1514051002

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

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan.

Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, Agustus 2019
Yang membuat pernyataan



Rafa Zahrah
NPM 1514051002

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Batanghari, pada tanggal 16 Juli 1997, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Sigit Kusdaryanto dan Ibu Titi Sumaryasih. Kakak penulis bernama Faris Haitsam dan adik penulis bernama Ahmad Dian Sukoco. Penulis menyelesaikan Sekolah Dasar (SD) pada tahun 2009 di SD Negeri 168/1 Tidar Kuranji, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 1 Batanghari pada tahun 2012 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 1 Batanghari pada tahun 2015, dan pada tahun 2015 penulis berhasil diterima sebagai mahasiswa di Perguruan Tinggi Negeri melalui jalur undangan Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) dengan jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Penulis pernah mengikuti lomba Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) pada tahun 2017 dengan judul “Pembuatan Minuman Probiotik dari Limbah Kulit Nanas Madu dengan Penambahan Susu Skim dan Kacang Merah“. Penulis melaksanakan Praktik Uum (PU) pada bulan Juli-Agustus 2018 di PT Great Giant Pineapple (GGP) Banana Plantation Group 3 yang berlokasi di Terbanggi Besar, Lampung Tengah dan menyelesaikan laporan yang berjudul “Mempelajari Proses Penanganan Pascapanen dan Mutu Produk *Banana Fresh Fruit* di PT *Great Giant Pineapple* (GGP) *Plantation Group 3*”. Pada tahun 2019 penulis melaksanakan

Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tanjung Raja, Kecamatan Tanjung Raja, Kabupaten Lampung Utara selama 40 hari dari 03 Januari – 10 Februari 2019. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi Asisten praktikum mata kuliah Kimia Dasar pada tahun 2018 dan Mikrobiologi Hasil Pertanian pada tahun 2019. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian (HMJ THP) FP Unila dan Penulis juga menjadi anggota Organisasi Koperasi Mahasiswa (KOPMA) Universitas Lampung.

SANWACANA

Puji syukur penulis Panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul :

”Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Tepung terhadap Pertumbuhan Khamir dan Kandungan β -glukan Tempe” Skripsi ini dapat diselesaikan tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih 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 Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Dosen Pembimbing satu skripsi sekaligus, Dosen Pembimbing Akademik : atas arahan, saran, bantuan, motivasi, dan bimbingan yang telah diberikan selama Perkuliahan dan selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi Penulis.
4. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati., selaku Dosen Pembimbing dua skripsi atas saran, motivasi, dan bimbingan dalam proses penelitian dan penyelesaian skripsi Penulis.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Dosen Pembahas atas saran, bimbingan, dan evaluasinya terhadap karya skripsi Penulis.

5. Segenap Bapak/Ibu Dosen, staf dan karyawan yang telah membekali banyak ilmu kepada penulis selama menjadi mahasiswa.
6. Orang tuaku tercinta, mamaku, adikku serta keluargaku, terimakasih atas kasih sayang, do'a, motivasi, semangat dan dukungannya yang tiada henti kepada penulis.
7. Uki yang telah memberikan motivasi dan banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman – teman angkatan 2015 dan sahabatku cindy, seli dan novi, serta yang telah membantu penelitan saya fevi, eka, ayu, terimakasih atas bantuan dan motivasi yang diberikan dari awal kuliah sampai menyelesaikan skripsi ini.

Bandar Lampung, Agustus 2019

Rafa Zahrah

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
C. Kerangka Pemikiran	4
D. Hipotesis.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tempe.....	8
B. <i>Rizopus oligosporus</i>	11
C. <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	13
D. β -glukan	16
E. Tepung Terigu	18
F. Tepung Tapioka	21
III. BAHAN DAN METODE	23
A. Tempat dan Waktu Penelitian	23
B. Bahan dan Alat	23
C. Metode Penelitian.....	24
D. Pelaksanaan Penelitian	25
1. Persiapan pembuatan biakan <i>S. cerevisiae</i>	25
2. Persiapan pembuatan biakan <i>R. oligosporus</i>	27
E. Pembuatan Tempe Kedelai	28
F. Pengamatan.....	30
1. Derajat Keasaman (pH).....	30
2. Analisis β -glukan.....	30
3. Perhitungan Jumlah Kapang dan Khamir.....	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
A. Jumlah Sel Khamir pada Tempe dengan Penambahan Tepung pada Berbagai Konsentrasi	33

B. Jumlah Sel Kapang pada Tempe dengan Penambahan Tepung pada Berbagai Konsentrasi	38
C. Kandungan β -glukan pada Tempe dengan Penambahan Tepung pada Berbagai Konsentrasi	42
D. Nilai pH pada pada Tempe dengan Penambahan Tepung pada Berbagai Konsentrasi	47
V. SIMPULAN DAN SARAN	49
A. Simpulan	49
B. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	62
Tabel 13-28	63-70
Gambar 10-14.....	71-75

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan gizi tempe per 100 g	10
2. Syarat mutu tempe.....	11
3. Kandungan gizi tepung terigu per 100 g.....	19
4. Kandungan gizi tepung tapioka per 100 g.....	21
5. Kombinasi perlakuan jenis dan konsentrasi tepung	24
5. Jumlah sel <i>S. cerevisiae</i> pada tempe dengan penambahan tepung pada berbagai konsentrasi.....	33
6. Hasil analisis Uji BNJ taraf 5% pengaruh penambahan jenis tepung dan konsentrasi berbeda terhadap jumlah <i>S. cerevisiae</i> pada tempe	36
7. Jumlah sel <i>R. oligosporus</i> pada tempe kedelai dengan penambahan tepung pada berbagai konsentrasi	39
8. Hasil analisis Uji BNJ taraf 5 % pengaruh penambahan jenis tepung dan konsentrasi berbeda terhadap jumlah <i>R. oligosporus</i> pada tempe.	41
9. % β -glukan (b/b) pada tempe dengan penambahan jenis tepung pada konsentrasi berbeda.....	44
10. Hasil Uji BNJ taraf 5 % pengaruh penambahan jenis tepung dengan konsentrasi berbeda terhadap jumlah kandungan β -glukan tempe.	44
11. Hasil analisis Uji BNJ taraf 5 % pengaruh penambahan jenis tepung dengan konsentrasi berbeda terhadap nilai pH tempe	47
12. Jumlah sel <i>S. cerevisiae</i> pada tempe dengan penambahan jenis dan konsentrasi tepung yang berbeda	63
14. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (<i>Bartlett's test</i>) Jumlah sel <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	63

15. Hasil analisis sidik ragam Jumlah sel <i>S. cerevisiae</i>	64
16. Hasil uji lanjut BNJ interaksi TK terhadap total khamir.....	64
17. Jumlah sel <i>R. oligosporus</i> pada tempe dengan perlakuan jenis dan konsnsentrasi tepung	65
18. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (<i>Bartlett's test</i>) Jumlah sel <i>R. oligosporus</i>	65
19. Hasil analisis sidik ragam Jumlah sel <i>R. oligosporus</i>	66
20. Hasil analisis uji BNJ interaksi TK terhadap total kapang	66
21. Nilai pH pada tempe dengan perlakuan jenis dan konsnsentrasi tepung	67
22. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (<i>Bartlett's test</i>) nilai pH.....	67
23. Hasil analisis sidik ragam nilai pH	68
24. Uji BNJ terhadap interaksi TK terhadap nilai pH.....	68
25. Hasil pengukuran kandungan β -glukan tempe.....	69
26. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (<i>Bartlett's test</i>) β -glukan.....	69
27. Analisis sidik ragam β -glukan.....	70
28. Uji BNJ terhadap interaksi TK terhadap kandungan β -glukan	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Stuktur <i>Rhizopus oligosporus</i>	12
2. Pati tepung terigu	20
3. Pati tepung tapioka.....	22
4. Diagram alir pembiakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26
5. Diagram alir persiapan inokulum <i>R. oligosporus</i>	28
6. Pembuatan tempe kedelai.....	29
7. Diagram Alir Penghitungan jumlah kapang dan khamir pada tempe	32
8. Grafik pertumbuhan sel khamir pada tempe yang diinokulasi dengan kultur murni <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> dengan penambahan jenis tepung dan konsentrasi berbeda	34
9. Grafik pertumbuhan sel kapang pada tempe yang diinokulasi dengan kultur murni <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> dengan penambahan jenis tepung dan konsentrasi berbeda	39
10. Proses pembiakan dan perhitungan kultur <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i>	71
(a) Pembuatan media MEA dan PDA	
(b) Penuangan media kedalam cawan dan ditunggu hingga memadat	
(c) Inokulasi kultur <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i>	
(d) Inkubasi	
(e) Kultur <i>R. oligosporus</i>	
(f) Kultur <i>S. cerevisiae</i>	
(g) Penanaman kultur <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i>	
(h) Proses sentrifus ($v=3000$ rpm), ($t=10$ menit)	
(i) Hasil sentrifus	
(j) Perhitungan mikroba menggunakan <i>haemocytometer</i>	
(k) Perhitungan jumlah sel	

11. Proses pembuatan tempe	72
(a) Penimbangan kedelai	
(b) Proses perendaman kedelai semalaman	
(c) Pengupasan kulit ari menggunakan tangan	
(d) Perebusan kedelai selama 30 menit	
(e) Penirisan kedelai setelah direbus	
(f) Penimbangan 100 g kedelai	
(g) Proses peragian	
(h) Pembungkusan dengan plastik dan diinkubasi selama 36 jam	
12. Persiapan analisis sample	73
(a) Penimbangan tempe sebanyak 10 g	
(b) Pengenceran sample 10^{-1}	
(c) Persiapan perhitungan total kapang dan khamir	
(d) Inkubasi	
(e) Perhitungan total kapang dan khamir	
(f) Pengukuran pH sample	
(g) Pengirisan dan pengovenan $T=45^{\circ}\text{C}$, $t=24$ jam	
(h) Pengalusan menggunakan blender	
13. Pengukuran kandungan β -glukan menggunakan spektrofotometes uv-vis.....	74
(a) Proses hidrolisis menggunakan NaOH selama 6 jam 0.7 N	
(b) Proses sentrifgasi	
(c) Endapan hasil sentrifus	
(d) Pemisahan endapan dan cariran	
(e) Pengeringan sample $T:45^{\circ}\text{C}$, $t=24$ jam	
(f) Sample yang telah dikeringkan	
(g) Proses reaksi fenol sulfat	
(h) Sample yang akan diukur	
(i) Proses pengukuran β -glukan menggunakan spektrofotometer uv-vis	
(j) Hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer uv-vis	
14. Tempe	75

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Tempe merupakan makanan tradisional populer asal Indonesia yang terbuat dari kedelai dan bermanfaat sebagai sumber serat pangan bagi kesehatan manusia (Soka dkk., 2014). Tempe dihasilkan dari produk fermentasi kedelai rebus oleh aktivitas enzimatik kapang *Rhizopus oligosporus* (Kustyawati, dkk., 2016).

Rhizopus oligosporus merupakan kapang yang berperan utama dalam pembuatan tempe karena dapat mempertahankan sebagian besar zat-zat gizi yang terkandung dalam kedelai, meningkatkan daya cerna proteinnya, serta meningkatkan kadar beberapa macam vitamin B (Muchtadi, 2010). Secara umum tempe berwarna putih karena pertumbuhan miselia kapang yang merekatkan biji kedelai sehingga terbentuk tekstur yang memadat (Haryoko dan Kurnianto, 2006).

Diketahui selama ini bahwa mikroorganisme yang berperan terpenting dalam pembuatan tempe adalah kapang. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa terdapat pula keterlibatan khamir dalam proses fermentasi tempe. Menurut Samson, dkk., (1987), ditemukan beberapa jenis khamir dalam tempe yang dipasarkan dan selama proses perendaman kedelai. Kehadiran khamir dalam fermentasi tempe menunjukkan bahwa khamir mampu

tumbuh dan berinteraksi dengan mikroflora lain yang terdapat dalam tempe dan kemungkinan khamir mempunyai peran dalam meningkatkan kualitas zat gizi dan flavor tempe (Kustyawati, 2009). Salah satu jenis khamir yang ditemukan dalam fermentasi tempe adalah *Saccharomyces Cerevisiae* (Kustyawati, 2016) yang dikenal sebagai sumber penghasil β -glukan (Pengkumsri, dkk., 2017). β -glukan sendiri memiliki aktivitas biologis sebagai immunomodulator dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Kusmiati, dkk., 2006), sebagai anti infeksi terhadap mikroorganisme yang meliputi bakteri, fungi, virus dan parasit (Hetland, dkk., 2013), sebagai *anti aging* (Delatte, dkk., 2001), sebagai antisisitotoksik, antimutagenik, dan antitumorogenik (Widyastuti, dkk., 2011).

Berdasarkan hasil penelitian Rizal, dkk., (2018) kandungan β -glukan yang dihasilkan paling tinggi terdapat pada tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* 3% (dalam bentuk bubuk fermipan) yaitu sebesar 0,076%. Pratiwi (2018) menyatakan kandungan β -glukan tertinggi pada tempe dengan penambahan campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* (kukur murni) sebagai inokulum pada lama fermentasi 40 jam, yaitu sebesar 0,578% (w/w). Kandungan β -glukan pada tempe hasil penelitian tersebut dinilai belum optimal, diduga karena pertumbuhan *S. cerevisiae* yang belum optimal. Menurut Andriani (2007) khamir yang telah diekstraksi memiliki kandungan β -glukan yang tinggi, yaitu berkisar antara 85-90%. Oleh karena itu diperlukan penambahan bahan yang memiliki nutrisi yang dibutuhkan untuk menunjang pertumbuhan *S. cerevisiae* agar menghasilkan tempe yang memiliki kandungan β -glukan yang tinggi.

S. cerevisiae berkembang biak dengan cara membelah diri melalui *budding cell*. Sistem reproduksi *S. cerevisiae* juga dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel *S. cerevisiae*. Nutrisi yang dibutuhkan olehnya berupa sumber karbon, nitrogen, mineral, dan vitamin (Bamforth, 2005). *S. cerevisiae* memiliki kemampuan untuk menghidrolisis pati menjadi gula sebagai nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhannya. Ragi dari genus *Saccharomyces* juga mampu memanfaatkan berbagai gula dengan jumlah enam atom karbon sebagai sumber karbon dan energy.

Tepung terigu dan tepung tapioka memiliki kandungan zat pati yang tinggi, yaitu berupa karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air sehingga diharapkan kandungan karbon dalam pati dapat mencukupi kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan oleh *S. cerevisiae*. Penambahan tepung pada pembuatan tempe bukan sumber nutrisi lain seperti sumber karbon lain agar *R. oligosporus* dapat tumbuh terlebih dahulu membentuk hifa pada kedelai kemudian disusul oleh *S. cerevisiae* yang memanfaatkan tepung sebagai sumber karbon dengan merombak sumber pati menjadi sumber gula sederhana. Oleh karena itu diperlukan penelitian pembuatan tempe dengan penambahan tepung terigu dan tepung tapioka yang diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan *S. cerevisiae* dan menghasilkan tempe dengan kandungan β -glukan yang tinggi. Namun belum diketahui jenis dan konsentrasi tepung yang optimal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* dan juga kandungan β -glukan yang tinggi.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh penambahan berbagai jenis tepung pada konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan khamir selama fermentasi tempe
2. Mengetahui pengaruh penambahan berbagai jenis tepung pada konsentrasi berbeda terhadap kandungan β -glukan tempe.

C. Kerangka Pemikiran

Inokulum memegang peranan penting dalam proses pembuatan tempe dikarenakan mampu mempengaruhi mutu tempe yang dihasilkan. Mikroba utama yang berperan dalam pembuatan tempe yaitu kapang jenis *R. oligosporus* (Kustyawati, dkk., 2014). Selain *R. oligosporus*, selama fermentasi tempe terdapat pula keberadaan mikroorganisme lain seperti bakteri asam laktat (BAL) dan khamir (Efriwati, dkk., 2013). Spesies khamir yang dapat digunakan dalam pembuatan tempe adalah *S. cerevisiae* (Kustyawati, dkk., 2016). *S. cerevisiae* merupakan salah satu jenis khamir galur potensial penghasil β -glukan, karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas β -glukan (Lee, 2001).

Berdasarkan hasil penelitian Rizal dkk., (2017) tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* 3 % memiliki sifat organoleptik yang dapat diterima oleh panelis. Pertumbuhan *S. cerevisiae* diduga sinergis dengan pertumbuhan kapang dan bakteri indigenus selama fermentasi tempe kedelai. Menurut Kustyawati (2009), tidak terdapat pertumbuhan *yeast* pada tempe yang dibuat dengan inokulum

murni. Hasil penelitian Rizal, dkk., (2018) menyatakan bahwa pada tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* 3% (dalam bentuk bubuk fermipan) dihasilkan kandungan β -glukan yang paling tinggi yaitu sebesar 0,076%. Pratiwi (2018) menyatakan kandungan β -glukan tertinggi pada tempe dengan penambahan campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* (kukur murni) sebagai inokulum pada lama fermentasi 40 jam, yaitu sebesar 0,578% (w/w). Kandungan β -glukan yang rendah dapat disebabkan oleh pertumbuhan *S. cerevisiae* dalam fermentasi tempe belum optimal.

Starch atau pati merupakan polisakarida hasil sintesis dari tanaman hijau melalui proses fotosintesis (Niken, H.A. dan D. Adepristia. 2013). Komposisi pati pada umumnya terdiri dari amilopektin sebagai bagian terbesar dan sisanya amilosa (Bradbury and Holloway, 1988). Proses hidrolisis pati secara enzimatik dapat memecah molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusunnya yang lebih sederhana seperti dekstrin, isomaltosa, maltosa dan glukosa. Enzim yang dapat digunakan adalah α -amilase, β -amilase, amiloglukosidase, glukosa isomerase, pullulanase, dan isoamilase (Purba, 2009). Khamir *S. cerevisiae* merupakan organisme penghasil amilase yang cukup berpotensi. Melliawati, dkk., (2006) menyatakan mikroorganisme amilolitik, salah satunya *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh subur di media padat yang mengandung pati sagu 2% sebagai sumber karbon dan energy, selain dapat tumbuh dengan baik, mikroorganisme tersebut juga dapat memecah pati menjadi senyawa yang lebih sederhana.

Mahmud (2009) menyatakan tepung terigu memiliki kandungan karbohidrat 72,3 % dan kadar protein 8,9%, tepung tapioka memiliki kadar protein sekitar 0,5-0,6 % dan kandungan karbohidrat sebesar 88.6 %. Kusnandar (2010) tepung terigu mengandung 25 % amilosa dan 75 % amilopekti, tepung tapioka mengandung 17 % amilosa dan 83 % amilopektin. Perbedaan tersebut diduga dapat mempengaruhi pertumbuhan khamir *S. cerevisiae* dalam fermentasi tempe. Hasil penelitian Fatimah dan Agustin (2016) menyatakan terjadi peningkatan jumlah koloni sel *S.cerevisiae* lebih tinggi pada *YHE* dengan media fermentasi tepung limbah tapioka yaitu sebanyak 21.10^{10} cfu dibandingkan pada media fermentasi dengan tepung kedelai yaitu sebanyak $3,1.10^{10}$ cfu. Jumlah *S. cerevisiae* mengalami peningkatan dari log 6,85 CFU/ml menjadi log 7,63 CFU/ml pada pembuatan tepung tapioka melalui fermentasi oleh *S. cerevisiae* dalam bentuk bubuk fermipan selama 48 jam (Kustyawati, dkk., 2013).

Menurut Wibowo (1990) *S. cerevisiae* sangat mudah ditumbuhkan pada berbagai media asalkan terdapat sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, kalsium, vitamin, mineral serta air. Kandungan pati yang terdapat dalam tepung dalam pembuatan tempe diduga dapat dijadikan sumber karbon oleh *S. cerevisiae*. Apabila jumlah sel *S.cerevisiae* tinggi dalam tempe, maka diduga kandungan β -glukan dalam tempe juga tinggi. Hal ini dikarenakan *S. cerevisiae* merupakan khamir uniseluler penghasil β -glukan, karena dinding sel *S. Cerevisiae* tersusun oleh β -(1,3) dan β -(1,6)-glukan, manan, kitin(1-2 %), serta manoprotein yang menyusun sekitar 20-30% dari berat kering dinding sel (Naruemon, dkk.,

2013). Namun belum diketahui jenis dan konsentrasi tepung yang optimal untuk pertumbuhan khamir dan menghasilkan β -glukan tinggi.

D. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Penggunaan tepung tapioka dalam fermentasi tempe mampu meningkatkan pertumbuhan khamir selama fermentasi tempe.
2. Tempe dengan penambahan tepung tapioka pada konsentrasi tertentu mampu menghasilkan kandungan β -glukan yang tinggi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tempe

Tempe adalah produk fermentasi kedelai oleh aktivitas enzimatik kapang *Rhizopus oligosporus* (Kustyawati dkk., 2016). Tempe kedelai merupakan produk makanan hasil fermentasi yang diperoleh dari kedelai kupas yang sudah direbus dan difermentasi menggunakan kapang tertentu, berbentuk padatan kompak dan berbau khas serta bewarna putih atau sedikit keabu-abuan (BSN 2015). Tempe memiliki penampakan bewarna putih dari miselia kapang yang menghubungkan biji-biji kedelai selama proses fermentasi sehingga terbentuk tekstur yang kompak (Steinkraus, 1982). Tempe dengan kualitas baik mempunyai ciri-ciri berwarna putih bersih yang merata pada permukaannya, memiliki struktur yang homogen dan kompak, serta berasa, berbau dan beraroma khas tempe (Winanti dkk., 2014). Proses pembuatan tempe meliputi pencucian kedelai, perebusan, perendaman, pengupasan kulit kedelai, inokulasi, pembungkusan dan fermentasi (Sarwono 2004).

Proses fermentasi tempe dapat meningkatkan daya cerna proteinnya, mempertahankan sebagian besar zat-zat gizi yang terkandung dalam kedelai, serta meningkatkan beberapa macam kadar vitamin B (Muchtadi, 2010). Pertumbuhan

kapang menyebabkan terjadinya pemutusan beberapa ikatan peptida pada protein kedelai sehingga protein kedelai lebih mudah dicerna dan nilai gizinya meningkat. Hifa kapang tumbuh dengan intensif dan membentuk jalinan yang mengikat biji kedelai yang satu dengan biji yang lain sehingga menjadi masa yang kompak dan kuat. Hal ini didukung oleh Nout dan Kiers (2005) yang menyatakan bahwa selama fermentasi tempe, ragi tempe menghasilkan enzim-enzim, diantaranya protease, lipase, berbagai karbohidrase, dan phytase. Enzim-enzim tersebut mendegradasi molekul makro menjadi zat berat molekul rendah, dinding sel dan bahan selular intra yang sebagian dilarutkan berkontribusi pada tekstur yang diinginkan yaitu rasa dan aroma produk.

Proses peragian sangat menentukan kualitas tempe yang akan dihasilkan. Menurut Suhendri dkk., (2006), inokulum yang ditambahkan sebesar 0,2% dari berat bahan baku. Penggunaan ragi tempe dengan jumlah yang banyak menyebabkan waktu fermentasi menjadi terlalu kritis, karena menyebabkan proses fermentasi berlangsung dengan cepat, sedangkan pemakaian ragi tempe dengan jumlah yang kurang menyebabkan mikroba kontaminan dapat tumbuh, karena kapang pada ragi tidak dapat melakukan proses fermentasi secara menyeluruh pada bahan. Penambahan atau pengurangan jumlah ragi tempe akan mempersingkat atau memperpanjang waktu fermentasi (Intan, 2010). Ragi tempe memegang peranan penting dalam pembuatan tempe karena dapat mempengaruhi mutu yang dihasilkan (Kasmidjo, 1990).

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

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 dalam 100 gram

No.	Kandungan Gizi	Jumlah
1	Kalori (kal)	149,00
2	Protein (g)	18,30
3	Lemak (g)	4,00
4	Karbohidrat (g)	12,70
5	Kalsium (mg)	129,00
6	Besi (mg)	10,00
7	Vitamin A (SI)	50,00
8	Vitamin B (mg)	0,17

Sumber : Mahmud dkk., (2005)

Syarat mutu tempe yang digunakan merupakan syarat mutu yang berlaku secara umum di Indonesia berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI 01-3144-2009), seperti tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Syarat Mutu Tempe

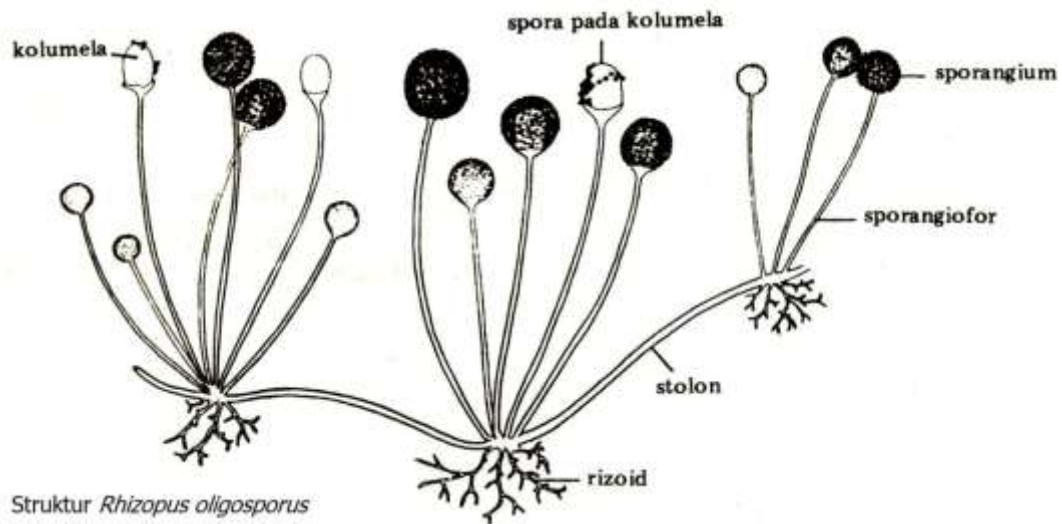
No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Kedaaan		
1.1	Bau	-	Kompak, jika diiris tetap utuh (tidak mudah rontok)
1.2	Warna	-	Putih merata pada seluruh permukaan
1.3	Bau	-	Bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak
2	Kadar air	Fraksi massa %	Maks, 65
3	kadar lemak	Fraksi massa %	Min. 7
4	Kadar protein (Nx5,71)	Fraksi massa %	Min, 15
5	Kadar serat kasar	Fraksi massa %	Maks, 2.5
6	Cemaran logam		
6.1	Kadmium (Cd)	Mg/kg	Maks, 0.2
6.2	Timbal (Pb)s	Mg/kg	Maks, 0.25
6.3	Timah (Sn)	Mg/kg	Maks, 40
6.4	Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maks, 0.03
7	Cemaran arsen (As)	Mg/kg	Maks, 0.25
8	Cemaran mikroba		
8.1	<i>Coliform</i>		Maks, 10
8.2	<i>Salmonella sp.</i>	APM/g	Negatif/25 g

Sumber : Badan Standarisasi Nasional Indonesia (2015)

B. *Rhizopus oligosporus*

Menurut Pawiroharsono (1996), mikroorganisme yang berperan penting dalam proses pembuatan tempe berasal dari jamur genera *Rhizopus sp.* Mikroorganisme ini memiliki koloni heterothalik, tumbuh cepat ditandai dengan bangunan khas seperti stolon (hifa penghubung diantara kelompok sporangiophora), rhizoid (bangunan mirip akar yang tumbuh ke dalam substrat), dan sporangifora

(bangunan khusus yang pada ujungnya terdapat sporangium) yang tumbuh ke atas dengan posisi berlawanan dengan rhizoid. Jumlah spora yang terbentuk sangat banyak dengan ukuran relatif besar, berbentuk oval bersudut, tidak beraturan dan sering berkerat-kerat (*striated*).



Gambar 1. Stuktur *Rhizopus oligosporus* (Sumber :Razor, 2016)

Menurut Fardiaz (1992), struktur morfologi kapang tersusun atas dua bagian yaitu miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan dari hifa. Hifa kapang biasanya berupa serabut-serabut halus seperti kapas yang dapat tumbuh di bawah atau di atas permukaan medium. Pertumbuhan hifa berasal dari spora yang telah melakukan germinasi membentuk *tuba germ* yang akan tumbuh terus membentuk miselium. *Rhizopus oligosporus* berkembang dengan baik pada temperatur 30-35°C dan memiliki ciri-ciri hifa seperti benang berwarna putih sampai kelabu hitam serta tidak bersekat, memiliki rhizoid dan sporangiospora.

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

C. *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu jenis mikroorganisme berupa khamir yang banyak digunakan dalam proses fermentasi. Khamir dapat dibedakan atas dua kelompok berdasarkan sifat metabolismenya yaitu bersifat fermentatif dan oksidatif. Jenis khamir yang bersifat fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol yaitu memecah gula (glukosa) menjadi alkohol dan gas contohnya pada produk roti. Sedangkan khamir yang bersifat oksidatif (respirasi) akan menghasilkan karbon dioksida dan air (Fardiaz, 1992).

Saccharomyces cerevisiae adalah jenis khamir yang dapat bertahan pada suhu rendah 4 – 10°C. *Saccharomyces cerevisiae* tahan terhadap alkohol yang dihasilkannya, tahan terhadap sulfit, dan tergolong jenis khamir osmotoleran. Hampir semua jenis gula sederhana (heksosa) dapat difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*, kecuali slobioasa, laktosa, sarbosa, dan rhamnosa. Kandungan pati akan dirubah menjadi gula sederhana oleh enzim yang ada pada

khamir dan kemudian dirubah menjadi alkohol, asam-asam organik, karbondioksida, dan air (Fardiaz, 1992).

Kemampuan tumbuh sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam fase adaptasi (fase lag) yaitu pada jam ke-0 sampai ke-24, sel beradaptasi dengan kondisi lingkungannya. Pada fase ini mikroba merombak substrat menjadi nutrisi untuk pertumbuhannya. Kemudian pada jam berikutnya yaitu memasuki jam ke-24 sampai jam ke-48 adanya percepatan pertumbuhan sel mikroba yang menandakan bahwa telah memasuki fase pertumbuhan eksponensial (fase log). Fase ini *Saccharomyces cerevisiae* bereproduksi dengan membentuk tunas. Setelah jam ke-48, sel khamir memasuki fase kematian karena metabolit primer yang dihasilkan bersifat racun bagi khamir (Kavanagh 2005).

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme yang berperan penting dalam industri fermentasi dan mampu memfermentasi berbagai karbohidrat. Kemampuan *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh pada pH rendah, mendegradasi pati dan menghasilkan alkohol membuat mikroba ini banyak digunakan dalam industri pangan (Kustyawati dkk., 2013). *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai enzim α -amilase dan glukoamilase yang mempercepat penguraian pati menjadi glukosa dan maltose (Hatmanti, 2000). Enzim α -amilase dan glukoamilase yang dihasilkan khamir, dapat mendegradasi pati. Enzim ekstraseluler, khususnya α -amilase akan memutus ikatan glikosidik $\alpha(1,4)$ yang merupakan penyusun pati (Sari, 2009). Aktivitas enzim α -amilase ini juga mempengaruhi komponen yang terdapat dalam pati yaitu amilosa dan

amilopektin. Enzim tersebut dapat memutus ikatan rantai lurus $\alpha(1,4)$ glikosidik pada amilosa sehingga struktur rantai amilosa menjadi lebih sederhana dan hal ini akan mengakibatkan penurunan kadar amilosa (Mutia, 2011).

S.cerevisiae mempunyai dinding sel yang tersusun atas glukukan, mannan, protein, kitin dan lipid. Bagian paling luar *S.cerevisiae* terdiri terutama dari glukukan. Senyawa glukukan tersebut bertanggung jawab mempertahankan bentuk dari sel *S.cerevisiae*. Bagian dinding sel *S.cerevisiae* yang paling luar terdiri dari mannan yang terikat pada protein. Mannan menggantikan peran kitin dan glukukan. Kitin ditemukan pada pertunasan sel *S.cerevisiae* dalam jumlah yang sangat sedikit sepanjang bagian dalam dinding sel. Begitu pula dengan senyawa lipid yang terdapat pada lapisan dalam dinding sel berfungsi untuk mencegah kekeringan (Gandjar dkk.,2006).

Saccharomyces cerevisiae merupakan galur potensial penghasil B-glukan, karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas β -glukan. β -glukan merupakan homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan β -(1,3) dan β -(1,6)-glukosida (Ha dkk., 2002). B-glukan sel ragi khas terdiri dari ~ 30-45% β -1,3-glukan dan ~5-10% dari β -1,6-glukan (Pengkumsri dkk., 2017). β -1,3-D-glukan berperan dalam pemeliharaan bentuk dinding sel ragi dan kekakuan (Lessage dan Bussey, 2006), sedangkan β -1,6-D-glukan sebagai polisakarida yang menghubungkan bersama semua polisakarida dinding sel (Aimaniada dkk., 2009). β -glukan dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Hetland dkk., 2003).

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

D. β -glukan

β -glukan merupakan homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan β -(1,3) dan β -(1,6)-glukosida (Ha dkk., 2002) dan banyak ditemukan pada dinding sel beberapa bakteri, tumbuhan, dan khamir (Hunter dkk., 2002). B-glukan terbukti secara ilmiah sebagai *biological defense modifier* (BDM) dan termasuk kategori *generally recognized as safe* (GRAS) menurut FDA, serta tidak memiliki toksisitas atau efek samping (Nurfajarwati, 2006). B-glukan memiliki berbagai aktivitas biologis sebagai antitumor, antioksidan, antikolesterol, anti penuaan dini, dan peningkat sistem imun (Kusmiati 2006). Selain itu, senyawa ini dapat juga

dimanfaatkan sebagai zat aditif dalam industri makanan (Nurfajarwati, 2006). β -glukan memiliki berbagai sifat fungsional yang dapat digunakan dalam industri makanan untuk persiapan sup, saus, minuman, dan produk makanan lainnya di mana β -glukan bertindak sebagai zat penstabil, penebalan, dan pengemulsi (Pengkumsri dkk., 2016)

β -glukan berfungsi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menurunkan kolestrol. β -glukan juga memiliki efek antitumor dan berpotensi sebagai antioksidan yang melindungi makrofag darah dari serangan radikal bebas, serta mampu menyembuhkan luka. β -glukan memiliki beberapa sifat yang menguntungkan bagi tubuh, dimana β -glukan merupakan bahan alami, tidak beracun, tidak memiliki efek samping yang dapat merugikan, membantu memperbaiki jaringan dan regenerasi, mengaktivasi dan memperkuat imun, serta dapat meningkatkan keaktifan obat antibioktik dan antiviral (Yenti, 2005). β -glukan juga dikenal karena beberapa efek yang menguntungkan pada berbagai penyakit dan gangguan seperti kanker kolorektal (Dongowski dkk., 2002 dalam Pengkumsri dkk., 2016), pencegahan penyakit jantung koroner (Wang dkk., 2002), kadar glukosa darah dan resistensi insulin, kadar kolesterol serum, dan mikroflora usus. Menurut Volman, dkk., (2008) dalam Pengkumsri dkk., (2016), B-glukan merupakan senyawa imunomodulator yang kuat.

β -glukan memiliki fungsi sebagai bioaktivitas antikanker mekanisme penghambatan perkembangan sel kanker yang dilakukan oleh beta glukan dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. β -glukan mengambat

pertumbuhan kanker secara langsung dilakukan dengan cara β -glukan mengaktivasi makrofag, neutrofil, dan natural killer cells dan memecah dinding sel kanker, sehingga pertumbuhan sel kanker terhambat. Penghambatan pertumbuhan sel kanker oleh β -glukan juga dilakukan secara tidak langsung dimana β -glukan yang menempel pada makrofag menstimulasi makrofag membentuk Cytotoksik T Limposit yang kemudian menghasilkan substansi kimia antikanker lain yang dapat menghancurkan sel kanker (Noor, 2010).

E. Tepung Terigu

Tepung terigu adalah tepung atau bubuk halus yang berasal dari bulir gandum, dan digunakan sebagai bahan dasar pembuat kue, mi dan roti. Kata terigu dalam bahasa Indonesia diserap dari bahasa Portugis, "*trigo*" yang berarti "gandum". Tepung terigu mengandung tinggi zat pati, yaitu karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air. Tepung terigu juga mengandung protein dalam bentuk gluten, yang berperan dalam menentukan kekenyalan makanan yang terbuat dari bahan terigu. Tepung terigu juga berasal dari gandum, bedanya tepung terigu berasal dari biji gandum yang dihaluskan, sedangkan tepung gandum utuh (*whole wheat flour*) berasal dari gandum beserta kulit arinya yang ditumbuk (Abdillah, 2012).

Banyak atau sedikitnya gluten yang didapat tergantung dari berapa banyak jumlah protein dalam tepung itu sendiri, semakin tinggi proteinnya maka semakin banyak jumlah gluten yang didapat, begitu pula sebaliknya, jumlah energi yang dibutuhkan sangat mempengaruhi jumlah gluten yang dihasilkan. Gluten akan

rusak apabila jumlah kadar abunya terlalu tinggi, waktu pengadukan adonan kurang, atau waktu pengadukan adonan berlebih. Gluten akan lunak dan lembut apabila diberikan gula, diberikan lemak, diberikan asam (proses fermentasi) (Sufi, 1999).

Tabel 3. Kandungan Gizi Tepung Terigu per 100 gram

No	Kandungan Gizi	Satuan	Jumlah per 100 g
1	Air	g	10.59
2	Energy	kcal	354
3	Protein	g	9.89
4	Total lemak	g	0.97
5	Abu	g	4.33
6	Karbohidrat	g	74.22
7	Serat kasar	g	2.7

Sumber : USDA, 2018

Tepung terigu berdasarkan kandungan protein digolongkan tiga macam yaitu:

1. *Hard flour* (terigu protein tinggi)

Tepung terigu yang mempunyai kadar gluten antara 12%-13%. Tepung ini diperoleh dari gandum keras (*hard wheat*). Tingginya kadar protein menjadikan sifatnya mudah dicampur, daya serap air tinggi, elastis dan mudah digiling. Karakteristik ini menjadikan tepung terigu *hard wheat* sangat cocok untuk bahan baku roti, mie dan pasta karena sifatnya elastis dan mudah difermentasikan.

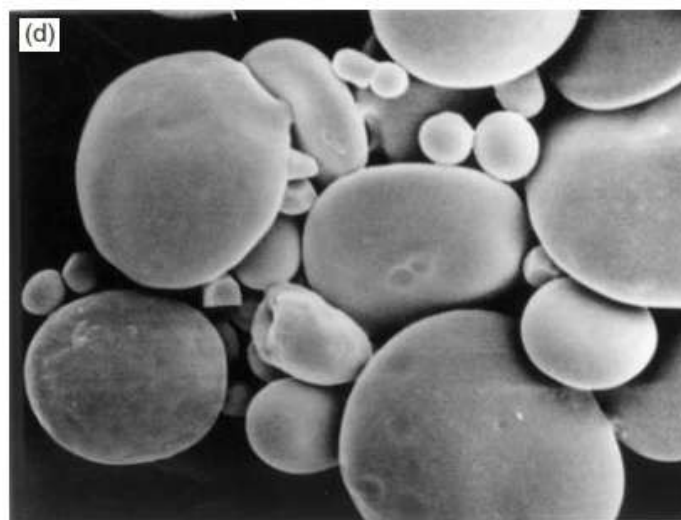
2. *Medium flour* (terigu protein sedang)

Jenis terigu *medium wheat* mengandung 10%-11% protein gluten. Sebagian orang mengenalnya dengan sebutan *all-purpose flour* atau tepung serbaguna. Dibuat dari campuran tepung terigu *hard wheat* dan *soft wheat* sehingga

karakteristiknya diantara kedua jenis tepung tersebut. Tepung ini cocok untuk membuat adonan fermentasi dengan tingkat pengembangan sedang, seperti donat, bakpau, wafel atau aneka cake dan muffin.

3. *Soft flour* (terigu proterin rendah)

Tepung ini dibuat dari gandum lunak dengan kandungan protein gluten 8%-9%. Sifatnya, memiliki daya serap air yang rendah sehingga akan menghasilkan adonan yang sukar diuleni, tidak elastis, lengket dan daya pengembangannya rendah. Cocok untuk membuat kue kering (*cookies/biscuit*), pastel dan kue-kue yang tidak memerlukan proses fermentasi. Jenis tepung lunak ini memiliki persentase gluten yang rendah, adonan kurang elastis dan tidak baik menahan gas. Tetapi tepung lunak ini memerlukan energi yang lebih kecil dalam pencampuran dan pengocokan adonan dibandingkan dengan tepung jenis *hard flour*.



Gambar 2. Pati tepung terigu (sumber : Miller dan Whistler. 2009)

F. Tepung Tapioka

Tapioka merupakan pati yang diekstrak dari umbi singkong. Juliana (2007) melaporkan rendemen pati singkong (tapioka) adalah 11.79% dengan kadar air 6.15% dari berat kering. Nilai pati pada singkong dipengaruhi oleh usia atau kematangan dari tanaman singkong. Komposisi kimia tepung tapioka dapat dilihat pada Tabel 4.

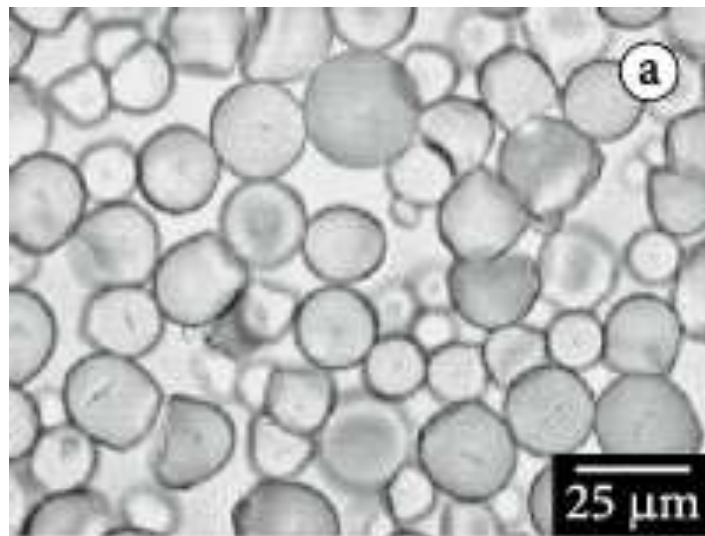
Tabel 4. Kandungan gizi tapioka dalam 100 g

No	Kandungan Gizi	Satuan	Jumlah per 100 g
1	Air	g	10.99
2	Energy	kkal	358
3	Protein	g	0.19
4	Total lemak	g	0.02
5	Abu	g	0.11
6	Karbohidrat	g	8.69
7	Serat kasar	g	0.9

Sumber : USDA, 2018

Rahman (2007) melaporkan kadar pati pada tepung tapioka berkisar antara 72-81%bb dan kadar abu pada tapioka berkisar antara 0.01-0.04%bb. Menurut Moorthy (2004), kadar amilosa tepung tapioka berada pada kisaran 20-27% dari kadar patinya dan kadar lipid pada tapioka sangat rendah (<0.1%). *The Tapioca Institute of America* (TIA) menetapkan standar pH tepung tapioka adalah 4.5-6.5 (Radley, 1976), sedangkan nilai keasaman tapioka berdasarkan SNI 01-3451-1994 ditetapkan dalam bentuk derajat asam, yaitu maksimal sebesar 3 NaOH 1N/100g. Menurut Moorthy (2004), ukuran granula tapioka menunjukkan variasi yang besar yaitu sekitar 5-40 μm dengan bentuk bulat dan oval. Variasi tersebut dipengaruhi

oleh varietas tanaman singkong dan periode pertumbuhan pada musim yang berbeda. Sedangkan Charley (1982) menyebutkan bahwa diameter granula pati tapioka berkisar antara 12-25 μm . Granula tapioka berbentuk mangkuk (cup) dan sangat kompak, tetapi selama pengolahan granula tersebut akan pecah menjadi komponen-komponen yang tidak teratur bentuknya (Swinkels, 1985).



Gambar 4. Pati singkong (sumber : Miller dan Whistler. 2009)

III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian ,
Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian,
Fakultas Pertanian dan Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi,
Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2019
sampai dengan Juni 2019.

B. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kultur murni *Rhizopus oligosporus* FNCC 6010 dan *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3012 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, UGM Yogyakarta, kacang kedelai jenis impor dengan merek dagang Soybean USA No. 1 yang diperoleh dari Gunung Sulah di Bandar Lampung, , tepung terigu merk bogasari (Cakra Keembar), tepung tapioka merk Pak Tani Gunung, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Malt Extract Agar* (MEA), aquadest, *chloramphenicol*, NaOH 0,7 N, buffer fosfat pH 4 dan pH 7, $Pb(C_2H_3O_2)_2$, H_2SO_4 , C_6H_5OH , CH_3COOH , $Na_2C_2O_4$, NaCl, alkohol 70% dan aluminium foil.

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

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) faktorial dengan tiga kali ulangan. Faktor pertama adalah jenis tepung (T) yang digunakan untuk pembuatan tempe, yaitu tepung terigu (T1) dan tepung tapioka (T2). Faktor kedua adalah konsentrasi tepung (K) % (b/b), yaitu 0% (K1), 2.5% (K2), 5% (K3), 7.5 % (K4) dan 10 % (K5). Kombinasi perlakuan jenis dan konsentrasi tepung disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Kombinasi perlakuan jenis dan konsentrasi tepung.

T \ K	K1	K2	K3	K4	K5
T1	T1K1	T1K2	T1K3	T1K4	T1K5
T2	T2K1	T2K2	T2K3	T2K4	T2K5

Keterangan :

- T1K1 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung terigu 0 % (b/b)
- T1K2 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung terigu 2.5 % (b/b)
- T1K3 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung terigu 5 % (b/b)
- T1K4 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung terigu 7.5 % (b/b)
- T1K5 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung terigu 10 % (b/b)
- T2K1 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung terigu 0 % (b/b)
- T2K2 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung Tapioka 2.5 % (b/b)
- T2K3 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung Tapioka 5 % (b/b)
- T2K4 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung Tapioka 7.5 % (b/b)
- T2K5 : Kedelai + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* + Tepung Tapioka 10 % (b/b)

Kedelai yang telah diinokulasi dengan inokulum *R. oligosporus* dan *S. Cerevisiae* ditambahkan tepung sesuai perlakuan . Parameter yang diamati yaitu : total kapang, total khamir, nilai pH, dan kandungan β -glukan pada lama fermentasi 36 jam. Kehomogenan data yang diperoleh diuji dengan uji *Bartlett* dan kemenambahan data diuji dengan uji *Tuckey*. Data dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan pembuatan biakan *Saccharomyces cerevisiae*

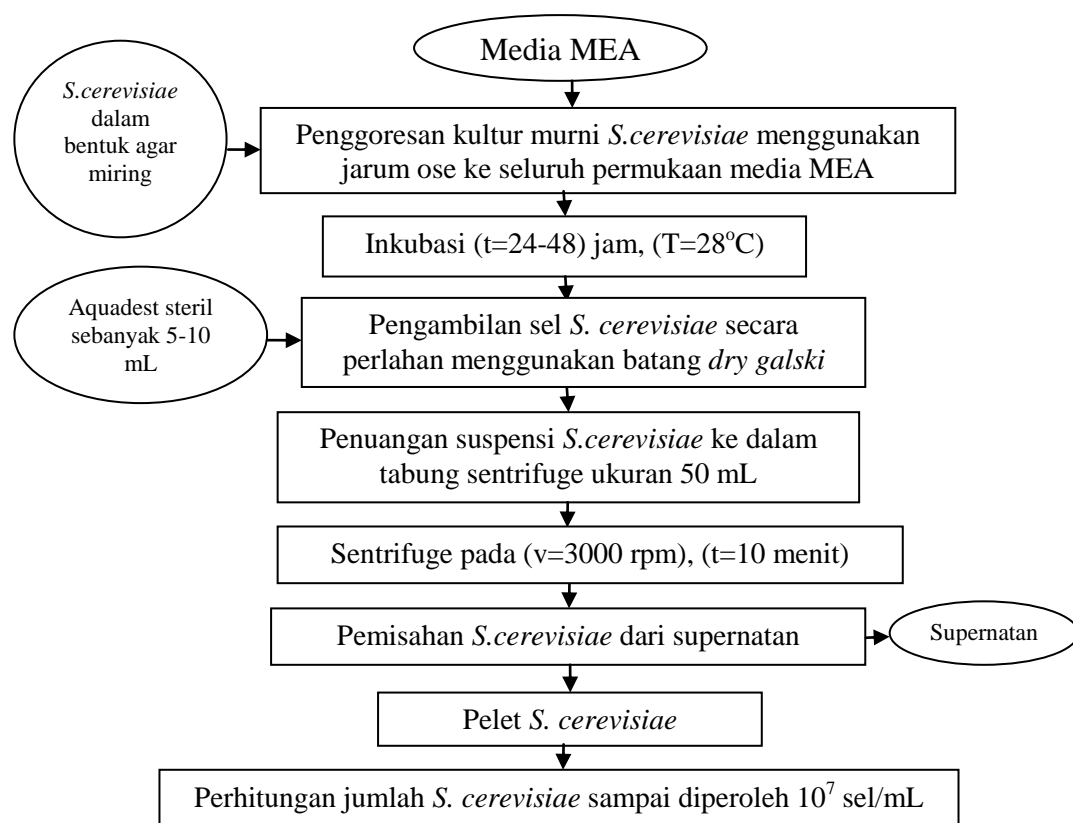
a. Pembuatan media MEA (*Malt Extract Agar*)

Sebanyak 5 g media *Malt Extract Agar* dilarutkan ke dalam aquadest sebanyak 100 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hotplate sampai media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan sebanyak 20-25 mL, dibiarkan sampai media memadat

b. Pemiakan *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae dari bentuk agar miring dibiakan ke dalam media *Malt Extract Agar* (MEA) menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi, selanjutnya diinokulasi dengan metode cawan gores. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C sehingga diperoleh *Saccharomyces cerevisiae* murni dalam bentuk koloni. Koloni yang telah tumbuh dilakukan pemanenan dengan

menambahkan aquades steril sebanyak 5-10 mL dan dilakukan pengambilan secara perlahan menggunakan batang *dry galski*. Suspensi *S. cerevisiae* yang telah diperoleh, dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge ukuran 50 mL. Tabung sentrifuge selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan kultur murni dan supernatan. Supernatan pada tabung sentrifuge dibuang dan didapatkan pellet kultur murni *S. cerevisiae*. Jumlah sel *S. cerevisiae* dihitung menggunakan *haemocytometer* sampai diperoleh *S. cerevisiae* berjumlah 10^7 sel/mL. Tahapan tahapan persiapan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir pembiakan *Saccharomyces cerevisiae*

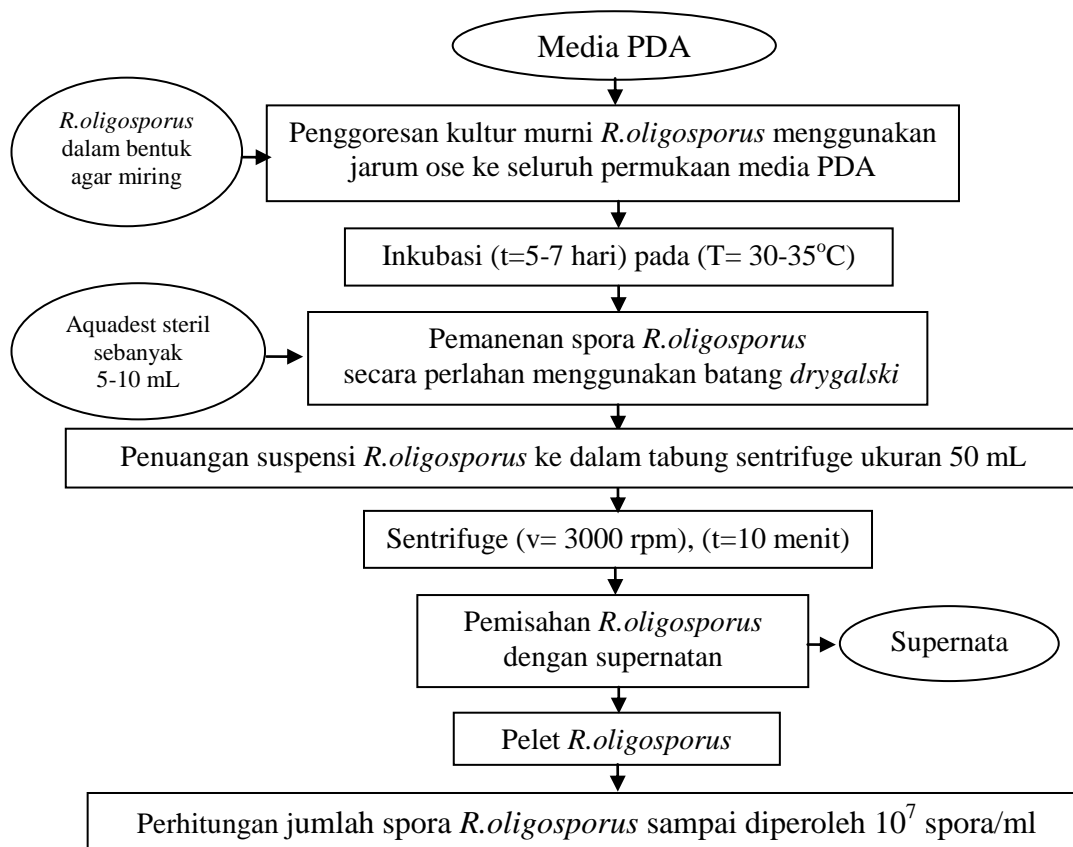
2. Persiapan pembuatan biakan *R. oligosporus*

a. Pembuatan media Potato Dextrose Agar (PDA)

Sebanyak 3,9 g media PDA ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan sebanyak 20-25 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

b. Pembiakan *Rhizopus oligosporus*

R. oligosporus dari bentuk agar miring dibiakan ke dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi, selanjutnya diinokulasi ke seluruh permukaan media dengan metode cawan gores. Kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 30-35°C sehingga diperoleh *R. oligosporus* murni dalam bentuk koloni di dalam media. Koloni-koloni *R. oligosporus* tersebut dipanen menggunakan *dry galski* dengan menambahkan akuades steril sebanyak 5-10 mL. Selanjutnya, spora *R. oligosporus* disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan pada tabung sentrifuge dibuang dan didapatkan pellet kultur murni *R. oligosporus*. Jumlah sel *R. oligosporus* dihitung menggunakan *haemocytometer* sampai diperoleh *R. oligosporus* berjumlah 10^7 spora/mL. Tahapan tahapan persiapan inokulum *R. oligosporus* dapat dilihat pada Gambar 5.



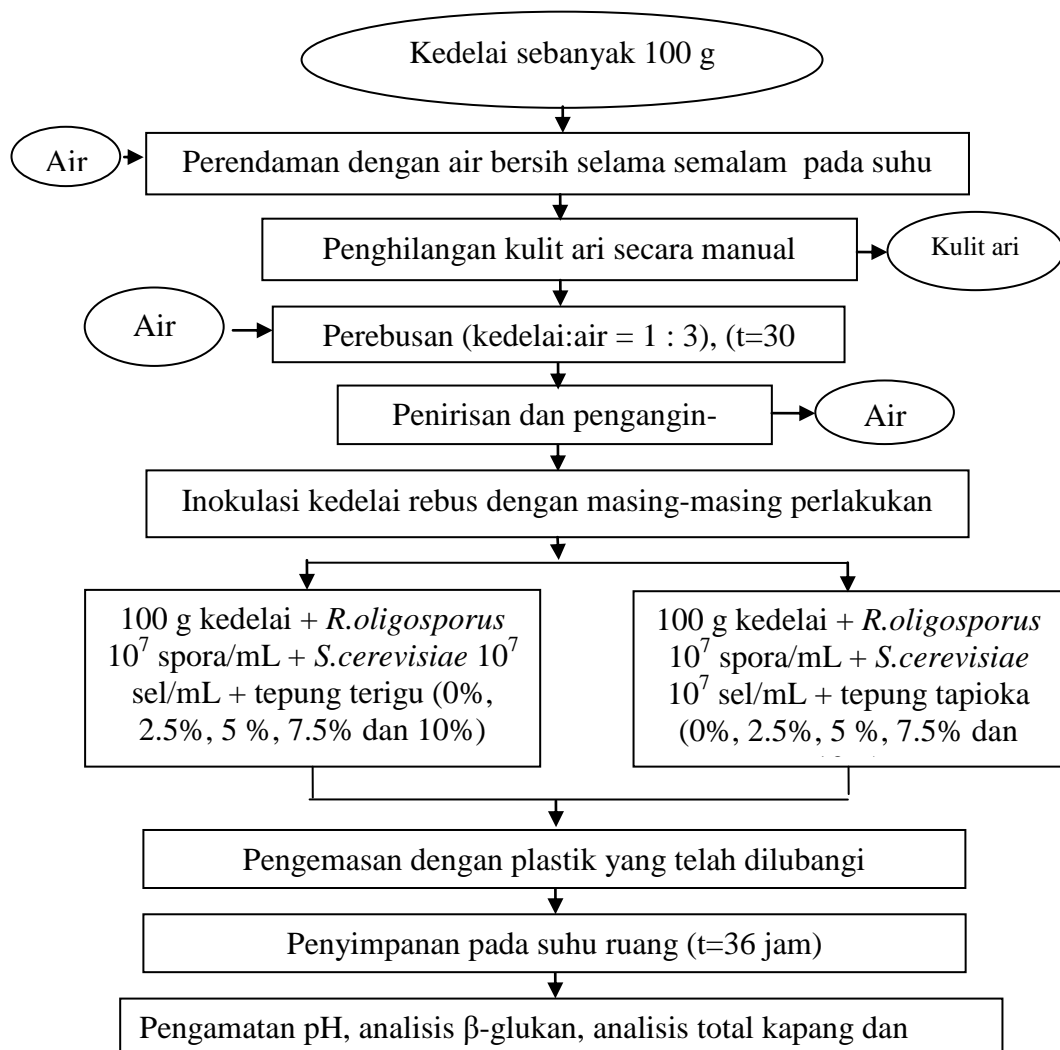
Gambar 5. Diagram alir persiapan inokulum *R. oligosporus*

E. Pembuatan Tempe Kedelai

Proses pembuatan tempe mengikuti prosedur Kustyawati (2009). Sebanyak 100 g kedelai direndam dalam air bersih pada suhu ruang selama semalam. Kemudian kedelai yang telah direndam dihilangkan kulit arinya secara manual. Selanjutnya kedelai direbus menggunakan air bersih dengan perbandingan 1 : 3 (kedelai : air) selama 30 menit, ditiriskan lalu diangin-anginkan sampai suhu kedelai mencapai suhu ruang dan siap diinokulasi dengan inokulum sesuai dengan perlakuan.

Tahap inokulasi dilakukan dengan cara mencampurkan setiap 100 g kedelai rebus dengan 1 mL suspensi 10⁷ spora/mL *R. Oligosporus* + 1 mL suspensi 10⁷ sel/mL

S. cerevisiae. Selanjutnya kedelai yang telah diinokulasi ditambahkan tepung sesuai perlakuan, kemudian dikemas dalam kemasan plastik yang telah dilubangi secara teratur untuk tujuan aerasi dan diinkubasi, kemudian dilakukan pengamatan terhadap nilai pH tempe, jumlah kapang dan khamir, dan kandungan β -glukan pada lama fermentasi 36 jam. Diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pembuatan tempe kedelai (Sumber : Kustyawati (2009) yang telah dimodifikasi)

F. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap tempe kedelai yang diinokulasi dengan *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* dengan penambahan tepung sesuai dengan perlakuan yang difermentasi selama 36 jam. Pengamatan yang dilakukan meliputi: analisis nilai pH, pengamatan mikroorganisme yaitu jumlah total kapang dan total khamir dan kandungan β -glukan.

1. Derajat keasaman (pH) (AOAC, 2005)

Nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter menurut prosedur AOAC (2005). Nilai pH diukur pada suhu yang sama. Sebelum pengukuran, pH-meter distandarisasi dengan menggunakan buffer standar pH 4 dan pH 7. Pengukuran dilakukan dengan cara elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu. Sampel dimasukkan ke dalam gelas piala 100 ml kemudian elektroda dicelupkan hingga tenggelam pada larutan sampel dan dibiarkan kurang lebih satu menit hingga diperoleh angka yang stabil dan dicatat nilainya. Nilai pH diukur secara duplo.

2. Analisis β -glukan (Kusmiati, dkk., 2007)

Pengujian β -glukan dilakukan mengikuti prosedur Kusmiati, dkk., (2007). Setiap sampel kedelai yang telah diinokulasi dengan nokulum sesuai perlakuan, dilakukan pengujian terhadap kandungan β -glukan. Pengujian dilakukan dengan mengambil 3 g sampel tempe kering kemudian ditambahkan NaOH 0,7 N 30 mL. Selanjutnya dihidrolisis selama 6 jam dengan suhu 75°C. Kemudian didapat larutan keruh dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 25°C

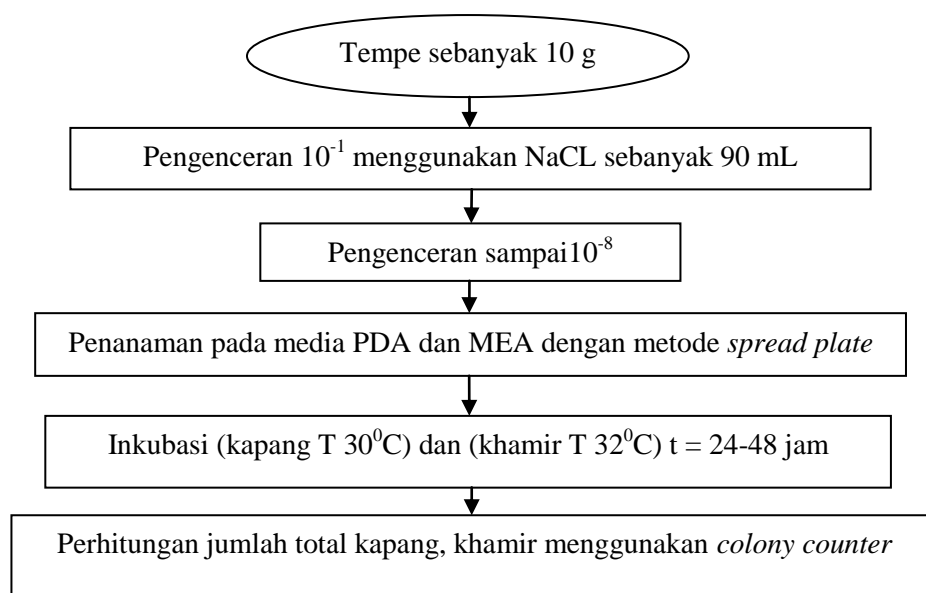
selama 30 menit. Selanjutnya supernatan dibuang, dan didapat residu yang kemudian dicuci dengan 30 mL larutan asam asetat 0,5 M dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 25°C selama 30 menit kemudian supernatan dibuang, pencucian dengan asam asetat tersebut dilakukan sebanyak tiga kali. Kemudian residu dicuci dengan 20 mL aquadest dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Pencucian dengan aquadest dilakukan sebanyak dua kali.

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

3. Perhitungan jumlah kapang dan khamir menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) (Kustyawati (2009))

Perhitungan jumlah total kapang dan khamir pada tempe dilakukan dengan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*) dengan media *Potato Dextrose Agar*

(PDA) untuk kapang dan media *Malt Extract Agar* (MEA). Perhitungan jumlah kapang dan khamir ini dilakukan pada fermentasi 36 jam. Masing masing tempe diambil sampelnya dan dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-8} secara. Persiapan sampel pengujian mengikuti metode Kustyawati (2009), sebanyak 10 gram sampel tempe dicampur dengan 90 mL NaCl 0.1 %, lalu dihomogenkan. Setelah itu, dibuat seri pengenceran sampai konsentrasi tertentu, selanjutnya dilakukan penanaman kapang dan khamir dengan metode *spread plate*. Inkubasi kapang dilakukan pada suhu 30°C dan inkubasi khamir dilakukan pada suhu 32°C selama 24-48 jam. Diagram alir perhitungan jumlah total kapang dan khamir disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram Alir Penghitungan jumlah kapang dan khamir pada tempe (Sumber : Lay, dkk., (1994) dimodifikasi.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Penambahan tepung terigu dan tapioka pada berbagai konsentrasi mempengaruhi pertumbuhan khamir selama fermentasi tempe, semakin tinggi konsentrasi tepung yang ditambahkan maka semakin tinggi pula jumlah sel khamir, dengan jumlah khamir tertinggi yaitu pada perlakuan tepung tapioka 10 % sejumlah 9.503 log cfu/g.
- 2) Penambahan tepung dalam pembuatan tempe dengan inokulum murni *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* berpengaruh terhadap kandungan β -glukan yang dihasilkan. Kandungan β -glukan tertinggi dihasilkan pada perlakuan penambahan tepung tapioka 10% dengan kandungan β -glukan sebesar 0.707 % (b/b)
- 3) Penambahan tepung 5 % berbeda nyata terhadap total khamir, total kapang dan kandungan β -glukan, dan berbeda tidak nyata pada tepung yang berbeda dengan konsentrasi yang sama (0 %, 2.5 % 7.5 % dan 10 %). Peningkatan konsentrasi tepung berbeda nyata terhadap total khamir, total kapang dan kandungan β -glukan

B. Saran

Saran yang diajukan pada penelitian ini adalah perlu adanya penelitian lanjutan mengenai pengujian organoleptik pada tempe yang dihasilkan serta kandungan proksimat pada perlakuan terbaik dan penambahan biomasa *S. cerevisiae* (yang telah dimatikan) dalam pembuatan tempe.

DAFTAR PUSTAKA

- Aimaniada, V., C. Clavaud, C. Simenel, T. Fontaine, M. Delepierre, dan J.P. Latage. 2009. Cell Wall (1→6)-β-D-glucan of *Saccharomyces cerevisiae* – Structural Characterization and In Situ Synthesis. *The Journal of Biological Chemistry* 284 : 13401-13412.
- Amalia, R. 2018. Kajian Penggunaan Tepung Terigu dan Suhu Rendah Penyimpanan terhadap Masa Simpan dan Sifat Sensori Tempe Kedelai Probiotik dengan *Lactobacillus casei*. *Skripsi*. Unila. Bandar Lampung.
- 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.
- Y.N. Anggraeny dan U. Umiyasih. 2009. Pengaruh Fermentasi *Saccharomyces Cerevisiae* Terhadap Kandungan Nutrisi Dan Kecernaan Ampas Pati Aren (*Arenga Pinnata* Merr.). Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis. Association of Official. Analytical Chemists*. Benjamin Franklin Station. Washington.
- 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.
- Aruben, Novita W. 2009. Peningkatan Konsentrasi Senyawa Fenolik Antioksidan dari Dedak dengan Cara Fermentasi. *Skripsi*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.

- Astuti, Sussi. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13 (2)
- Astuti, P.N. 2009. Sifat Organoleptik Tempe Kedelai yang Dibungkus Plastik Daun pisang dan Daun Jati. (Karya Tulis Ilmiah). Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Azizah, N., A.N. Al-Baarri & S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1:2 (72-77).
- Bamforth, C. W. 2005. *Food, Fermentation and Microorganism*. Blackwell Publishing. USA.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia 01-3144-2009. *Tentang syarat mutu tempe*
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 3144-2015 *Tempe Kedelai*. Badan Standardisasi Nasional.
- Bradbury, J.H dan Holloway, W.D, 1988. *Chemistry of Tropical Root Crops: Significance for Nutrition and Agriculture in the Pacific*. Australian Centre for international Agricultural Research, Canberra
- Buckle, K. A., R.A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wotton, 1987. *Ilmu Pangan*. Penerjemah H Purnomo dan Adiono. UI – Press, Jakarta.
- Budiono, R.A. 2016. Pengaruh Jenis Kapang Terhadap Aktivitas Fermentasi Tempe Saga Pohon (*Adenantha Pavonina L.*) *Skripsi*. UNISH. Jakarta
- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Bumi Aksara. Bandung.
- Carlson, M. 1987. Regulation of Sugar Utilization in *Saccharomyces* Species. *Journal of Bacteriology*. vol. 169. no. 11, hal 4873-4877.
- Charley, H. 1982. *Food Science*. John Wiley and Sons, Inc., New York

- Cheeseman, I. M, and R. M. Brown, jr. 2000. *Microscopy of Curdlan Structure*. Depement of Botany. The University of Texas. Austin.
- Delatte, S. J., J. Evans, A. Hebra, W. Adamson, H. B. Othersen, And E.P. Tagge. 2001. *Journal Pediatritional. Surg.* 36 :113.
- Dwinaningsih, E.A. 2010. Karakteristik Kimia dan Sensori Tempe dengan Variasi Bahan Baku Kedelai/Beras dan Penambahan Angkak serta Variasi Lama Fermentasi. (*Skripsi*). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Efriwati, A. Suwanto, G. Rahayu, dan L. Nuraida. 2013. Populations Dinamic of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB)during Tempeh Production. *Hayati Journal of Biosciences* 20 (2) : 57-64. DOI: 10.4308/hjb.20.2.57
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fatimah. 2018. Pola Pertumbuhan Khamir dan Aktivitas Antibakteri pada Tempe dengan Penambahan *Saccharomyces Cerevisiae*. Skripsi. Unila. Bandar Lampung
- Fatimah, N. dan R. Agustini. 2016. Perbandingan Kualitas Yeast Hydrolysate Enzymatic (YHE) dalam Variasi Media Fermentasi. *UNESA Journal of Chemistry*. Vol 5. No.1. Hal 67-76.
- Feng XM. 2006. Microbial Dynamics During Barley Tempe Fermentation. *Thesis*. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Departement of Microbiology. Uppsala: Swedish University.
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W., dan Octari, A, 2006. Mikologi Dasar dan Terapan, 18-19. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta
- Gultom, U.Y. 2009. Kajian Penambahan Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Kandungan Nutrisi dan Sifat Organoleptik Tempe. (*Skripsi*).Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ha, C., K. Lim, Y. Kim, S. Lim, C. Kim, dan H. Chang. 2002. Analysis of AlkaliSoluble Glucan Produced by *Saccharomyces cerevisiae* Wild-Type and Mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58 (3): 370-377.

- Halimatuddahlia. 2004. *Pembuatan Bioetanol Dari Berbagai Proses*. Universitas Sumatera Utara. Digital Library.
- Haryoko, M. dan N. Kurnianto. 2006. Pembuatan Tempe Saga (*Adenantha pavonia L.*) Menggunakan Ragi Tepung Tempe dan Ragi Instan. (Makalah Seminar Penelitian). Universitas Diponegoro. Semarang. 23 hlm.
- Hermana dan M. Karmini. 1996. *Pengembangan Teknologi Pembuatan Tempe*. Yayasan Tempe Indonesia. Jakarta.
- Hetland, G., E. Johnson, D.M. Eide, B. Grinde, A.B.C. Samuelsen, and H. G. Wiker. 2013. Antimicrobial effects of β -glucans and pectin and of the *Agaricus blazei* Based Mushroom Extract, AndoSan T. Examples of Mouse Models for Pneumococcal, Fecal Bacterial, and Mycobacterial Infections. Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them. *Science, Technology and Education (A. Méndez-Vilas, Ed.)*. Formatex. 889-898.
- Hunter, K.W.Jr., R.A. Gault, and M.D. Berner. 2002. Preparation of Microparticulate β -Glucan from *Saccharomyces cerevisiae* for Use in Immune Potentiation. *Letters in Applied Microbiology*. 35 (4): 267-269.
- Ibrahim, F.S., Babiker, E.E., Yousif, N.E. dan el Tiney, A.H. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristic of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chemistry* 92: 285-292.
- Intan, W. R. 2010 . Karakteristik Sensorik, Nilai Gizi dan Antioksidan Tempe Kacang Gude dan Tempe Kacang Tunggak dengan Berbagai Variasi Waktu Fermentasi. (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Sumatra.
- Intan, W. R. 2010 . Karakteristik Sensorik, Nilai Gizi dan Antioksidan Tempe Kacang Gude dan Tempe Kacang Tunggak dengan Berbagai Variasi Waktu Fermentasi. (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Sumatra.
- Jordan, F.M. 2001. *Betaglukan with four immunology patent*, Nutritional Supply Corporation, www.Athomes web.

- Juliana, R. 2007. Resistant Starch Tipe III dan Tipe IV Pati Singkong (*Manihot esculanta Crantz*), Suweg (*Amorphopallus campanulatus*), dan Ubi Jalar (*Ipomea batatas L.*) sebagai Prebiotik. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kasmidjo, R. B. 1990. *Tempe: Mikrobiologi Dan Biokimia Pengolahan Serta Pemanfaatannya*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Kavanagh, Kevin. 2005. *Fungi Biology and Applications*. John Willey & Sons Ltd. England.
- Kiers, J.L., J.C. Meijer, M.J.R. Nout, F.M. Rombouts, M.J.A. Nabuurs, dan J.V.Meulen. 2003. Effect of Fermented Soya Beans on Diarrhoea and Feed Efficiency in Weaned Piglets. *Journal of Applied Microbiology* 95 : 545–552.
- Kusmiati., F. Rachmawati, S. Siregar, S. Nuswantara, dan A. Malik. 2006. Produksi Beta-1,3 glukkan dari *Agrobacterium* dan Aktivitas Penyembuhan Luka Terbuka pada Tikus Putih. *MAKARA, SAINS*. 10(1): 24-29
- Kusmiati., S. R. Tamat., E. Jusuf., R. Istiningsih. 2007. Produksi –Glukan Dari Dua Galur *Agrobacterium* sp. Pada Media Mengandung Kombinasi Molase Dan Urasil. *Jurnal Biodiversitas*.8(1) 123-129.
- Kusnandar, 2010. Kimia Pangan (Komponen Makro). Dian Rakyat. Jakarta.
- Kustyawati, M.E. 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. *J. Agritech* 29 (2) 64-70.
- Kustyawati, M.E. 2010. Peranan Khamir dalam Pengolahan Pangan. Universitas Lampung Press. Bandar Lampung.
- Kustyawati, M.E., M. Sari, dan T. Haryati. 2013. Efek Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. *Jurnal Agritech* 33 (3) : 281-287.

- Kustyawati, M.E. 2014. Pengawetan Tempe Menggunakan Teknologi Karbon Dioksida Bertekanan Tinggi. (*Disertasi*). Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Kustyawati, M.E., F. Pratama, D. Saputra, dan A. Wijaya. 2014. Modifikasi Warna, Tekstur dan Aroma Tempe Setelah diproses dengan Karbondioksida Superkritik. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 25 (2) : 168-175.
- Kustyawati, M.E., O. Nawansih, dan S. Nurdjannah. 2016. Profile of Aroma Compounds and Acceptability of Modified Tempeh. *International Food Research Journal* 24 (2) : 734-740.
- Kustyawati, M.E. 2016. *Signifikansi Khamir dalam Pangan*. Mikroorganisme-Fungsi. Planxia. Yogyakarta.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikrobial di Laboratorium. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lee, J.N., D.Y. Lee, I.H. Ji, G.E. Kim, H.N. Kim, J. Sohn, S. Kim, dan C.W. Kim. 2001. Purification of Soluble β -Glucan with Immuneenhancing Activity from the Cell Wall of Yeast. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 65(4) : 837-841.
- Lee, J.N. 2001. Purification of Soluble β -Glucan with Immuno-Enhancing activity from The Cell Wall of Yeast. *Biosci. Biotechnol. Biochemical* 65: 837-841.
- 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.
- Melliawati, R., Rohmatussolihat dan F. Octavina. 2006. Seleksi Mikroorganisme Potensial untuk Fermentasi Pati Sagu. *Biodiversitas*. Vol. 7, No. 2, hal. 101-104.
- Moorthy, S.N. 2004. Tropical sources of starch. Di dalam: Eliasson, A. C. (ed). *Starch in Food : Structure, Function, and Application*. CRC press, Boca Raton, Florida.

- Muchtadi, D. 2010. *Kedelai Komponen untuk Kesehatan*. Alfabeta. Bandung
- Mulyowidarso, R.K., Fleet, G.H. dan Buckle, K.A. (1989). The microbial ecology of soybean soaking for tempe production. *International Journal of Food Microbiology* 8:35-46.
- Mursyid. 2014. Kandungan Zat Gizi dan Nilai Gizi Protein Tepung Tempe Kedelai Lokal dan Impor serta Aktivitas Antioksidannya. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Niken, H.A. dan D. Adepristia. 2013. Isolasi Amilosa Dan Amilopektin Dari Pati Kentang. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. Vol. 2, No. 3, Halaman 57-62
- Nicolasi R. 1999. Plasmalipid Changes After Supplementation with Beta-glucan Fiber from Yeast. *Am Journal Clin Nutrition*. 70 : 208-212.
- Noor, L. 2010. Isolasi dan Karakterisasi β -Glukan dari Tubuh Buah Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) dengan Metode Spektroskopi UV-Visibel dan FTIR. (Skripsi). Universitas Islam Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Nout, M. J. R. and J. L. Kiers. 2005. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millenium. *Journal of Applied Microbiology* 98:789–805.
- Nurfajarwati, W. 2006. Produksi β -Glukan dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan Variasi Sumber Nitrogen. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pawiroharsono, S. 1996. Aspek mikrobiologi tempe. *Dalam: Sapan dan Soetrisno, N. Bunga Rampai Tempe Indonesia*. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta. 169-204.
- Pengkumsri, N., B.S. Sivamaruthi, S. Sirilun, S. Peerajan, P. Kesika, K. Chaiyasut, C.t Chaiyasut. 2017. Extraction of B-Glucan From *Saccharomyces cerevisiae*: Comparison of Different Extraction Methods and In Vivo Assessment of Immunomodulatory Effect in Mice. *Journal of Food Sci. Technol, Campinas*, 37 (1): 124-130. ISSN 0101-2061.

- Pratiwi, L.D. 2018. Kajian Kinetika Pertumbuhan Mikroorganisme dan Kandungan β -Glukan Selama Fermentasi Tempe dengan Penambahan *Saccharomyces Cerevisiae*. Skripsi .Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Purba, E. 2009. Hidrolisis Pati Ubi Kayu (*Manihot Esculenta*) dan Pati Ubi Jalar (*Impomonea batatas*) menjadi Glukosa secara Cold Process dengan Acid Fungal Amilase dan Glukoamilase.Universitas Lampung, Lampung.
- Radley, J. A. 1976. Starch Production Technology. Applied Science Publisher ltd. London.
- Rahayu, W.P., R. Pambayun, U. Santoso, L. Nuraida, dan Ardiansyah. 2015. *Tinjauan Ilmiah Teknologi Pengolahan Tempe Kedelai*. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI).
- Rahman, A. D. 2007. Mempelajari Karakteristik Kimia dan Fisil Tepung Tapioka dan Mocal (Modified Cassava Flour) sebagai Penyalut Kacang pada Produk Kacang Salut. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rizal, S., M.E. Kustyawati, Marniza, I. Ramadhani. 2017. Pengaruh Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Sifat Organoleptik Tempe Kedelai. Prosiding Seminar Nasional Patpi 2017, hal 1096-1105.
- Rizal, S., M.E. Kustyawati, Murhadi, U. Hasanudin dan Marniza. 2018. Pengaruh Konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Kadar Abu, Kadar Protein, Kadar Lemak dan Kandungan Beta-Glukan Tempe. Prosding Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis UNS Ke 42 Tahun 2018. Vol 2, No. 1
- Roubus, H.P.J., dan M.J.R. Nout MJR. 2011. Anti-diarrhoeal Aspect of Fermented Soya Beans. Soybean and Health. El-Shemy H (Ed). ISBN: 978-953-307-535-8. *In Tech*.
- Samson, R.A., V. Kooij, dan E. deBoer. 1987. Microbiological Quality of Commercial Tempeh in The Netherlands. *Journal of Food Protection* 50 :92- 94.

- Sarwono B. 2004. *Membuat Tempe dan Oncom*. Jakarta:Penebar Swadaya.
- Setiarto, R.H.B., N. Widhyastuti dan I. Saskiawan. 2016. Pengaruh Fermentasi Fungi, Bakteri Asam Laktat dan Khamir terhadap Kualitas Nutrisi Tepung Sorgum. *Agritech*, Vol. 36, No. 4, Hal. 440-449
- Soka S, A. Suwanto, D. Sajuthi, dan I. Rusmana.2014. Impact of Tempeh Supplementation on Gut Microbiota Composition in Sprague-Dawley Rats. *Research Journal of Microbiology* 9 (4) : 189-198.
- Shokri, H., F. Asadi, andA. R. Khosravi. 2008. Isolation of β -glukan from TheCell Wall of*Saccharomyces cerevisiae*. *Natural Product Research*.22 (5) :414-421. DOI : 10.1080/14786410701591622
- Suhendri, T., T. Tandean, C. Haryasyah, M. Octavia, dan K. A. Saputra. 2006. Aplikasi Proses Termal sebagai Solusi Umur Simpan Pendek pada Tempe. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. IPB. Bogor.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Perpindaha Massa dalam Perancangan Proses Reaksi*. Surabaya : Universitas Negeri Surabaya.
- Supriyadi, D. 2012. Study on Effects of AmyloseAmylopectin Ratio and Water Content to Crispiness and Hardness of Fried Product Model. *Department of Food Science and Technology.Faculty of Agricultural Engineering and Technology*. IPB. Bogor
- Sutari, S. N.W., 2010. Pengujian Kualitas Biourine Hasil Fermentasi dengan Mikroba yang Berasal dari Tanaman terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Sawi Hijau (*Brassica juncea* L.). Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Udayana.
- Steinkraus, K.H. 1982. *Fermented Foods and Beverages: The Role of Mixed Cultures Communities*. Vol. 1 Edited by A.T. Bull and J. H. Slater, Academic Press. Pp 407- 449
- Swinkels, J. J. M. 1985. Source of starch, its chemistry and physics. Di dalam : G.M.A.V. Beynum dan J.A. Roels (eds.). *Starch Conversion Technology*. Marcel Dekker, Inc., New York.

- Syarief, R., H, Joko., H, Purwiyatno.,W, Sutedja., Suliantari., S, Dahrul., E, S, Nugraha., dan Y, S, Pieter. 1999. Wacana Tempe Indonesia. Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya. 34 hal.
- Thontowi, A., Kusmiati., dan S. Nuswantara. 2007. Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor. *J. Biodiversitas*. 8(2): 253-256.
- USDA. National Nutrient Data Base for Standard. 2018. Basic Report 20068, *Tapioca, pearl, dry*. The national Agricultural Library.
- USDA. National Nutrient Data Base for Standard. 2018. Basic Report 20082, *Wheat flour, white, all-purpose, self-rising, enriched*. The national Agricultural Library.
- Varelas, V., P. Tataridis, M. Liouni, dan E. T. Nerantzis. 2016. Application of different methods for the extraction of yeast β -glucan.. *e-Journal of Science and Technology (e-JST)*. 2(1) : 75-81
- Wang, H.L., Ruttle, D.I. dan Hesseltine, W. 2012. Protein quality of wheat and soybeans after *Rhizopus oligosporus* fermentation. *The Journal of Nutrition* 20(1): 109-114.
- Wang, H. and P.A. Murphy. 1994. Isoflavone content in commercial soybeans foods. *Journal Agriculture*. FoodChem. 42: 1666-1673.
- Wibowo, D. 1990. *Bahan Ajaran Biokimia Proses Fermentasi*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Widiantara, T., A. D. Sutrisno dan Juliardi. 2012. Pengolahan Tepung Ubi Kayu Termodifikasi (Modified Cassava Flour) Berdasarkan Variasi Jenis Mikroorganisme Dan Lama Fermentasi. *Jurnal Infomatek*. Volume 14 Nomor 1
- Widyastuti, N., T. Baruji., R. Giarni., H. Isnawan., P. Wahyudi., dan Donawati. 2011. Analisa Kandungan Beta-Glukan Larut Air dan Larut Alkali dari Tubuh Buah Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Shitake (*Lentim edodes*). *Jurnal Sains dan Teknologi*. 13 (3): 182-191.

- Winanti, R., S.H. Bintari, dan D. Mustikaningtyas. 2014. Studi Observasi Higienitas Produk Tempe Berdasarkan Perbedaan Metode Inokulasi. *Unnes Journal of Life Science* 3 (1) : 39-46). ISSN 2252-6277.
- Wipradinyadewi, P.A.S, E.S. Rahayu, dan S. Raharjo. 2004. Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus Oligosporus* Pada Beberapa Inokulum Tempe. Laporan Proyek Hibah Penelitian.
- Yenti. 2005. Produksi β -glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentor Air Lift dengan Variasi Sumber Karbon. (Skripsi). Universitas Indonesia. Depok.