

**EFEK PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae* DALAM
FERMENTASI TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA,
KANDUNGAN β -GLUKAN DAN MUTU TEMPE**

(DISERTASI)

Oleh

Samsul Rizal

NPM 1634171003



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR AMPUNG
2021**

**EFEK PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae* DALAM
FERMENTASI TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA,
KANDUNGAN β -GLUKAN DAN MUTU TEMPE**

Oleh

SAMSUL RIZAL

Disertasi

**Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar
DOKTOR ILMU PERTANIAN**

Pada

**Program Doktor Ilmu Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

EFEK PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae* DALAM FERMENTASI TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA, KANDUNGAN β -GLUKAN DAN MUTU TEMPE

Oleh

SAMSUL RIZAL

Pengembangan potensi tempe sebagai pangan yang mengandung senyawa β -glukan perlu dilakukan untuk mendapatkan produk tempe yang memiliki nilai manfaat lebih baik bagi kesehatan khususnya pada sifat-sifat fungsionalnya dibandingkan dengan tempe pada umumnya. Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh penambahan *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi tempe untuk memperoleh tempe dengan kandungan β -glukan tinggi. Penelitian dilakukan dalam tiga tahap dengan tujuan khusus yaitu mempelajari: 1) Pengaruh jenis dan konsentrasi sumber energi terhadap pertumbuhan kapang dan khamir serta pembentukan β -glukan; 2) Pengaruh jenis inokulum terhadap pertumbuhan mikroba, pembentukan β -glukan, aktivitas antioksidan dan daya hambat terhadap *E. coli* selama fermentasi tempe; dan 3) Karakteristik tempe yang diproduksi dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan β -glukan yang terkandung di dalamnya.

Pada penelitian tahap pertama, perlakuan terdiri dari jenis sumber energi (tepung terigu dan tapioka) dan konsentrasi sumber energi (0; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; dan 15% (b/b)). Data yang diperoleh selanjutnya diuji kehomogenannya dengan uji Bartlett dan kementerian data diuji dengan uji Tuckey. Uji lanjut terhadap data yang dihasilkan dilakukan dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Pengamatan meliputi total kapang, khamir, dan kadar β -glukan tempe. Pada penelitian tahap kedua, perlakuan terdiri dari jenis inokulum (3% inokulum “ragi” tempe merk Raprima, 3% inokulum tunggal *S. cerevisiae*, 3% inokulum tunggal *R. oligosporus*, dan inokulum campuran 1,5% *S. cerevisiae* dan 1,5% *R. oligosporus*) dan lama fermentasi (0, 8, 16, 24, 32, dan 40 jam). Data hasil pengamatan berupa total kapang, khamir, dan bakteri disajikan secara deskriptif dalam bentuk grafik dan tabel, sedangkan untuk analisis kandungan β -glukan, aktivitas antioksidan dan daya hambat terhadap *E. coli*, data yang diperoleh dilakukan analisis ragam dan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Pada penelitian tahap ketiga, karakterisasi dilakukan terhadap tempe yang dibuat dengan campuran

R. oligosporus dan *S. cerevisiae* dibandingkan dengan tempe yang dibuat dengan inokulum “ragi” tempe (tempe biasa). Karakteristik tempe yang diamati meliputi kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, kadar abu, vitamin B12, kadar β -glukan, dan aktivitas antioksidan, serta karakterisasi β -glukan yang terkandung di dalam tempe.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tapioka 10% menghasilkan tempe dengan kandungan β -glukan paling tinggi yaitu mencapai 0,72% (b/b). Hasil penelitian tahap kedua menunjukkan bahwa inokulum campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* tanpa penambahan sumber energi (terigu dan tapioka) menghasilkan pertumbuhan khamir dan kandungan β -glukan tertinggi (0,57% b/b) dibandingkan dengan inokulum lainnya. Sementara itu, hasil karakterisasi tempe pada penelitian tahap ketiga menunjukkan bahwa komposisi gizi tempe yang diberi penambahan inokulum campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* memenuhi standar SNI, memiliki kandungan vitamin B12, kandungan β -glukan, serta aktivitas antioksidan yang lebih baik dari pada tempe biasa. Uji FTIR membuktikan bahwa β -glukan yang terdapat dalam tempe memiliki kemiripan dengan spektrum FTIR dari β -glukan standar yang diperoleh dari *S. cerevisiae* sehingga diduga kuat tempe yang diproduksi dengan penambahan khamir *S. cerevisiae* mengandung senyawa β -glukan. Dengan demikian, pemberian *S. cerevisiae* sebagai inokulum tambahan dalam pembuatan tempe sangat berpotensi untuk dikembangkan guna memperoleh tempe yang memiliki sifat fungsional yang lebih baik dibandingkan tempe biasa.

Kata kunci: Tempe, *Saccharomyces cerevisiae*, β -glukan, anti-*E. coli*, antioksidan.

ABSTRACT

EFFECTS OF THE ADDITION OF *Saccharomyces cerevisiae* IN FERMENTATION ON THE MICROBIAL GROWTH, β -GLUCAN CONTENT AND QUALITY OF TEMPE

BY

SAMSUL RIZAL

The potential development of tempe as a food containing β -glucan compounds needs to be done to get tempe that has better benefits for health, especially in their functional properties compared to tempe in general. The general objective of this research was to study the effect of adding *Saccharomyces cerevisiae* in fermentation of tempe to obtain tempe with high β -glucan content. The research was conducted in three stages with the specific objectives are to study on: 1) The effect of the type and concentration of energy sources on the growth of molds and yeasts and the formation of β -glucans; 2) The effect of inoculum type on microbial growth, β -glucan formation, anti-*E. coli* and antioxidant activity during tempe fermentation; and 3) The characteristics of tempe produced by the addition of *Saccharomyces cerevisiae* and characteristics of β -glucan contained in tempe.

In the first stage of the study, the treatment consisted of the type of energy source (wheat flour and tapioca) and the concentration of the energy source (0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 and 15% (w/w)). The data obtained was then tested for homogeneity with the Bartlett test and additional data was tested with the Tuckey test. Further testing of the data was carried out with the Least Significant Difference (BNT) at a significant level of 5%. Observations included total mold, yeast, and β -glucan content of tempe. In the second stage of the study, the treatment consisted of the type of inoculum (3% inoculum of Raprima brand tempe yeast, 3% single inoculum *S. cerevisiae*, 3% single inoculum *R. oligosporus*, and mixed inoculum 1.5% *S. cerevisiae* and 1.5% *R. oligosporus*) and fermentation time (0, 8, 16, 24, 32, and 40 hours). Observational data in the form of total molds, yeasts, and bacteria were presented descriptively in the form of graphs and tables, while for the analysis of β -glucan content, antioxidant and anti-*E. coli* activity, the data obtained was analyzed for variance and further tested with the Least Significant Difference (BNT) at 5% real level. In the third stage of research, characterization was carried out on tempe made with a mixture of *R. oligosporus* and *S. cerevisiae* compared to tempe made with tempe yeast inoculum (regular tempe). Tempe characteristics observed included protein content, fat content, carbohydrate content, ash content, vitamin B12, β -glucan content, and antioxidant activity, as well as the characteristics of β -glucan contained in tempe.

The results showed that 10% tapioca produced tempe with the highest β -glucan content, reaching 0.72%. However, the provision of energy sources (wheat flour or tapioca) is not recommended in the next stage of research because the tempe produced has a slightly

alcoholic smell and is quickly damaged. The results of the second stage of the study showed that the mixed inoculum of *R. oligosporus* and *S. cerevisiae* produced the highest growth of yeast and the highest β -glucan content compared to other inoculums. Meanwhile, the results of the characterization of tempe in the third stage of the study showed that the nutritional composition of tempe which was given the addition of a mixed inoculum of *R. oligosporus* and *S. cerevisiae* met SNI standards, had better vitamin B12 content, β -glucan content, and antioxidant activity than tempe produces normally. The FTIR test proved that the β -glucan contained in tempe was similar to the FTIR spectrum of the standard β -glucan obtained from *S. cerevisiae*, so it was strongly suspected that tempe produced with the addition of yeast *S. cerevisiae* contained β -glucan compounds. Thus, the application of *S. cerevisiae* as an additional inoculum in the manufacture of tempe has the potential to be developed in order to obtain tempe which has better functional properties than ordinary tempe..

Keyword: Tempe, *Saccharomyces cerevisiae*, β -glucan, inhibitory activity against *E. coli*, antioxidant.

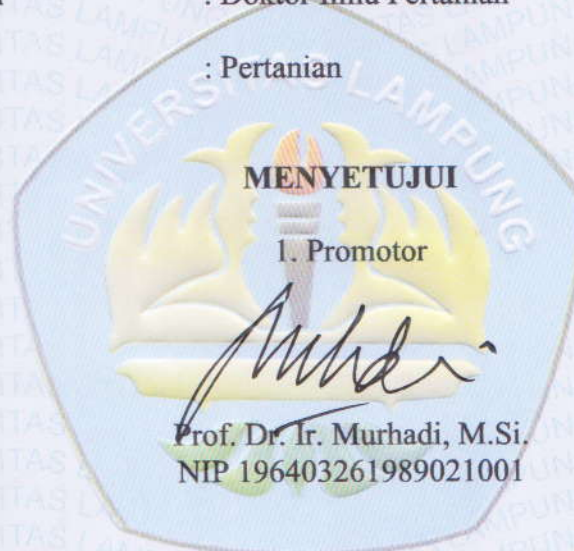
Judul Disertasi : EFEK PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae* DALAM FERMENTASI TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA, KANDUNGAN β -GLUKAN DAN MUTU TEMPE

Nama Mahasiswa : Samsul Rizal

NPM : 1634171003

Program Studi : Doktor Ilmu Pertanian

Fakultas : Pertanian



Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP 196403261989021001

2. Co-Promotor

Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.
NIP 196111291987032002

Prof. Dr. Eng. Ir. Udin Hasanudin, M.T.
NIP 196401061988031002

3. Ketua Program Studi Doktor Ilmu Pertanian

Dr. Ir. Slamet Budi Yowono, M.S.
NIP 196412231994031002

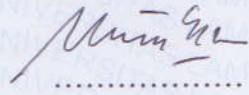
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.



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



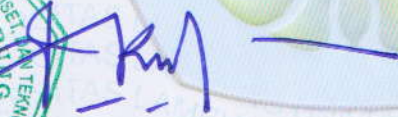
Anggota : Prof. Dr.Eng. Ir. Udin Hasanudin, M.T.



2. Dekan Fakultas Pertanian



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



3. Direktur Pascasarjana Universitas Lampung



Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP 197104151998031005



Tanggal Lulus Ujian Disertasi: 2 September 2021

PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya di dalam disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Bandar Lampung, 2 September 2021
Yang menyatakan



Samsul Rizal
NPM 1634171003

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kragilan, Serang, Banten (dahulu Propinsi Jawa Barat) pada tanggal 25 Februari 1969, merupakan anak kelima dari sepuluh bersaudara, dari bapak almarhum Abdul Manaf dan ibu almarhumah Hj. Faridah.

Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SDN 2 Kragilan, Serang Banten pada tahun 1982, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Muhammadiyah Kragilan, Serang pada tahun 1985, melanjutkan ke Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 1 Serang melalui jalur ranking Nilai Ebtanas Murni (NEM) dan diselesaikan pada tahun 1988.

Pada tahun 1988 penulis diterima sebagai mahasiswa baru di Fakultas Pertanian Universitas Lampung (UNILA) melalui jalur Penelusuran Minat dan Kemampuan (PMDK) dan memilih Program Studi Teknologi Hasil Pertanian. Penulis meraih gelar sarjana pertanian pada tahun 1992 dengan predikat lulusan terbaik ketiga Fakultas Pertanian. Pada Tahun 1994 penulis diangkat sebagai Pegawai Negeri Sipil (PNS), sebagai tenaga pengajar di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Beasiswa Ikatan Dinas Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Pada tahun 1997 penulis mendapatkan Beasiswa Pendidikan Pascasarjana (BPPS) (S2) di Institut Pertanian Bogor pada Program Studi Ilmu Pangan dan diselesaikan penulis pada tahun 2000 dengan meraih gelar Magister Sains. Selanjutnya penulis melanjutkan Pendidikan S3 pada Program Doktor Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2016.

Karya kecil ini kupersembahkan untuk:

Istriku tercinta dan tersayang

Ir. Mardiani, M.T.A.

Anak-anakku tersayang

dr. Arini Hidayati, Atiya Kamila, S.Pd., Adilla Sabrina Muti'ah,

Adzkie Afidah, dan Aliyya Ulfa

Mantuku tersayang

Rahmat Hidayat, S.Si., M.Si.

UCAPAN TERIMAKASIH

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan keberkahan, rahmat dan karunia-Nya, penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan disertasi yang berjudul **“Efek Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Fermentasi terhadap Pertumbuhan Mikroba, Kandungan β -Glukan dan Mutu Tempe”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor Ilmu Pertanian di Universitas Lampung. Penyusunan disertasi ini tidak terlepas dari keterlibatan berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung;
4. Bapak Dr. Ir. Slamet Budi Yuwono, M.S., selaku Ketua Program Studi Doktor Ilmu Pertanian atas motivasi, dukungan dan bantuan selama studi;
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Promotor yang bersedia membimbing penulis dalam menyelesaikan disertasi ini. Terimakasih atas nasihat, motivasi, bimbingan, pengarahan, masukan dan saran serta bantuan selama penyusunan hingga disertasi ini selesai;
6. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku Co-Promotor atas ide penelitian, bimbingan, motivasi, saran dan masukan terhadap penulis dalam menyelesaikan disertasi ini;
7. Bapak Prof. Dr.Eng. Ir. Udin Hasanudin, M.T., selaku Co-Promotor atas bimbingan, motivasi, saran dan masukan dalam menyelesaikan disertasi ini
8. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Si., selaku Pembahas atas motivasi, saran dan masukan hingga terselesaikannya disertasi ini;

9. Bapak Dr. Ir. Suharyono A.S., M.S., selaku Penguji Kelayakan Disertasi atas saran dan masukan serta motivasi terhadap penulisan disertasi ini;
10. Bapak dan Ibu dosen pengajar di Program Doktor Ilmu Pertanian yang telah memberikan ilmu dan wawasan kepada penulis selama kuliah;
11. Bapak Prof. Dr. Ir. Hamim Sudarsono, M.Sc., sebagai Ketua Program Doktor Ilmu Pertanian tahun 2014-2019.
12. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian periode 2012-2020, Ir. Susilawati, M.S., Sekretaris Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, serta teman-teman sejawat di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian yang telah memberikan dukungan dan motivasi terhadap pelaksanaan penelitian dan penyelesaian disertasi;
13. Keluarga tercinta, istriku, Ir. Mardiani, M.T.A., dan anak-anakku Arini, Rahmat, Atiya, Adilah, Adzkia, dan Aliyya, yang selalu memberikan semangat, senyuman, dukungan dan kesabaran serta doanya sehingga penulis dapat melaksanakan dan menyelesaikan penelitian dan disertasi dengan lancar;
14. Keluarga besar penulis di Lampung dan di Serang yang selalu memberikan doa dan dukungan selama penulis menyelesaikan perkuliahan;
15. Mahasiswa-mahasiswi bimbingan skripsi yang telah bekerja sama dan membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dalam penyelesaian disertasi ini;
16. Rekan-rekan yang telah membantu baik langsung maupun tidak langsung dalam penelitian, khususnya Mbak Suci, Ayud, Melia, Laras, Mas Joko, dan Pak Saiful Bahri, S.Si., M.Si. yang telah mendampingi, membantu, dan memberikan masukan-masukan dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian disertasi.
17. Pemberi dana Hibah Penelitian Fundamental, Penelitian Unggulan Universitas Lampung, Hibah Penelitian Pascasarjana tahun 2016, 2017 dan 2019;
18. Serta semua pihak yang telah membantu baik dalam pelaksanaan maupun penulisan disertasi ini.

Penulis sangat menyadari bahwa disertasi ini jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun serta dapat memberikan manfaat bagi penulis pribadi dan bagi para pembaca.

Bandar Lampung, 2021
Penulis,

Samsul Rizal

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iv
HALAMAN PERSETUJUAN DISERTASI	vi
HALAMAN PENGESAHAN DISERTASI	vii
PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI.....	viii
RIWAYAT HIDUP.....	ix
PESEMBAHAN.....	x
UCAPAN TERIMAKASIH.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR GAMBAR	xxiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Permasalahan.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	9
1.5 Nilai Kebaruan dan Kedalaman.....	9
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Kedelai dan Tempe.....	10
2.2 Mikrobiologi Tempe.....	13
2.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
2.4 β -Glukan	15
2.5 Ekstraksi β -Glukan dari Khamir.....	18
2.6 Karakterisasi β -Glukan Menggunakan FTIR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>).....	19
III. KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS	21
3.1 Kerangka Pemikiran	21

3.2 Hipotesis	23
IV. TAHAPAN DAN RUANG LINGKUP PENELITIAN	24
V. PENELITIAN TAHAP 1	
PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI SUMBER ENERGI TERHADAP PERTUMBUHAN KAPANG DAN KHAMIR SERTA PEMBENTUKAN B- GLUKAN PADA TEMPE.....	25
5.1 Pendahuluan	25
5.1.1 Latar Belakang	25
5.1.2 Tujuan Penelitian.....	28
5.1.3 Manfaat Penelitian.....	28
5.2 Bahan dan Metode Penelitian.....	28
5.2.1 Tempat dan Waktu Penelitian	28
5.2.2 Bahan dan Peralatan	29
5.2.3 Rancangan Penelitian	29
5.2.4 Pelaksanaan Penelitian	30
a. Penyiapan Inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30
b. Penyiapan Inokulum <i>Rhizopus oligosporus</i>	30
c. Pembuatan Tempe Kedelai	31
5.2.5 Prosedur Pengamatan	34
a. Derajat Keasaman (pH) (AOAC, 2005).....	34
b. Analisis β -Glukan (Kusmiati, et al., 2007)	34
c. Perhitungan Jumlah Kapang dan Khamir	35
5.3 Hasil dan Pembahasan.....	35
5.3.1 Pertumbuhan Khamir.....	35
5.3.2 Pertumbuhan Kapang	39
5.3.3 Kandungan β -Glukan Tempe	43
5.3.4 Nilai pH	48
5.3.5 Metabolisme Sel selama Fermentasi	51
5.4 Kesimpulan dan Saran.....	54
5.4.1 Kesimpulan	54
5.4.2 Saran	55

VI. PENELITIAN TAHAP 2	
PENGARUH JENIS INOKULUM TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA, PEMBENTUKAN β -GLUKAN, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN DAYA HAMBAT TERHADAP <i>E. coli</i> SELAMA FERMENTASI.....	56
6.1 Pendahuluan	56
6.1.1 Latar Belakang	56
6.1.2 Tujuan penelitian.....	58
6.1.3 Manfaat Penelitian	58
6.2 Bahan dan Metode Penelitian.....	59
6.2.1 Tempat dan Waktu Penelitian	59
6.2.2 Bahan dan Peralatan.....	59
6.2.3 Metode Penelitian.....	59
6.2.4 Pelaksanaan Penelitian	60
a. Penyiapan Inokulum <i>S. cerevisiae</i>	60
b. Penyiapan Inokulum <i>R. oligosporus</i>	60
c. Pembuatan Tempe Kedelai	60
d. Analisis β -Glukan (Kusmiati, 2007).....	61
e. Perhitungan Total Mikroba Menggunakan Metode TPC (<i>Total Plate Count</i>)	61
f. Pengujian Aktivitas Antioksidan	62
g. Pengujian Aktivitas Daya Hambat terhadap <i>E. coli</i> (NCCLS, 2003)	62
1. <i>Peremajaan bakteri uji (NCCLS, 2003)</i>	62
2. <i>Penyiapan suspensi E. coli (NCCLS, 2003)</i>	63
3. <i>Pengujian aktivitas daya hambat tempe terhadap E. coli</i> (<i>NCCLS, 2003</i>).....	63
6.3 Hasil dan Pembahasan.....	64
6.3.1 Pola Pertumbuhan Mikroba selama Fermentasi Tempe dengan Berbagai Jenis Inokulum	64
6.3.2 Efek Penambahan Jenis Inokulum dan Lama Fermentasi terhadap Kadar β -Glukan Tempe.....	69
6.3.3 Efek Jenis Inokulum dan Lama Fermentasi terhadap Aktivitas Antioksidan Tempe.....	73

6.3.4 Efek Jenis Inokulum dan Lama Fermentasi terhadap Aktivitas Daya Hambat <i>E. coli</i>	77
6.4 Kesimpulan dan Saran.....	81
6.4.1 Kesimpulan	81
6.4.2 Saran.....	82
VII. PENELITIAN TAHAP 3: MEMPERLAJARI KARAKTERISTIK TEMPE YANG DIPRODUKSI DENGAN PENAMBAHAN <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	83
7.1 Pendahuluan	83
7.1.1 Latar Belakang	83
7.1.2 Tujuan Penelitian	85
7.1.3 Manfaat Penelitian	85
7.2 Bahan dan Metode Penelitian.....	85
7.2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	85
7.2.2 Bahan dan Peralatan	86
7.2.3 Pelaksanaan Penelitian	86
7.2.4 Prosedur Pengamatan	87
a. Kadar Abu.....	87
b. Kadar Lemak	88
c. Kadar Protein	89
d. Vitamin B12.....	89
e. Perhitungan Kadar Isolavon (Daidzein dan Genistein)	90
f. Karakterisasi Senyawa β -glukan dengan Analisis UV-Vis.....	91
g. Karakterisasi Senyawa β -glukan dengan Analisis FTIR	91
h. Penilaian Organoleptik	91
7.3 Hasil dan Pembahasan.....	93
7.3.1 Karakteristik Kimia Tempe dengan Penambahan <i>S. cerevisiae</i> ...	93
7.3.2 Hasil Karakterisasi β -Glukan dengan UV-Vis.....	97
7.3.3 Hasil Identifikasi β -Glukan dengan FTIR.....	99
7.3.4 Sifat Organoleptik Tempe	103
7.4 Kesimpulan dan Saran.....	106

7.4.1 Kesimpulan	106
7.4.2 Saran.....	106
VIII. PEMBAHASAN UMUM	107
IX. KESIMPULAN UMUM, SARAN DAN IMPLIKASI PENERAPAN	115
9.1 Kesimpulan Umum	115
9.2 Saran Umum.....	116
9.3 Implikasi Penerapan.....	116
DAFTAR PUSTAKA	118
LAMPIRAN	129

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat mutu tempe kedelai berdasarkan SNI 01-3144-1992.....	10
2. Komposisi gizi kedelai dan tempe kedelai	11
3. Spektrum infra merah pada analisis FTIR dengan gugus fungsinya.....	20
4. Skala Penilaian Uji Organoleptik.....	92
5. Komposisi kimia dan aktivitas antioksidan tempe hasil pengamatan,	94
6. Keberadaan gugus fungsi senyawa β -glukan hasil karakterisasi FTIR.	101
7. Karakteristik organoleptik tempe yang diberi penambahan <i>S. cerevisiae</i>	105
8. Pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap khamir dalam tempe	129
9. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) pada pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap khamir dalam tempe.....	130
10. Analisis ragam pada pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap khamir dalam tempe	131
11. Uji BNT terhadap faktor pengaruh jenis sumber energi terhadap khamir dalam tempe	131
12. Uji BNT terhadap faktor pengaruh konsentrasi sumber energi terhadap khamir dalam tempe.....	131
13. Pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe	132
14. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) terhadap pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe.....	133
15. Analisis ragam pada pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe.....	134

16. Uji BNT pada faktor pengaruh jenis sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe	134
17. Uji BNT terhadap faktor pengaruh konsentrasi sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe.....	134
18. Pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap kandungan β -glukan tempe.....	135
19. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) pada pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe.....	136
20. Analisis ragam pada pengaruh jenis dan konsentrasi sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe.....	137
21. Uji BNT terhadap faktor pengaruh jenis sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe.....	137
22. Uji BNT terhadap faktor pengaruh konsentrasi sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe.....	137
23. Uji BNT terhadap interaksi antara pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap jumlah sel kapang tempe	138
24. Pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap pH tempe.....	139
25. Hasil transformasi pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap pH Tempe.....	139
26. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) pada pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap pH Tempe	140
27. Analisis ragam pengaruh konsentrasi dan jenis sumber energi terhadap pH Tempe.....	141
28. Uji BNT pada faktor pengaruh jenis sumber energi terhadap pH tempe.....	141
29. Uji BNT pada faktor pengaruh konsentrasi sumber energi terhadap pH tempe.....	141
30. Uji BNT pada interaksi antara pengaruh konsentrasi sumber energi terhadap pH tempe	142
31. Pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap kadar β -glukan tempe.....	143

32. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap kadar β -glukan tempe	144
33. Analisis ragam pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap kadar β -glukan tempe.....	145
34. Uji BNT terhadap faktor pengaruh jenis inokulum terhadap kadar β -glukan tempe	145
35. Uji BNT pada faktor pengaruh lama fermentasi terhadap kadar β -glukan tempe.....	145
36. Uji BNT terhadap interaksi antara pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap kadar β -glukan tempe	146
37. Pengaruh jenis inokulum terhadap kadar antioksidan selama Fermentasi...	147
38. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) pada pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap kadar antioksidan.....	148
39. Analisis ragam pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap kadar antioksidan	149
40. Uji BNT terhadap faktor pengaruh jenis inokulum terhadap kadar antioksidan	149
41. Uji BNT terhadap faktor pengaruh lama fermentasi terhadap kadar Antioksidan	149
42. Uji BNT terhadap interaksi antara pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap kadar antioksidan	150
43. Pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap aktivitas daya hambat tempe terhadap <i>E. coli</i>	151
44. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) pada pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap aktivitas daya hambat <i>E. coli</i>	152
45. Analisis ragam pada pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap aktivitas daya hambat terhadap <i>E. coli</i>	153
46. Uji BNT pada faktor pengaruh jenis inokulum terhadap aktivitas daya hambat terhadap <i>E. coli</i>	153
47. Uji BNT pada faktor pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap aktivitas daya hambat terhadap <i>E. coli</i>	153

48. Uji BNT terhadap interaksi antara pengaruh jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap aktivitas daya hambat terhadap *E. coli*. 154
49. Daftar artikel yang dipaparkan pada seminar ilmiah maupun dimuat pada publikasi ilmiah..... 155

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur β -glukan dan β -glukan yang termodifikasi secara kimia. β -(1-3)-glukan dengan percabangan β -(1-6) (a); β -(1-3 dan 1-4)-glukan rantai lurus (Zhu <i>et al</i> 2016) (b).....	17
2. Alur proses penyiapan inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31
3. Alur proses penyiapan inokulum <i>R. oligosporus</i>	32
4. Alur proses pembuatan tempe kedelai	33
5. Jumlah khamir pada tempe yang dibuat dengan inokulum campuran <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada jenis sumber energi berbeda	36
6. Jumlah khamir pada tempe yang dibuat dengan inokulum campuran <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada konsentrasi sumber energi berbeda	39
7. Pertumbuhan jumlah kapang pada tempe yang dibuat dengan inokulum campuran <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada jenis sumber energi berbeda.....	40
8. Pertumbuhan jumlah kapang pada tempe yang dibuat dengan inokulum campuran <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada konsentrasi sumber energi berbeda	41
9. Kandungan β -glukan tempe yang dibuat dengan inokulum campuran <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada jenis sumber energi berbeda.	44
10. Pengaruh konsentrasi sumber energi terhadap kandungan β -glukan tempe yang diinokulasi dengan <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45
11. Jumlah β -glukan pada tempe yang diinokulasi dengan <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan diberi penambahan sumber energi pada berbagai konsentrasi.	46

12. Pengaruh jenis sumber energi terhadap nilai pH tempe yang diinokulasi dengan <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	48
13. Pengaruh konsentrasi sumber energi terhadap nilai pH tempe yang diinokulasi dengan <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ..	49
14. Pengaruh jenis dan konsentrasi sumber energi terhadap nilai pH tempe yang diinokulasi dengan <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50
15. Perubahan konsentrasi unsur N dalam pada tempe kedelai seiring dengan penambahan konsentrasi substrat tepung terigu dan tapioka.	52
16. Perubahan konsentrasi unsur C dalam kedelai pada tempe dengan penambahan konsentrasi substrat tepung terigu dan tapioka	54
17. Proses pembuatan tempe kedelai dan penerapan perlakuannya.....	61
18. Pola pertumbuhan kapang, khamir dan bakteri selama fermentasi pada pembuatan tempe dengan ragi Raprima.	64
19. Pola pertumbuhan kapang, khamir dan bakteri selama fermentasi pada pembuatan tempe dengan inokulum tunggal <i>S. cerevisiae</i>	66
20. Pola pertumbuhan kapang, khamir dan bakteri selama fermentasi pada pembuatan tempe dengan inokulum tunggal <i>Rhizopus oligosporus</i>	67
21. Pola pertumbuhan kapang, khamir dan bakteri selama fermentasi tempe dengan inokulum campuran <i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i>	68
22. Pembentukan β -glukan pada tempe selama proses fermentasi.	70
23. Pengaruh jenis inokulum terhadap pembentukan β -glukan dalam tempe.....	72
24. Perubahan kadar β -glukan selama fermentasi tempe pada berbagai jenis inokulum.	72
25. Perubahan aktivitas antioksidan selama fermentasi tempe.	73
26. Pengaruh jenis inokulum terhadap aktivitas antioksidan selama fermentasi tempe.	76
27. Perubahan aktivitas antioksidan selama fermentasi tempe pada berbagai jenis inokulum.....	77

28. Pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas daya hambat terhadap <i>E. coli</i> selama fermentasi tempe	78
29. Pengaruh jenis inokulum terhadap aktivitas daya hambat tempe terhadap <i>E. coli</i>	80
30. Perubahan aktivitas daya hambat terhadap <i>E. coli</i> selama fermentasi tempe pada berbagai jenis inokulum.....	81
31. Alur proses pembuatan tempe pada penelitian tahap ketiga	87
32. Spektrum UV-Vis β -glukan standar dari <i>S. cerevisiae</i> (a) dan β -glukan sampel tempe yang diinokulasi dengan <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> (b)	98
33. Spektrum FTIR β -Glukan standar dari <i>S. cerevisiae</i> (a) dan β -glukan sampel tempe yang diinokulasi dengan <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> (b).	100
34. Struktur β -(1,3;1,6)-glukan	101
35. Spektrum FTIR Standar β -glukan dari Barley (Sigma) (a), β -glukan jamur tiram larut air (b), β -glukan jamur tiram larut alkali (c).....	103

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tempe adalah makanan fermentasi yang terbuat dari biji kedelai yang difermentasi dengan menginokulasikan *Rhizopus oligosporus* dalam fermentasi padat. Fermentasi kedelai menjadi tempe menghasilkan beberapa perubahan sifat kimia dan organoleptik kedelai. Proses yang terjadi selama fermentasi akan merubah aroma kedelai yang semula langu menjadi aroma khas tempe. Tempe memiliki aroma yang khas karena adanya pertumbuhan miselium kapang bercampur aroma khas dari asam amino bebas.

Semula dinyatakan bahwa mikroba yang berperan dalam pembuatan tempe hanya jenis kapang. Namun selanjutnya diketahui bahwa selain kapang, bakteri dan khamir diduga juga ikut berperan selama fermentasi tempe. Efriwati *et al.* (2013) menyatakan bahwa selama proses fermentasi kedelai menjadi tempe ditemukan beberapa mikroba lain yaitu bakteri asam laktat dan khamir. Demikian juga yang disebutkan oleh Feng *et al.* (2007), selama proses fermentasi tempe terdapat keterlibatan khamir. Ditambahkan oleh Kustyawati (2009), bahwa khamir diketahui dapat tumbuh bersama bakteri indigenus dan *R. oligosporus* selama fermentasi tempe. Ditemukannya khamir dalam fermentasi tempe menunjukkan khamir memiliki peranan penting selama proses fermentasi tempe. Di antara khamir yang terlibat dalam proses fermentasi tempe yaitu *Saccharomyces cerevisiae*.

Saccharomyces cerevisiae, satu jenis khamir yang banyak berperan pada fermentasi produk pangan, telah disetujui Food Drug Administration (FDA) sebagai bahan yang dinyatakan aman untuk dikonsumsi tanpa efek samping. *Saccharomyces cerevisiae* dikenal sebagai produsen β -glukan, sehingga banyak peneliti yang tertarik dengan *S. cerevisiae*, karena selain aman, juga memiliki potensi biologis

yang menjanjikan termasuk sebagai penghasil β -glukan (Pengkumsri *et al.*, 2016). Liu *et al.* (2018) menambahkan, karena *S. cerevisiae* dikategorikan sebagai mikroba yang aman, maka *S. cerevisiae* telah banyak dijadikan sebagai subjek dari berbagai penelitian yang bertujuan untuk mengembangkan potensinya, termasuk sebagai sumber β -glukan. Hetland *et al.* (2013) juga menambahkan bahwa β -glukan merupakan suatu senyawa yang mempunyai aktivitas biologis seperti antikolesterol dan pemicu imunitas tubuh.

Saccharomyces cerevisiae berpotensi sebagai produsen β -glukan karena dinding sel khamir mengandung β -(1,3)-glukan dan β -(1,6)-glukan dan juga mengandung kitin, manan, dan manoprotein yang membangun 20 sampai 30% dari berat kering dinding sel (Basic *et al.*, 2009). Kandungan tersebut memiliki fungsi memperkuat struktur sel dan sebagai cadangan makanan. Tambahan lain, dari hasil penelitian Varelas *et al.* (2016), diketahui bahwa khamir mampu menghasilkan β -glukan sebesar 64,56%.

Pada penelitian ini *S. cerevisiae* ditambahkan secara sengaja ke dalam fermentasi tempe sehingga diharapkan tempe yang dihasilkan akan memiliki keunggulan dibandingkan dengan tempe pada umumnya. Efek modifikasi tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* diharapkan dapat memperkaya manfaat kesehatan tempe dan menghasilkan tempe yang memiliki sifat fungsional lebih baik dibandingkan dengan tempe yang ada selama ini. Keterlibatan *S. cerevisiae* pada proses fermentasi akan menghasilkan terbentuknya β -glukan dalam tempe yang dihasilkan. Hal ini disebabkan dinding sel *S. cerevisiae* merupakan salah satu sumber β -1,3 dan β -1,6-glukan yang paling umum (Pengkumsri *et al.*, 2017). Pada tempe yang diberi penambahan khamir, kandungan isoflavonnya juga lebih tinggi dibandingkan tempe biasa (Kustyawati, 2009), yang berfungsi sebagai antioksidan, antivirus, antikanker dan antimikroba (Bavia *et al.*, 2012).

Hingga saat ini kajian tentang peranan *S. cerevisiae* dalam fermentasi tempe khususnya dalam pembentukan β -glukan pada tempe masih belum banyak dilakukan. Terdapat beberapa faktor yang berkontribusi terhadap potensi tempe sebagai pangan yang mengandung β -glukan antara lain pengaruh pertumbuhan *S.*

cerevisiae selama fermentasi, ketersediaan nutrisi dan sumber energi bagi pertumbuhan khamir dan kapang, lama fermentasi, dan jenis inokulum yang digunakan dalam pembuatan tempe. Oleh sebab itu dalam penelitian ini dipelajari pengaruh jenis dan konsentrasi sumber energi, jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap pertumbuhan *S. cerevisiae* dan *R. oligosporus* dan pembentukan β -glukan dalam tempe.

Kandungan β -glukan dalam tempe yang diberi penambahan khamir *S. cerevisiae* dipengaruhi oleh jumlah dan pertumbuhan khamir selama fermentasi tempe. Semakin tinggi jumlah sel *S. cerevisiae* selama proses fermentasi maka diprediksi kandungan β -glukan tempe pun semakin bertambah. Penelitian pendahuluan pada pembuatan tempe yang diinokulasi dengan starter tambahan *S. cerevisiae* (selain starter utama berupa “ragi” tempe) dalam bentuk serbuk “ragi” komersial menghasilkan kandungan β -glukan tertinggi pada tempe sebesar 0,076% (b/b). Akan tetapi ketika inokulum starter yang digunakan adalah inokulum murni *S. cerevisiae*, kandungan β -glukan tempe mencapai 0,424% (b/b) atau setara dengan peningkatan 5,6 kali dengan jumlah sel mencapai $2,6 \times 10^5$ CFU/g. β -glukan yang terkandung pada tempe hasil percobaan pendahuluan tersebut diduga belum merupakan hasil yang optimal karena menurut Andriani (2007) ekstrak khamir mampu menghasilkan β -glukan 85-90%. Hal ini diduga karena pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi tempe belum optimal dikarenakan kedelai yang sudah direbus bukan substrat pertumbuhan yang ideal bagi khamir. Oleh sebab itu perlu dilakukan kajian penggunaan suatu bahan yang berfungsi sebagai tambahan nutrisi bagi pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi agar mendapatkan tempe dengan kadar β -glukan lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian pendahuluan.

Selama ini, pada umumnya, dalam pembuatan tempe tidak ada penambahan bahan selain biji kedelai dan “ragi tempe untuk pertumbuhan mikroba selama fermentasi tempe. Penambahan substrat tertentu yang dapat meningkatkan ketersediaan sumber energi bagi pertumbuhan kapang dan khamir selama fermentasi diharapkan akan meningkatkan pertumbuhan jumlah khamir dan dengan sendirinya akan meningkatkan kandungan β -glukan dan sifat fungsional tempe (aktivitas antioksidan dan antimikroba). Oleh karena itu perlu dilakukan penambahan sumber

energi dalam medium fermentasi (kedelai yang sudah direbus) sehingga pertumbuhan *S.cerevisiae* akan lebih optimal.

Ciri-ciri tempe dengan mutu baik antara lain permukaan tempe berwarna putih bersih dan merata, strukturnya homogen, kompak, memiliki rasa dan aroma khas tempe (Winanti *et al.*, 2014). Karena dalam pengolahan tempe selama ini tidak ada penambahan *S. cerevisiae*, maka penambahan *S. cerevisiae* diprediksi dapat mempengaruhi mutu tempe. Oleh sebab itu pengaruh pemberian *S. cerevisiae* dalam fermentasi tempe terhadap mutu tempe juga perlu dikaji, baik mutu kimia, mikrobiologi maupun organoleptik.

Fermentasi tempe menyebabkan beberapa perubahan baik secara kimia maupun fisik. Perubahan kimia selama fermentasi disebabkan oleh enzim lipoksidase yang terkandung dalam kedelai. Fermentasi menyebabkan perubahan rasa yang lebih enak pada tempe (Jelen *et al.*, 2013). Selain itu, perubahan kimia selama fermentasi kedelai mengubah bau langu kedelai menjadi aroma khas tempe.

1.2 Rumusan Permasalahan

Permasalahan utama yang perlu dijawab pada penelitian ini yaitu bagaimana menghasilkan tempe dengan kandungan β -glukan tinggi sehingga tempe yang dihasilkan memiliki sifat-sifat fungsional yang lebih baik dengan memberikan penambahan *S. cerevisiae* sebagai inokulum dalam pembuatannya. Pada penelitian ini *S. cerevisiae* ditambahkan secara sengaja ke dalam fermentasi tempe, disamping ada pemberian *R. oligosporus* sebagai inokulum utama, sehingga diharapkan tempe yang dihasilkan akan memiliki keunggulan dibandingkan dengan tempe pada umumnya. Efek modifikasi tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* diharapkan dapat memperkaya manfaat kesehatan tempe dan menghasilkan tempe yang memiliki sifat fungsional lebih baik dibandingkan dengan tempe yang ada selama ini. Hal ini disebabkan adanya keterlibatan *S. cerevisiae* dalam proses fermentasi tempe akan menghasilkan terbentuknya β -glukan yang tinggi dalam tempe dibandingkan hasil penelitian pendahuluan yang menghasilkan β -glukan 0,424%.

Kajian tentang peranan *S. cerevisiae* dalam pembentukan β -glukan pada tempe masih perlu dilakukan. Untuk menghasilkan tempe dengan kandungan β -glukan tinggi, setidaknya perlu memperhatikan beberapa faktor yang berpengaruh, antara lain pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi, sumber energi bagi pertumbuhan *S. cerevisiae*, lama fermentasi, dan jenis inokulum yang digunakan dalam pembuatan tempe. Oleh sebab itu permasalahan yang perlu dipelajari melalui penelitian ini adalah bagaimana efek dari pemberian jenis dan konsentrasi sumber energi, jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap pertumbuhan *S. cerevisiae* dan pembentukan β -glukan dalam tempe, bagaimana pola pertumbuhan mikroba dan perubahan sifat-sifat fungsional (aktivitas antioksidan dan daya hambat terhadap *E. coli*) selama fermentasi tempe, serta bagaimana pengaruh penambahan khamir *S. cerevisiae* terhadap mutu gizi dan organoleptik tempe yang dihasilkan.

Jumlah β -glukan dalam tempe yang dibuat dengan menambahkan *S. cerevisiae* selain kapang utama *R. oligosporus* diduga dipengaruhi oleh jumlah dan pertumbuhan khamir dan kapang selama fermentasi tempe. Hal ini didasari oleh temuan beberapa hasil penelitian yang menunjukkan bahwa β -glukan terdapat pada dinding sel khamir dan kapang (Hunter *et al.*, 2002, Hetland *et al.*, 2013). Oleh karena itu, semakin tinggi jumlah *S. cerevisiae* dan *R. oligosporus* selama proses fermentasi maka kandungan β -glukan tempe pun diprediksi semakin bertambah.

Penambahan inokulum murni *S. cerevisiae* pada penelitian pendahuluan pembuatan tempe menghasilkan kandungan β -glukan tempe sebesar 0,424% (b/b) dengan jumlah khamir mencapai 10^8 CFU/g. Pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi dan pembentukan β -glukan pada tempe ini dinilai masih belum optimal dan dapat ditingkatkan mengingat potensi *S. cerevisiae* sebagai penghasil β -glukan yang mencapai 64,56% (Varelas *et al.*, 2016). Oleh karena itu kajian penggunaan bahan sebagai sumber energi guna mendukung pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi perlu dilakukan untuk menghasilkan tempe yang mengandung β -glukan lebih tinggi.

Penambahan suatu substrat yang dapat meningkatkan ketersediaan sumber energi bagi pertumbuhan kapang dan khamir selama fermentasi diharapkan akan meningkatkan pertumbuhan jumlah khamir dan dengan sendirinya diharapkan akan

meningkatkan kandungan β -glukan dan sifat fungsional tempe (aktivitas antioksidan dan daya hambat terhadap *E. coli*). Kajian tentang penambahan sumber energi dalam fermentasi tersebut perlu dilakukan untuk mendapatkan jenis dan jumlah sumber energi yang tepat yang dapat mendukung peningkatan pertumbuhan *S. cerevisiae* dan kadar β -glukan tempe yang tinggi dengan tetap mempertahankan mutu tempe sebagai pangan yang masih layak dikonsumsi.

Salah satu alternatif untuk meningkatkan pertumbuhan khamir dalam fermentasi tempe yaitu penambahan tepung terigu dan tapioka. Tepung terigu dan tapioka merupakan alternatif sumber energi yang potensial karena mengandung zat karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air. Kandungan karbon pati diharapkan dapat memenuhi kebutuhan gizi *S. cerevisiae*. Perbedaan mendasar antara tepung terigu dan tapioka, adalah tepung terigu dibuat dari gandum yang digiling secara utuh, sedangkan tapioka merupakan pati dari singkong, sehingga terigu memiliki kandungan serat yang lebih tinggi dibandingkan tapioka. Perbedaan karakteristik antara tepung terigu dan tapioka diduga akan berpengaruh terhadap pertumbuhan *S. cerevisiae* dan pembentukan β -glukan dalam tempe. Oleh karena itu, penambahan sumber energi (tepung terigu dan tapioka) dalam fermentasi tempe dengan konsentrasi berbeda ditujukan untuk menaikkan tingkat pertumbuhan *S. cerevisiae* sehingga akan diperoleh tempe yang mempunyai kadar β -glukan tinggi perlu dilakukan.

Menurut Efriwati *et al.* (2013), selain *R. oligosporus*, selama proses inkubasi (fermentasi) kedelai menjadi tempe terdapat mikroba lain, misalnya khamir dan bakteri asam laktat. Dengan demikian, analisis mikrobiologis diperlukan untuk mengungkapkan pertumbuhan setiap jenis mikroorganisme dan interaksinya dalam pembentukan tempe, khususnya dalam pembentukan β -glukan dan perubahan sifat fungsionalnya (aktivitas antimikroba dan antioksidan).

Pertumbuhan kapang, khamir, dan bakteri asam laktat pada tempe menghasilkan zat gizi dan komponen bioaktif yang memiliki manfaat kesehatan (Nurdini *et al.*, 2015). Fadahunsi *et al.* (2013) menyatakan bahwa *R. oligosporus* memproduksi senyawa fenol yang berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba. Zat antimikroba yang terdapat pada tempe mampu melawan mikroba penyebab

penyakit. Diare merupakan salah satu contoh penyakit gangguan pencernaan yang dapat dicegah dengan mengonsumsi tempe (Roubous and Nout, 2011). Virgianti (2015) melaporkan bahwa tikus jantan yang mengonsumsi pangan berbahan dasar tempe mengalami penurunan diare yang disebabkan oleh *Eschericia coli*. Kapang *Rhizopus sp.* pada tempe dapat menghambat bakteri patogenik, yaitu *E. coli*, *S. flexneri* dan *S. typhimurium*. Selain itu, kandungan β -glukan yang berasal dari *S. cerevisiae* juga bersifat antimikroba terhadap *E. coli* dan *Pneumococci* (Hetland *et al.*, 2013). Penghambatan yang ditunjukkan oleh ekstrak tempe terhadap bakteri patogen menghasilkan adanya prediksi bahwa tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* akan meningkatkan aktivitas antimikroba dan oleh karenanya pada rencana penelitian ini juga dikaji daya hambatnya terhadap mikroba patogen penyebab diare yaitu *E. coli*.

Inokulum tempe yang digunakan dalam pembuatan tempe sangat berpengaruh terhadap mutu tempe yang dihasilkan. Inokulum tempe berisi berbagai jenis mikroba yang didominasi oleh kapang *R. oligosporus*. Meskipun mikroba utama fermentasi tempe adalah *R. oligosporus*, namun bakteri dan khamir juga ikut berperan dalam fermentasi tempe. Fungsi kapang dan bakteri selama fermentasi tempe telah banyak diungkapkan secara terperinci dalam beberapa hasil penelitian (Barus *et al.*, 2008). Dalam fermentasi tempe, selama ini kapang dikenal sebagai penghasil enzim lipase, protease dan amilase (Rahayu *et al.*, 2015), sedangkan bakteri terutama berperan dalam menghasilkan vitamin B12 (Denter dan Bisping, 1994). Adapun mengenai peranan khamir dalam fermentasi tempe hingga saat ini masih terbatas sehingga masih perlu kajian yang lebih terperinci.

Karena dalam pengolahan tempe selama ini tidak ada penambahan *S. cerevisiae* secara sengaja, maka penambahan *S. cerevisiae* diprediksi berpengaruh terhadap mutu tempe yang dihasilkan. Oleh sebab itu pengaruh penambahan *S. cerevisiae* dalam fermentasi tempe terhadap mutu tempe juga perlu dikaji, baik mutu kimia, mikrobiologi maupun organoleptik. Fermentasi tempe menyebabkan beberapa perubahan baik secara kimia maupun fisik. Perubahan kimia selama fermentasi disebabkan oleh enzim lipoksidase yang terkandung dalam kedelai. Fermentasi menyebabkan perubahan rasa yang lebih enak pada tempe (Jelen *et al.*, 2013).

Selain itu, perubahan kimia selama fermentasi kedelai mengubah bau langu kedelai menjadi aroma yang khas tempe.

Kandungan β -glukan dalam tempe diduga berasal dari khamir dan kapang. Oleh karena itu, untuk memastikan bahwa β -glukan yang terkandung dalam tempe adalah berasal *S. cerevisiae*, perlu dilakukan karakterisasi terhadap β -glukan yang terdapat dalam tempe dengan cara membandingkannya dengan β -glukan standar. Salah satu teknik untuk memastikan keberadaan β -glukan adalah dengan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy* atau Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier. FTIR dapat digunakan untuk tujuan karakterisasi senyawa β -glukan dalam tempe melalui pengamatan gugus fungsi senyawa standar β -glukan dari *S. cerevisiae* dan membandingkannya dengan sampel tempe. Spektrum infra merah senyawa β -glukan dalam suatu bahan, menurut Thontowi *et al.* (2007), ditandai oleh keberadaan puncak serapan pada panjang gelombang $3750\text{-}3000\text{cm}^{-1}$ yang menunjukkan gugus -OH atau alkohol, panjang gelombang $3000\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan gugus -CH , dan panjang gelombang $1260\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ untuk gugus -C-O-C- .

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini secara umum memiliki tujuan sebagai berikut:

1. Mempelajari efek penambahan jenis dan konsentrasi substrat pertumbuhan sebagai sumber energi guna menghasilkan pertumbuhan *S. cerevisiae* yang optimal dan memproduksi tempe tinggi β -glukan.
2. Mengetahui pola pertumbuhan mikroba selama fermentasi tempe yang diberi penambahan inokulum *S. cerevisiae*. dan mikroba yang berperan dominan dalam pembentukan β -glukan.
3. Mempelajari mutu tempe yang dihasilkan dengan penambahan *S. cerevisiae*, baik dari aspek gizi (komposisi kimia), sifat fungsional (sifat antioksidan dan sifat daya hambat terhadap *E. coli*), dan aspek organoleptik.
4. Karakterisasi β -glukan pada tempe yang dibuat dengan penambahan inokulum *S. cerevisiae* dengan teknik spektroskopi UV-Vis dan FTIR.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari kajian efek modifikasi *S. cerevisiae* pada pembuatan tempe ini diharapkan dapat menambah khasanah pengetahuan baru tentang peranan mikroba khususnya *S. cerevisiae* selama fermentasi tempe yang diberi penambahan inokulum *S. cerevisiae* dalam memproduksi tempe dengan kandungan β -glukan tinggi, sehingga tempe yang diperoleh memiliki sifat-sifat fungsional yang lebih kaya. Hasil penelitian ini juga bermanfaat dalam rangka pengembangan potensi tempe sebagai pangan fungsional dengan kandungan β -glukan tinggi yang memiliki potensi sebagai pangan yang dapat meningkatkan ketahanan tubuh.

1.5 Nilai Kebaruan dan Kedalaman

Nilai kebaruan dari penelitian pembuatan tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* adalah:

1. Data optimalisasi pertumbuhan *S. cerevisiae* dalam fermentasi melalui penambahan substrat sumber energi yang dapat meningkatkan pertumbuhan khamir selama fermentasi. Peningkatan pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi dapat meningkatkan kandungan β -glukan dari tempe yang dihasilkan.
2. Data pola pertumbuhan setiap jenis mikroba, yaitu khamir, kapang dan bakteri selama proses fermentasi tempe yang diberi penambahan kultur *S. cerevisiae* dan jenis mikroba yang paling berperan dalam pembentukan β -glukan selama fermentasi tempe.
3. Data peranan khamir dan β -glukan terhadap peningkatan sifat-sifat fungsional tempe, khususnya aktivitas daya hambat terhadap *E. coli* dan antioksidan tempe.
4. Data karakterisasi β -glukan dalam tempe yang diberi penambahan kultur *S. cerevisiae* melalui pengamatan gugus-gugus fungsionalnya dengan teknik spektroskopi UV-Vis dan FTIR.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kedelai dan Tempe

Tempe merupakan makanan tradisional asli Indonesia yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Menurut Winanti *et al.* (2014), ciri-ciri tempe yang berkualitas antara lain permukaan tempe berwarna putih bersih dan merata, strukturnya homogen, kompak, memiliki rasa dan aroma khas tempe. Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3144-1992 menetapkan persyaratan mutu tempe sebagaimana disajikan Tabel 1.

Tabel 1. Syarat mutu tempe berdasarkan SNI.

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
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)

Karena mengandung nutrisi yang baik dan memiliki beberapa sifat fungsional maka tempe banyak memberikan manfaat bagi kesehatan manusia. Beberapa unsur yang bermanfaat bagi kesehatan yang terdapat dalam tempe adalah karbohidrat, protein, lemak, serat, vitamin, enzim, isoflavon daidzein dan genestein, serta zat antioksidan dan komponen antibakteri yang memiliki kemampuan sebagai obat (Astawan *et al.*, 2013). Kapang dan beberapa mikroorganisme yang lain, selama proses fermentasi tempe, terlibat dalam aktivitas pertumbuhan sehingga terjadi penguraian protein, lemak, dan karbohidrat yang menghasilkan senyawa lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna oleh tubuh. Protein pada tempe, menurut Rahayu *et al.* (2015), oleh enzim protease akan diuraikan menjadi peptida dan asam amino. Komposisi nilai gizi kedelai dan tempe kedelai lengkap disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi gizi kedelai dan tempe kedelai

Komposisi Gizi	Kedelai	Tempe Kedelai
Air (%) (bb)	10,09	61,42
Abu % (bk)	5,80	2,43
Protein % (bk)	37,10	48,07
Lemak % (bk)	19,41	33,09
Karbohidrat % (bk)	37,68	17,81

Astawan *et al.* (2013)

Tempe merupakan salah satu makanan yang dikenal kaya dengan protein. Menurut Astawan *et al.* (2013) tempe mengandung protein sebesar 48,07% (bk), sedangkan menurut Agung (2013), kadar protein tempe berkisar 46,68 - 52,70% (bk). Tempe mengandung dua tipe protein yaitu globulin 11S (*glycinin*) yang memiliki fungsi sebagai antioksidan, dan 7S (β -*conglycinin*) yang dilaporkan mampu menurunkan akumulasi kolesterol dalam aorta sehingga mampu mencegah penyakit jantung koroner.

Proses fermentasi tempe dapat meningkatkan kadar protein dari kedelai. Kenaikan kadar protein tempe tersebut disebabkan oleh berkurangnya beberapa komponen terlarut dari biji kedelai, misalnya gula dan mineral, selama fermentasi (Bavia *et al.*, 2012). Ferreira (2011) menambahkan hal yang sama bahwa akibat fermentasi terjadi kenaikan kandungan protein pada tempe sebesar 21% dari pada kotiledon pada biji kedelai. Sementara menurut Astawan *et al.* (2013) peningkatan kadar

protein pada tempe juga disebabkan oleh aktivitas proteolitik kapang yang membentuk miselium. Ditambahkan oleh Handoyo dan Morita (2006) bahwa lama fermentasi mampu meningkatkan kadar asam amino bebas tempe. Peningkatan kadar asam amino bebas tersebut disebabkan adanya hidrolisis protein oleh aktivitas kapang hingga membentuk asam amino dan peptida-peptida kecil.

Kandungan fosfor dan kalsium dalam tempe dapat menambah ketersediaan mineral posfor dan kalsium pada tubuh manusia yang memiliki manfaat dalam menunjang proses pertumbuhan dan perkembangan tulang. Menurut Rokhmah *et al.* (2009), fermentasi kedelai menjadi tempe dapat menambah kandungan fosfor dalam tempe. *Rhizopus oligosporus* diketahui mengandung enzim fitase yang dapat menghidrolisis asam fitat dalam kedelai menjadi inositol dan fosfat yang bebas. Asam fitat merupakan senyawa fosfor yang mampu mengikat mineral seperti besi, kalsium, dan fosfor yang mengakibatkan tubuh tidak mampu menyerapnya. Perebusan dan aktivitas fitase yang diproduksi oleh *R. oligosporus* akan mengurai asam fitat sehingga fosfor dalam tempe dapat dimanfaatkan tubuh dan mineral lain pun dapat diserap dengan baik (Anam *et al.*, 2010).

Penyebab lain menurunnya asam fitat kedelai selama proses pengolahan menjadi tempe disebabkan perlakuan perendaman. Menurut Fajri dan Sulasmi (2014), proses perendaman dalam air panas dan fermentasi selama pembuatan tempe mampu menurunkan asam fitat dalam tempe sehingga mineral yang tersedia lebih dapat diserap oleh tubuh. Proses ini mampu menurunkan sekitar 30% asam fitat dari kedelai sebelum proses fermentasi.

Menurut Agung (2013), tempe mampu menyediakan sekitar 28,5 mg isoflavon per 100 gram bahan. Konsumsi dua potong tempe (ukuran ± 20 gram per potong) dapat memenuhi lebih dari setengah kebutuhan akan isoflavon manusia. Oleh karenanya tempe dapat dikatakan sebagai sumber isoflavon yang penting. Hasil pengamatan Haron *et al.* (2009), proses fermentasi mampu meningkatkan isoflavon aglikon hingga dua kali serta meningkatkan bioavailabilitasnya. Isoflavon aglikon terbesar terdapat pada tempe mentah.

Selain sebagai sumber gizi, tempe merupakan sumber senyawa bioaktif. Menurut Agung (2013), tempe mengandung zat antimikroba aktif yang mampu melakukan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri yang sering mengganggu pencernaan dan absorpsi zat gizi. Konsumsi tempe secara rutin dapat mengurangi resiko terkena penyakit saluran pencernaan. Virgianti (2015) menambahkan bahwa tempe memiliki zat antibakteri terhadap mikroba penyebab diare. Kandungan senyawa aktif pada tempe tersebut merupakan hasil dari proses metabolisme *R. oligosporus*.

2.2 Mikrobiologi Tempe

Fermentasi dalam pembuatan tempe melibatkan beragam jenis mikroorganisme. Sejumlah spora kapang yang berperan penting dalam fermentasi tempe disebut inokulum tempe. Inokulum tempe sangat penting fungsinya dan mempengaruhi mutu tempe. Kapang yang paling berperan dalam produksi (fermentasi) tempe adalah *R. oligosporus* (Kustyawati *et al.* 2016). Namun Rahayu *et al.* (2015) menambahkan bahwa terdapat kapang lain dari jenis *Rhizopus* yang ditemukan dalam tempe selain *R. oligosporus*, antara lain adalah *R. arrhizus*, *R. oryzae* dan *R. stolonifer*. *Rhizopus* yang digunakan dalam produksi tempe mampu menghasilkan enzim proteolitik yang dapat mendegradasi protein menjadi asam amino dan peptida.

Fermentasi kedelai oleh kapang tempe menjadi tempe dapat meningkatkan mutu gizi kedelai. *Rhizopus oligosporus* diketahui dapat memperbaiki nutrisi kedelai karena banyak menghasilkan protease dan α -amilase. *Rhizopus oligosporus* juga mampu mensintesa vitamin-vitamin B (Wipradnyadewi *et al.*, 2004) dan menghasilkan senyawa antibiotik yang mampu menghambat beberapa mikroba penyebab penyakit (Roubous *et al.*, 2010). Konsumsi tempe secara terus-menerus diketahui dapat mencegah disentri dan gangguan pencernaan (Babu *et al.*, 2009) karena kemampuan kapang *Rhizopus sp.* memproduksi senyawa antibiotik yang kontra produktif terhadap beberapa mikroba patogen penyebab sakit (Roubous *et al.*, 2010). Efek antidiare tempe tersebut ada hubungannya dengan sifat antibakteri yang dimiliki tempe. Menurut Bintari *et al.* (2008), senyawa antibakteri pada tempe

tersebut adalah glikoprotein yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

Beberapa penelitian menghasilkan temuan bahwa selain kapang, terdapat mikroba lain seperti bakteri dan khamir yang juga terlibat dalam fermentasi tempe. Menurut Kustyawati (2009), bakteri merupakan mikroorganisme yang sering ditemukan dan tumbuh selama fermentasi kedelai menjadi tempe dan memiliki peran yang penting. Efriwati *et al.* (2013) menambahkan bahwa bakteri asam laktat sering ditemukan terdapat dalam fermentasi tempe dan berperan dalam menghasilkan tekstur dan aroma yang baik, sedangkan khamir memiliki peran penting dalam meningkatkan kandungan gizi tempe.

2.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Menurut Singleton dan Sainsbury (2006), *S. cerevisiae* merupakan jenis khamir yang sering digunakan oleh manusia dan merupakan organisme produsen amilase selain bakteri dan kapang. Salah satu ciri khamir adalah memiliki warna putih kekuningan jika dilihat dari permukaan media pertumbuhan koloni (Nurhakim *et al.*, 2016). Menurut Kusumaningtyas (2006), kandungan β -D-glukan pada dinding sel *S. cerevisiae* dapat mengikat aflatoksin, suatu toksin yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus*.

Saccharomyces cerevisiae adalah khamir potensial sebagai produsen β -glukan karena dinding selnya sebagian besar terbangun dari β -glukan. β -glukan pada sel khamir terdiri dari 30 hingga 45% β -1,3-glukan dan 5 hingga 10% β -1,6-glukan (Pengkumsri *et al.*, 2017). Menurut Lessage dan Bussey (2006), β -1,3-D-glukan berperan untuk memelihara bentuk dan kekakuan dinding sel, sedangkan β -1,6-D-glukan, menurut Amaniada *et al.* (2009) sebagai polisakarida yang mampu menghubungkan berbagai polisakarida pada dinding sel. *Saccharomyces cerevisiae* juga mampu menghasilkan enzim zymase untuk memecah ikatan polisakarida, sukrosa, dan fruktosa menjadi glukosa. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki struktur dinding sel yang mengandung glukosa dan berfungsi sebagai glikoprotein (Febriyanti *et al.*, 2016; Siwicki *et al.*, 2015).

Saccharomyces cerevisiae adalah khamir yang memiliki peran penting dalam proses fermentasi produk pangan. FDA menyetujui khamir ini sebagai bahan yang tergolong GRAS (*Generally Recognition As Safe*) dan telah dinyatakan aman untuk dikonsumsi tanpa efek samping. Oleh sebab itu banyak peneliti yang tertarik dengan *S. cerevisiae* dan potensi biologisnya termasuk sebagai penghasil dari β -glukan (Pengkumsri *et al.*, 2016; Leentjens *et al.*, 2014).

Struktur dinding sel *S. cerevisiae* sebagian besar terdiri dari polisakarida glukan dengan β -1,3-glukan dan Ikatan β -1,6-glukan (Zeković *et al.*, 2005). Komponen lainnya adalah mannoprotein yang terletak di sel luar dinding dan yang mengikat β -(1,6)-glukan (Basic *et al.*, 2009). β -glukan merupakan komponen utama dinding sel *S. cerevisiae* (Kusmiati *et al.*, 2016). Berat kering dinding sel *S. cerevisiae* sekitar 10 - 25% dari total biomassa selnya dan dari berat kering dinding sel tersebut mengandung 35 - 40% mannoprotein, 5 - 10% β -1,6-glukan, lebih dari setengah atau 50 - 55% terdiri dari β -1,3-glukan, 2 - 14% lipid, dan 1 - 2% kitin (Appeldoorn *et al.*, 2002). Jenis β -glukan pada dinding sel *S. cerevisiae* adalah β -(1,3)-glukan dengan cabang β -(1,6)-glukan. Kompleks β -(1,3)-glukan dan kitin merupakan penyusun utama dinding sel dalam, β -(1,6)-glukan menghubungkan komponen dinding sel dalam dan luar yang terikat dengan mannoprotein pada permukaan luar dinding sel (Basic *et al.*, 2009). β -glukan dari *S. cerevisiae* terdiri dari rantai utama β -(1,3) dengan cabang β terikat pada posisi O-6. β -(1,3; 1,6)-glukan yang diisolasi dari *S. cerevisiae* tidak larut dalam air, karena memiliki nilai percabangan yang rendah, dan terikat dengan kitin dan beberapa polisakarida lainnya, sehingga tidak larut dalam larutan alkali bersuhu tinggi (Synytsya and Novak, 2013). Polimerisasi rata-rata khamir β -(1,3)-glukan sekitar 1500 derajat dengan massa molekul 240 kDa, sedangkan polimerisasi rata-rata β -(1,6)- β -glukan adalah sekitar 150 derajat dengan massa molekul 24 kDa (Nie *et al.*, 2018).

2.4 β -Glukan

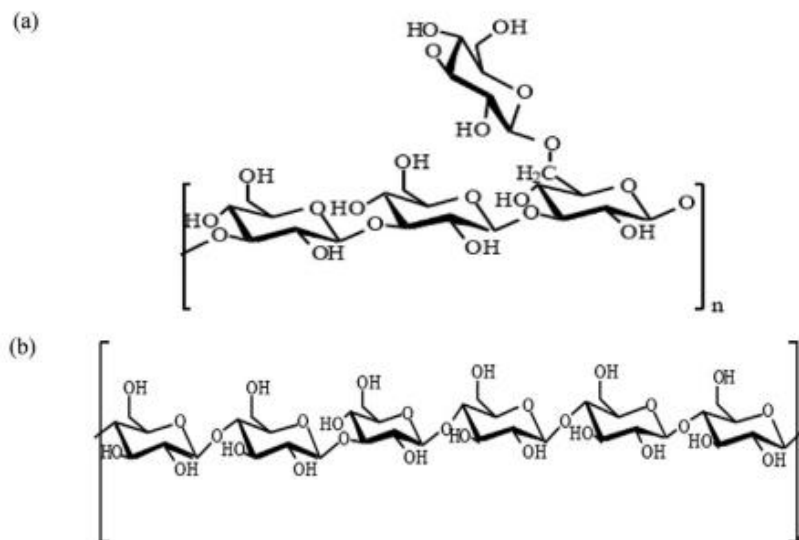
Menurut Ha *et al.* (2002), β -glukan adalah homopolimer glukosa yang terikat oleh ikatan β -(1,3)-glukosida dan β -(1,6)-glukosida. β -glukan banyak terdapat pada dinding sel bakteri dan khamir (Hunter *et al.*, 2002). Menurut Corno *et al.* (2020)

β -glukan adalah senyawa polisakarida yang memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain sebagai pengubah respon biologis; sebagai agen antimikroba terhadap mikroorganisme termasuk bakteri, kapang, dan parasit (Hetland *et al.*, 2013); sebagai anti-mutagenik dan anti-tumorogenik (Widyastuti *et al.*, 2011), penambah respon imunitas dan antikanker (Vannucci *et al.*, 2013). Lee *et al.* (2001) menambahkan bahwa β -glukan mempunyai berbagai aktivitas biologis seperti antikolesterol dan mampu meningkatkan imunitas.

Sebagai salah satu jenis serat makanan (*dietary fiber*), β -glukan dapat ditemukan di berbagai sumber alami seperti khamir, kapang, bakteri, ganggang, dan gandum. β -glukan menunjukkan aktivitas biologis dengan spektrum luas termasuk antitumor, modulasi sifat imun (Rieder & Samuelsen, 2012). β -glukan telah menarik perhatian selama bertahun-tahun karena sifat fisik dan kimianya. β -glukan dari beragam sumber dan dengan berat molekul berbeda memiliki aktivitas biologis yang berbeda (Du and Xu, 2014).

Menurut Cheeseman and Brown (2000), β -glukan memiliki sifat fisika dan kimia antara lain: di alam β -glukan berbentuk senyawa berwarna putih berupa gumpalan besar dan tidak berbentuk kristal, tidak berasa manis, tidak larut di dalam air netral dan dapat dipisahkan dengan mudah dalam larutan alkali, bila dicampur dengan air akan membentuk larutan koloid dan berbentuk gel pada suhu 54°C. Manfaat utama β -glukan adalah guna memperbaiki sistem imunitas tubuh dan menurunkan kadar kolesterol. β -glukan diketahui mampu menstimulasi makrofag atau leukosit yang memiliki peranan penting sebagai pertahanan awal sistem kekebalan tubuh. Keuntungan lain, β -glukan adalah bahan alami yang tidak beracun dan tidak berefek negatif bagi tubuh, membantu regenerasi dan memperbaiki jaringan, mengaktifkan dan menguatkan sistem imun, serta menunjang keaktifan obat antibiotik dan

antiviral (Thontowi *et al.*, 2007). Gambar 1 berikut memperlihatkan struktur β -glukan.



Gambar 1. Struktur β -glukan dan β -glukan yang termodifikasi secara kimia. β -(1-3)-glukan dengan percabangan β -(1-6) (a); β -(1-3 dan 1-4)-glukan dengan rantai lurus (Zhu *et al* 2016) (b).

Polimer-polimer glukan merupakan serat yang tidak dapat dicerna oleh manusia karena manusia tidak mempunyai enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β -glikosidik. Di dalam saluran pencernaan, serat-serat yang tidak dapat larut ini dapat dimetabolisme dan bermanfaat dalam diet (Thontowi *et al.*, 2007). β -glukan merupakan imunostimulan yang berasal dari dinding sel *S. cerevisiae* atau dari tanaman tinggi yang memiliki berat molekul tinggi dan bercabang-cabang mengandung lebih dari 250.000 glukosa. Senyawa β -1,3-glukan mempunyai derajat polimerisasi 1.500 dengan berat molekul 240.000 dan panjang serat \pm 660 nm. β -glukan yang diperoleh dari dinding sel khamir memiliki struktur ikatan 1,3 dan 1,6-glukan, pada gandum memiliki ikatan β -1,3-glukan dan β -1,4-glukan seperti Gambar 1b.

Pemberian β -glukan dari ekstraksi *S. cerevisiae* memiliki efek yang lebih besar dalam sistem imun tubuh dibandingkan dengan β -glukan yang bersumber dari gandum (Vetvicka and Vetvickova, 2010). Mekanisme pembentukan β -glukan pada dinding sel khamir adalah melalui metabolisme glukosa. Glukosa diubah menjadi

glukosa-6-fosfat, yang kemudian menghasilkan glukosa-1-fosfat karena adanya enzim fosfoglukomutase, dan kemudian diubah kembali menjadi glukosa uridin difosfat (UDP-glukosa). UDP-glukosa ini adalah salah satu unsur penyusun dinding sel khamir, diantaranya β -glukan (Appeldoorn *et al.*, 2002; Diez, 2016). β -glukan pada dinding sel *S. cerevisiae* bekerja sebagai kerangka pendukung dinding sel untuk menguatkan struktur sel serta berfungsi untuk cadangan makanan sel.

2.5 Ekstraksi β -Glukan dari Khamir.

Menurut Zhu *et al.* (2016), banyak metode yang dapat menjadi alternatif untuk ekstraksi β -glukan, tergantung dari berbagai sumber yang digunakan. Ekstraksi β -glukan dari khamir juga dapat dilakukan dengan berbagai cara. Zlatkovic *et al.* (2003) mengisolasi β -glukan dari khamir roti kering yang masih aktif. Fitur struktural utama dari polisakarida yang disimpulkan berdasarkan hasil yang diperoleh adalah rantai linier dari β -D-glukopiranososa yang terhubung pada percabangan (1-3), bagian yang disubstitusi melalui posisi O-6. Suphantharika *et al.* (2003) memperoleh β -glukan dari dinding sel khamir yang digunakan untuk membuat bir melalui ekstraksi alkali sederhana. Hasilnya menunjukkan bahwa parameter ekstraksi yang optimal adalah sebagai berikut: waktu ekstraksi selama 1 jam, konsentrasi NaOH 1,0 N, suhu ekstraksi 90°C dan rasio antara dinding sel khamir dengan larutan NaOH adalah 1 : 5 (b/v), hasilnya adalah 51% β -glukan. Selain itu, Thammakiti *et al.* (2004) memproduksi β -glukan dari khamir yang digunakan untuk pembuatan makanan. Proses produksinya adalah sebagai berikut: Khamir untuk pembuatan bir diautolisis dan dinding selnya dihomogenisasi, diekstraksi terlebih dahulu dengan alkali, kemudian dengan asam, dan kemudian di *spray drying*.

Liu *et al.* (2018) mengkstraksi β -glukan dari *S. cerevisiae* dengan cara sebagai berikut: β -glukan dari sel khamir yang dikultur dengan 100 ppm SDS diekstraksi. NaCl (3% b/v) ditambahkan untuk membuat suspensi sel 30% b/b dan diinkubasi pada 55°C, pH 5 selama 24 jam dengan pengadukan ringan (120 rpm). Kemudian, campuran dipanaskan hingga 85°C, dipertahankan pada suhu ini selama 15 menit dan didinginkan hingga 25°C. Campuran disentrifugasi pada 4.500 x g selama 10 menit. Selanjutnya, puing-puing sel diatur hingga 30% b/v dengan buffer natrium

fosfat, 0,02 M, pH 7,5, dengan bola kaca (0,4 mm). Suspensi diautoklaf pada suhu 121°C selama 4 jam. Residu dinding sel yang tidak larut dipisahkan, dicuci tiga kali, dan disentrifugasi pada 4.500 x g selama 7 menit pada suhu kamar. Setelah itu, residu (10 % w/v) dalam air suling disonikasi pada 20 KHz, 150 W dalam *ice batch* selama 6 menit dan disentrifugasi pada 4.500 x g selama 15 menit pada 10°C. Lipid diekstraksi dengan aseton menggunakan residu dinding sel: aseton sebagai 1:1 (b/v) selama 2 jam dan disentrifugasi pada 4.500 x g selama 7 menit. Residu dinding sel tanpa lipid dicuci dengan akuades sebanyak 4 kali dan dipisahkan dengan sentrifugasi. Akhirnya, 0,3% v/v dari residu dinding sel diberi 0,3% (b/v) Savinase 16L tipe Ex (EC. 3.4.21.62) pada 55°C pH 10 selama 4 jam untuk menghilangkan protein.

2.6 Karakterisasi β -Glukan Menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Fourier Transform Infra Red atau FTIR adalah suatu teknik untuk mendapatkan spektrum inframerah dari penyerapan zat padat atau cair. Prinsip kerja FTIR secara sederhana adalah mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi suatu senyawa, sekaligus untuk menganalisis campuran dan sampel (Griffiths dan Hasseth, 2007). Fajri *et al.* (2013) menggunakan FTIR dengan teknik cakram KBr untuk mengetahui keberadaan senyawa β -glukan dari ekstrak kering jamur shiitake. Ekstrak kering jamur shiitake yang diduga mengandung glukan ditambah dengan serbuk KBr kering lalu dicampur sampai merata. Campuran tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam pencetak dengan alat *press*, kemudian cakram KBr dilepas dari alat *press*. Selanjutnya dilakukan *scanning* dengan FTIR pada frekuensi antara 400 hingga 4000 cm^{-1} . Analisis yang sama juga dilakukan untuk β -glukan standar, hasil keduanya lalu dibandingkan.

FTIR dapat digunakan untuk tujuan karakterisasi senyawa β -glukan dalam tempe melalui pengamatan gugus fungsi β -glukan standar dari *S. cerevisiae* dan sampel tempe. Spektrum infra merah senyawa β -glukan dalam suatu bahan, menurut Thontowi *et al.* (2007), dicirikan oleh adanya puncak serapan pada panjang gelombang 3750-3000 cm^{-1} yang menunjukkan gugus -OH, panjang gelombang

3000-2700 cm^{-1} yang mengindikasikan gugus $-\text{CH}$, dan panjang gelombang 1260-1050 cm^{-1} untuk gugus $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ (Tabel 3). Adanya ikatan beta-glikosida dalam suatu senyawa, menurut Sarangi *et al.* (2006), ditunjukkan dengan adanya spektrum infra merah pada panjang gelombang 1024 dan 867 cm^{-1} . Sementara Hozova *et al.* (2007) mengungkapkan bahwa ikatan β -1,3-D-glukan keberadaanya diindikasikan oleh pita serapan pada 895 cm^{-1} .

Tabel 3. Spektrum infra merah pada analisis FTIR dengan gugus fungsinya.

Panjang Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
3750-3000	Alkohol atau hidroksil (OH)
3000-2700	CH alkana
1260-1050	-C-O-C- (eter)
1024-867	Ikatan β -glikosidik

Sumber: *Widyastuti *et al.* (2011) dan **Thontowi *et al.* (2007)

III. KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Pemikiran

Kualitas tempe sangat dipengaruhi oleh inokulum tempe yang digunakan. Selama ini *R. oligosporus* dianggap sebagai jenis kapang yang paling berperan dalam produksi tempe (Kustyawati *et al.*, 2014). Namun demikian, beberapa penelitian telah melaporkan adanya keterlibatan mikroba lain dalam proses fermentasi tempe selain *R. oligosporus*, seperti bakteri dan khamir. Kustyawati (2009) melaporkan bahwa bakteri-bakteri indigenus tempe mampu tumbuh bersama kapang dan khamir selama fermentasi tempe. Bakteri secara signifikan selalu tumbuh selama pembuatan tempe. Hasil penelitian yang sama diungkapkan oleh Efriwati *et al.* (2013), yang menyatakan bahwa tempe mengandung bakteri asam laktat.

Khamir merupakan suatu mikroba yang terlibat dalam fermentasi tempe. Keterlibatan dan peran khamir dalam fermentasi tempe perlu dikaji lebih mendalam, khususnya terkait dengan kemampuannya dalam menghasilkan β -glukan. Spesies khamir yang berpotensi untuk dimanfaatkan dalam produksi tempe adalah *S. cerevisiae* (Kustyawati *et al.*, 2016). Keunggulan dari *S. cerevisiae* adalah kemampuannya menghasilkan β -glukan yang memiliki peranan penting dalam kesehatan. Menurut Lee *et al.* (2001), *S. cerevisiae* termasuk khamir uniseluler yang banyak terdapat di alam dan merupakan galur yang berpotensi besar sebagai penghasil β -glukan, karena dinding selnya sebagian besar tersusun dari β -glukan. Adanya *S. cerevisiae* yang secara sengaja ditambahkan dalam proses fermentasi tempe ditujukan untuk mendapatkan tempe yang mengandung β -glukan. Dengan demikian maka tempe yang dihasilkan tidak hanya memiliki nilai gizi dan sifat-sifat fungsional yang selama ini sudah diketahui tetapi juga memiliki manfaat lebih baik lagi bagi kesehatan karena adanya β -glukan di dalamnya.

Selama fermentasi tempe, *S. cerevisiae* diprediksi dapat bersinergi dengan pertumbuhan kapang dan bakteri indigenus. Khamir mampu merangsang pertumbuhan mikroba lain dengan menghasilkan faktor tumbuh. Bersama *R. oligosporus* khamir dapat tumbuh dan mampu merangsang pertumbuhan kapang pada fermentasi tempe. Selain itu, khamir akan berkontribusi pada interaksi antara mikroorganisme. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengamati pertumbuhan mikroba selama fermentasi tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* dan pengaruhnya terhadap kandungan β -glukan dalam tempe dan sifat fungsional tempe yang dihasilkan.

Jumlah β -glukan dalam tempe dipengaruhi oleh jumlah dan pertumbuhan khamir selama proses fermentasi tempe. Semakin tinggi jumlah *S. cerevisiae* selama proses fermentasi maka diprediksi kandungan β -glukan tempe pun semakin bertambah. Pada penelitian pendahuluan diketahui bahwa kandungan β -glukan tertinggi pada tempe yang dibuat dengan menambahkan starter *S. cerevisiae* dalam bentuk bubuk khamir merk Fermipan hanya mencapai 0,076% (bb). Namun pada penelitian pendahuluan dengan menggunakan inokulum starter murni berupa khamir *S. cerevisiae*, kandungan β -glukan tempe yang dihasilkan mampu mencapai 0,424% (bb), atau setara hampir 6 kali lipatnya. Kandungan β -glukan pada tempe hasil percobaan pendahuluan tersebut diduga masih belum optimal dibandingkan dengan hasil penelitian Andriani (2007) yang menggunakan sel khamir murni yang ditumbuhkan pada substrat pertumbuhan sebagai sumber β -glukan dan menghasilkan β -glukan dengan jumlah sangat tinggi, yaitu berkisar antara 88-90% (bk). Rendahnya kandungan β -glukan pada tempe yang diberi penambahan *S. cerevisiae* diduga karena pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi tempe belum optimal. Hal ini dikarenakan kedelai yang sudah dimasak bukan merupakan substrat pertumbuhan yang ideal bagi khamir. Karena itu kajian penambahan bahan lain yang berperan sebagai sumber energi yang mampu meningkatkan pertumbuhan *S. cerevisiae* selama fermentasi perlu dilakukan agar diperoleh tempe yang mengandung β -glukan lebih tinggi.

Kapang, khamir, dan bakteri asam laktat pada tempe menghasilkan nilai gizi dan komponen bioaktif yang memiliki manfaat bagi kesehatan (Nurdini *et al.* 2015).

Fadahuni *et al.* (2013) menambahkan bahwa *R. oligosporus* memiliki kemampuan memproduksi senyawa fenol yang berfungsi sebagai zat antimikroba dan antioksidan. Zat antimikroba yang terdapat pada tempe mampu melawan mikroba penyebab penyakit. Oleh karenanya mengonsumsi tempe mampu mencegah penyakit diare (Roubous dan Nout, 2011). Selain itu, kandungan β -glukan yang berasal dari *S. cerevisiae* juga merupakan senyawa yang bersifat antimikroba terhadap *E. coli* dan *Pneumococci* (Hetland *et al.*, 2013). Penghambatan yang ditunjukkan oleh ekstrak tempe terhadap bakteri patogen membuat adanya dugaan bahwa tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* aktivitas antimikrobanya akan meningkat. Untuk itu perlu dilakukan kajian daya hambat tempe yang diberi penambahan *S. cerevisiae* terhadap mikroba patogen *E. coli*.

3.2 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini meliputi :

1. Terdapat jenis dan konsentrasi sumber energi yang menghasilkan pertumbuhan *S. cerevisiae* dan *R. oligosporus* yang optimal sehingga menghasilkan kandungan β -glukan yang tinggi pada tempe.
2. Terdapat pola pertumbuhan kapang, khamir, dan bakteri selama fermentasi tempe yang dibuat dengan penambahan inokulum *S. cerevisiae* dan terdapat jenis mikroorganisme yang berperan dominan dalam pembentukan β -glukan.
3. Tempe yang dibuat dengan penambahan inokulum *S. cerevisiae* memiliki aktivitas antioksidan dan daya hambat terhadap *E. coli*, serta karakteristik kimia dan sifat organoleptik yang lebih baik dibandingkan dengan tempe pada umumnya.
4. β -glukan dalam tempe yang dibuat dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kesamaan spektrum UV-Vis dan FTIR dengan β -glukan standar dari *Saccharomyces cerevisiae*.

IV. TAHAPAN DAN RUANG LINGKUP PENELITIAN

Untuk menjawab permasalahan dan tujuan penelitian serta membuktikan hipotesis maka penelitian ini dilaksanakan dalam 3 tahapan dengan ruang lingkup sebagai berikut:

1. Tahap pertama

Penelitian pertama dilaksanakan untuk mengoptimalkan pertumbuhan kapang dan khamir saat berlangsung proses fermentasi kedelai menjadi tempe sehingga dihasilkan tempe dengan kandungan β -glukan tertinggi. Oleh karena itu judul penelitian tahap pertama adalah: Pengaruh jenis dan konsentrasi sumber energi terhadap pertumbuhan kapang dan khamir serta pembentukan β -glukan pada tempe.

2. Tahap kedua

Penelitian kedua dilaksanakan untuk mempelajari pengaruh jenis inokulum tempe dan waktu fermentasi pada produksi tempe yang diberi penambahan substrat terbaik pertumbuhan kapang dan khamir hasil penelitian tahap pertama. Ruang lingkup kajiannya meliputi pola pertumbuhan mikroba yang terlibat dalam fermentasi, pembentukan β -glukan, aktivitas antioksidan, dan aktivitas daya hambat tempe terhadap *E. coli* selama fermentasi. Judul penelitian tahap kedua: Pengaruh jenis inokulum terhadap pertumbuhan mikroba, pembentukan β -glukan, aktivitas daya hambat terhadap *E. coli* dan aktivitas antioksidan selama fermentasi.

3. Tahap ketiga

Penelitian tahap ketiga dilakukan untuk mempelajari karakteristik tempe yang diproduksi dengan penambahan kapang dan khamir dengan konsentrasi inokulum terbaik hasil penelitian tahap kedua. Kajiannya meliputi kandungan gizi tempe, aktivitas antioksidan, daya hambat terhadap *E. coli*, sifat organoleptic, serta karakteristik β -glukan yang terdapat dalam tempe. Judul penelitian tahap ketiga: Mempelajari karakteristik tempe yang diproduksi dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*.

IX. KESIMPULAN UMUM, SARAN DAN IMPLIKASI PENERAPAN

9.1 Kesimpulan Umum

Beberapa kesimpulan penting yang dapat diambil dari penelitian ini dapat diuraikan sebagai berikut:

Penambahan sumber energi berupa tepung terigu dan tapioka dalam pembuatan tempe yang melibatkan inokulum campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus* mampu meningkatkan pertumbuhan khamir dan kapang yang menghasilkan peningkatan jumlah β -glukan pada tempe. Penambahan tapioka 10% (b/b) menghasilkan kandungan β -glukan tertinggi pada tempe (0,71%), sedangkan pembuatan tempe dengan inokulum campuran *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* masing-masing 1,5% tanpa pemberian sumber energi tambahan (tepung terigu dan tapioka) dapat menghasilkan kandungan β -glukan yang tidak jauh berbeda, yaitu 0,57% (b/b). Oleh karena itu, untuk menghasilkan tempe dengan kandungan β -glukan tinggi tidak harus menggunakan tambahan sumber energi (terigu atau tapioka).

Pemberian inokulum tambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap inokulum utama pembuatan tempe, yaitu *Rhizopus oligosporus*, dalam fermentasi tempe tanpa penambahan sumber energi (terigu maupun tapioka) dapat meningkatkan jumlah β -glukan dalam tempe secara nyata. Kandungan β -glukan dalam tempe membuat tempe memiliki potensi sebagai bahan pangan yang dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan antikolesterol. Penambahan *S. cerevisiae* juga menyebabkan sifat fungsional tempe menjadi lebih baik, karena aktivitas antioksidan dan daya hambat terhadap *E. coli*, lebih tinggi dibandingkan tempe biasa tanpa penambahan *S. cerevisiae*.

Pengujian terhadap β -glukan melalui Teknik FTIR menunjukkan bahwa tempe yang dibuat dengan inokulum campuran *Rizhopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* memperlihatkan spektrum FTIR yang memiliki kemiripan dengan spektrum FTIR β -glukan standar yang bersumber dari ekstrak *Saccharomyces cerevisiae*. Hal ini mengindikasikan bahwa tempe mengandung β -glukan. Selain itu, tempe yang dibuat dengan penambahan inokulum campuran *Rizhopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* tanpa penambahan tepung terigu atau tapioka memenuhi standar SNI dan secara sensori dapat diterima oleh panelis.

9.2 Saran Umum

Berdasarkan uraian hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan maka untuk menghasilkan tempe yang mengandung β -glukan tinggi disarankan untuk menggunakan campuran inokulum *Rizhopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* masing-masing 1,5%, baik dengan atau tanpa penambahan tepung terigu atau tapioka, dengan lama fermentasi antara 36-40 jam pada suhu ruang.

Identifikasi lebih lanjut menggunakan MS dan NMR perlu dilakukan untuk mengetahui struktur senyawa β -glukan dalam tempe yang diproduksi dengan penambahan inokulum *S. cerevisiae*.

9.3 Implikasi Penerapan

Secara prinsip, pengembangan produk tempe yang mengandung β -glukan tinggi dengan memberikan inokulum tambahan berupa *S. cerevisiae* dapat diterapkan di masyarakat. Pengembangan “ragi” tempe instan yang mengandung kedua mikroba *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* perlu dilakukan sehingga dapat digunakan secara praktis dalam pembuatan tempe ber- β -glukan tinggi.

Kadar β -glukan tertinggi pada tempe didapat dari hasil penelitian dengan penambahan inokulum campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* adalah 0,57%. Jumlah ini dinilai dapat mencukupi kebutuhan β -glukan sebagai suplemen bagi kesehatan. Hal ini didasarkan pada informasi yang didapat bahwa tablet suplemen β -glukan yang dijual secara komersial di pasaran di antaranya memiliki kadar β -

glukan sebesar 10 mg. Dengan demikian, mengonsumsi 1 potong tempe berukuran berat 10 gram berpotensi mampu menggantikan 5 tablet suplemen berukuran berat masing-masing 1 gram yang mengandung 10 mg β -glukan. Akan tetapi hal ini masih membutuhkan analisis lebih lanjut untuk pembuktiannya secara ilmiah.

Penelitian ini telah menghasilkan beberapa artikel ilmiah baik yang disajikan dalam seminar nasional dan internasional dan dimuat dalam prosiding maupun artikel ilmiah yang diterbitkan dalam jurnal nasional dan internasional bereputasi (Tabel 49, Lampiran). Di antaranya adalah dua buah artikel yang dimuat di jurnal internasional terindeks Scopus Q2 dan Q3. Artikel yang berjudul “Growth Optimization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhizopus oligosporus* during Fermentation to Produce Tempeh with High β -Glucan Content” dimuat di Jurnal BIODIVERSITAS Journal of Biological Diversity yang diterbitkan oleh *Society for Indonesia Biodiversity*, Universitas Sebelas Maret, Volume 21, Nomor 6, Juni 2020. Pada Januari 2021 juga telah terbit satu artikel ilmiah dalam International Journal of Food Science (Scopus, Q2) dengan judul artikel “The Growth of Yeast and Fungi, the Formation of β -Glucan, and the Antibacterial Activities during Soybean Fermentation in Producing Tempeh”.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrian, S. dan Maulid, D.Y. 2020. Analisis Proksimat dan Logam Berat pada Tempe dengan Penambahan Tepung Ikan. *Marine and Fisheries Science Technology Journal*. 1 (3): 83-90.
- Agung. I.G.A. 2013. *Suplementasi Kombinasi Tempe M-2 dengan Wortel Meningkatkan HDL dan Antioksidan Total, serta Menurunkan LDL, F2-Isoprostan dan IL-6 pada Wistar Aterosklerosis*. (Disertasi). Universitas Udayana. Denpasar.
- Ahmad, A., Anjumb, F. M., Zahoorb, T., Nawazc, H., and Ahmedd, Z. 2010. Extraction and Characterization of B-D-Glucan from Oat for Industrial Utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 304-309.
- Aimaniada, V., Clavaud, C., Simenel, C., Fontaine, T., Delepierre, M., and Latage, J.P. 2009. Cell Wall (1→6)-β-D-glukan of *Saccharomyces cerevisiae* – Structural Characterization and In Situ Synthesis. *The Journal of Biological Chemistry*. 284: 13401-13412.
- Anam, C., Handajani, S., and Rokhmah, L.N. 2010. Study of Phytic Acid and Protein Contents During Velvet Beans Tempeh Production (*MucunaPruriensL.*) with Variation of Size Reduction and Fermentation Time. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 3 (1): 34-43.
- Andayani, P., Wardani, A.K., dan Murtini, E.S. 2008. Isolasi Isolasi dan Identifikasi Mikroba dari Tempe Sorgum Coklat (*Sorghum Bicolor*) serta Potensinya dalam Mendegradasi Pati dan Protein. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9 (2): 95-105.
- Andriani, Y. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak β-glukan dari *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Gradien*. 3 (1): 226-230
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists*. Benjamin Franklin Station. Washington.
- Appeldoorn, N.J.G., Sergeeva, L., Vreugdenhil, D., Van Der Plas, L.H.W., and Visser, R.G.F. 2002. In Situ Analysis of Enzymes Involved in Sucrose to Hexose-Phosphate Conversion during Stolon-to-Tuber Transition of Potato. *Physiolog. Plantarum*. 115(2): 303–310.
- Aptesia, L.T., Suharyono, dan Rasyid, H.A. 2013. The Use of *Lactobacillus casei* and Tapioca to Slow Down Soy Tempeh Deterioration. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 18 (2): 175-184.

- Astawan, M., Wresdiyati, T., Widowati, S., Bintari, S.H., dan Ichسانی, N. 2013. Karakteristik Fisikokimia dan Sifat Fungsional Tempe yang Dihasilkan dari Berbagai Varietas Kedelai. *Jurnal Pangan*. 22 (3): 241-252.
- Azizah, N., Al-Baarri, A.N., dan Mulyani, S. 2012. Effect of Fermentation Time on Alcohol Content, pH, and Gas Production on The Bioethanol Fermentation Process of Whey with Pineapple Skin Substitution. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1 (2): 72-77.
- Babu, P.D., Bhakayaraj, R., and Vidhayalakshmi, R. 2009. Low Cost Nutritious “Tempeh” - A Review. *Word Journal Daily Food Science*, 4 : 22-27.
- Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 3144-2015 *Tempe Kedelai*. Badan Standardisasi Nasional.
- Banobe, C.O., Kusumawati, I.G.A.W., dan Wiradnyani, N.K. 2019. Nilai Zat Gizi Makro dan Aktivitas Antioksidan Tempe Kedelai (Glycine Max L.) Kombinasi Biji Kecipir (*Psophocarpus Tetragonolobus*). *Pro Food (Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan)*. 5 (2): 486-495.
- Barnett, P. 2000. *Saccharomyces cerevisiae* PTS1 Receptor Pex5p Interacts with The SH3 Domain of the Peroxisomal Membrane Protein Pex13p in an Unconventional Non-PXXP-related Manner. *Molecular Biology of the Cell*. 11(11): 3963-3976.
- Barus, T., Suwanto, A., Wahyudi, AT., and Wijaya, H. 2008. Role of Bacteria in Tempe Bitter Taste Formation: Microbiological and Molecular Biological Analysis Based on 16S rRNA Gene. *Microbiology*. 2(1): 17-21.
- Bavia, A.C.F., Silva, C.E., Ferreira, M.P., Leite, R.S., Mandarino, and Panizzi, M.C.C. 2012. Chemical Composition of Tempeh from Soybean Cultivars Specially Developed for Human Consumption. *Journal Ciência Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 32 (3) : 613-620. ISSN 0101-2061.
- Bintari, S.H., Anisa, D.P., Veronika, E.J., dan Rivana, C.R. 2008. Efek Inokulasi Bakteri *Micrococcus luteus* terhadap Pertumbuhan Jamur Benang dan Kandungan Isoflavon pada Proses Pengolahan Tempe. *Jurnal Biosantifika*. 1 : 1-8.
- Cempaka, L. and Aryantha, I.N.P. 2015. Effect of Glucose Concentration on the Production of β -Glucan by *Saccharomyces cerevisiae*. 2nd Asia-Australia Dairy Goat Conference, 26-27 April 2014, Bogor, Indonesia.
- Chamidah, A., Hardoko, and Prihanto, A. A. 2017. Antibacterial Activities of β -Glucan (Laminaran) Against Gram-negative and Gram-positive Bacteria. AIP Conference Proceeding. 1844, 020011-1–020011-7; Doi: 10.1063/1.4983422. The 7th International Conference on Global Resource Conservation.
- Cheeseman, I.M. and R. M. Brown, jr. 2000. *Microscopy of Curdian Structure*. Depement of Botany. The University of Texas. Austin
- Corno, MD., Gessani, S., and Conti, L. 2020. Shaping the Innate Immune Response by Dietary Glukans: Any Role in The Control of Cancer?. *Cancers (Basel)*. 12(1): 155. DOI: [10.3390/cancers12010155](https://doi.org/10.3390/cancers12010155).

- Denter, J. and Bisping, B. 1994. Formation of B-Vitamins by Bacteria during The Soaking Process of Soybeans for Tempe Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 22: 23-31.
- Dhayakaran, R. P. A., Neethirajan, S., Xue, J., and Shi, J. 2015. Characterization of Antimicrobial Efficacy of Soy Isoflavones Against Pathogenic Biofilms. *LWT - Food Science and Technology*. 63 (2): 859–865.
- Du, B., and Xu, B. J. 2014. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferricreducing Antioxidant Power (FRAP) of β -Glucans from Different Sources with Various Molecular Weight. *Bioactive Carbohydrate and Dietary Fibre*, 3, 11-16.
- Efriwati, Suwanto, A., Rahayu, G., and Nuraida, L. 2013. Populations Dinamic of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB) during Tempeh Production. *Hayati Journal of Biosciences*. 20 (2) : 57-64. ISSN: 2086-4094.
- Fadahunsi, I.F., Ogunbanwo, S.T. and Ogundana, D.T. 2013. Heat Stability and Optimization of In Vitro Antimicrobial Activity of Metabolites Produced by *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 Against Some Pathogenic Bacteria. *Trakia Journal of Science*. 2: 110-117.
- Fajri, Djajanegara, I., dan Hermanto, S. 2013. Ekstraksi dan Penentuan Konsentrasi Senyawa β -1,3;1,6-D-Glukan dari Jamur Shiitake (*Lentinula edodes*). *Bioteknologi*, 10 (2): 60-66
- Fajri, M. dan Sulasmi. 2014. Pengaruh Pengepresan dan Penggorengan Terhadap Zat Gizi Pada Tempe Kacang Tanah. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi BPTP Yogyakarta*, hal. 697-701.
- Fakruddin, M., Hossain, M.N. and Ahmed, M.M. 2017. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a Potential Probiotic. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 17:64
- Febriyanti, A.E. dan Sari, C.N. 2016. Efektivitas Media Pertumbuhan Khamir Komersial (*Saccharomyces cerevisiae*) untuk Fermentasi Bioetanol dari Eceng Gondok', *J. Bioma*. 12(2): 43–48.
- Feng, X.M., Larsen, T.O., and Schnürer, J. 2007. Production of Volatile Compounds by *Rhizopus oligosporus* during Soybean and Barley Tempeh Fermentation. *Journal of Food Microbiology*, 113(2): 133–141.
- Ferdiansyah, M.K. (2018). Pengaruh Konsumsi Serat Pangan Barley pada Metabolisme Lipid. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*. 2 (1): 72-81.
- Ferreira M. 2011. Changes in The Isoflavone Profile and in The Chemical Composition of Tempeh During Processing and Refrigeration. *Pesq Agropec Bras*, 46(11): 1555-1561.
- Gonzaga, M. L. C., Menezes, T. M. F., deSouza, J. R. R., Ricardo, N. M. P. S., and Soares, S. A. 2013. Structural Characterization of β -Glucans Isolated from *Agaricus blazei* Murill using NMR and FTIR Spectroscopy. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2, 152-156.
- Griffiths, P. and de Hasseth, J. A. 2007. Fourier Transform Infrared Spectrometry (2nd ed.). Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-471-19404-0.

- Ha, C., Lim, K., Kim, Y., Lim, S., Kim, C., and Chang, H. 2002. Analysis of Alkali-Soluble Glucan Produced by *Saccharomyces cerevisiae* Wild-Type and Mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 58 (3): 370-377.
- Handoyo, T. and Morita, N. 2006. Structural and Functional Properties of Fermented Soybean (Tempe) by Using *Rhizopus oligosporus*. *International Journal of Food Properties* 9 : 347-355.
- Haron, H., Ismail, A., Azlan, A., Shahar, S., and Peng, L.S. 2009. Daidzein and Genestein Contents in Tempeh and Selected Soy Products. *Journal of Food Chem.* 115(1): 1350-1356.
- Hermiati, E., Azuma, J., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T., Suparno, O., and Prasetya, B. 2011. Hydrolysis of Carbohydrates in Cassava Pulp and Tapioca Flour under Microwave Irradiation. *Indonesian Journal of Chemical*. 11 (3): 238-245.
- Hetland, G., Johnson, E., Eide, D.M., Grinde, B., Samuelsen, A.B.C., and Wiker, H. G. 2013. Antimicrobial Effects of β -Glukans and Pectin and of the *Agaricus blazei* Based Mushroom Extract, AndoSan™. Examples of Mouse Models for Pneumococcal, Fecal Bacterial, and Mycobacterial Infections. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them : Science, Technology and Education (A. Méndez-Vilas, Ed.)*. Formatex. Hal. 889-898.
- Hozová, B., Kuniak, L., Petra, M., and Alena, G. 2007. Determination of Water-Insoluble Beta-D-Glucan in The Whole-Grain Cereals and Pseudocereals In: *Czech Journal of Food Sciences*. ISSN 1212-1800. 25 (6): 316-324
- Hunter, K.W.Jr., Gault, R.A., and Berner, M.D. 2002. Preparation of Microparticulate β -Glukan from *Saccharomyces cerevisiae* for Use in Immune Potentiation. *Letters in Applied Microbiology*. 35 (4): 267-269.
- Jelen, H., Majcher, M., Ginja, A., and Kuligowski, M. 2013. Determination of Compounds Responsible for Tempeh Aroma. *Food Chemistry*. 141 : 459-465.
- Józefowski, S., Yang, Z., Marcinkiewicz, J., and Kobzik, L. 2012. Scavenger Receptors and β -Glucan Receptors Participate in The Recognition of Yeasts by Marine Macrophages. *Inflamm Res*. 61: 113–126.
- Kanti, A. 2016. Effect Of Nitrogen Addition on The Amylase Production by *Aspergillus niger*, *Rhizopus oligosporus* and *Neurospora crassa* in Media Contained Sargassum and Rice Seed on Solid-State Fermentation. *Jurnal Biologi Indonesia*. 12 (2): 249-256.
- Keuth, S. and Bisping, B. 1994. Vitamin B-12 Production by *Citrobacter freundii* and *Klebsiella pneumoniae* during Tempeh Fermentation and Proof of Enterotoxin Absence by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*. 60: 1495–1499.
- Kiers, J.L., Nout, M.J.R., Rombouts, F.M., Nabuurs, M.J.A. and Van der Meulen, J. 2002. Inhibition of Adhesion of Enterotoxic *Escherichia coli* K88 by Soybean Tempe. *Letters of Applied Microbiology*, 35, 311–315.

- Kobayasi, S., Okazaki, N., and Koseki, T. 1992. Purification and Characterization of An Antibiotic Substance Produced from *Rhizopus oligosporus* IFO 8631. *Biosci Biotechnol Biochem*, 56:94-98.
- Kuligowski, M., Kuligowska, I.J., and Nowak, J. 2013. Evaluation of Bean and Soy Tempeh Influence on Intestinal Bacteria and Estimation of Antibacterial Properties of Bean Tempeh. *Polish Journal of Microbiology*. 62 (2) : 189– 194.
- Kusmiati, Tamat, S.R., Nuswantara, S., dan Isnaini, N. 2007. Produksi dan Penetapan Kadar β -Glukan dari Tiga Galur *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media Mengandung Molase. *Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(1): 7–16.
- Kustyawati, M. E., Subeki, Murhadi, Rizal, S., and Astuti, P. 2020. Vitamin B12 Production in Soybean Fermentation for Tempeh. *AIMS Agriculture and Food*. 5 (2): 262–271.
- Kustyawati, M.E. 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. *Jurnal Agritech* 29 (2) : 64-70.
- Kustyawati, M.E. 2014. *Pengawetan Tempe Menggunakan Teknologi Karbon Dioksida Bertekanan Tinggi*. (Disertasi). Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Kustyawati, M.E., Pratama, F., Saputra, dan Wijaya, A. 2014. Modifikasi Warna, Tekstur dan Aroma Tempe setelah Diproses dengan Karbondioksida Superkritik. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 25 (2) : 168-175. ISSN 1979-7788.
- Kustyawati, M.E., Sari, M., dan Haryati, T. 2013. Efek Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. *Jurnal Agritech*. 33 (3) : 281-287.
- Kustyawati, M.E., Nawansih, O., and Nurdjannah, S. 2016. Profile of Aroma Compounds and Acceptability of Modified Tempeh. *International Food Research Journal*. 24(2): 734-740.
- Kusumaningtyas, E. 2006. Isolat Lokal *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Biokompetitor *Aspergillus flavus*. *JITV*. 11 (4) :324- 330.
- Lawrance, P. 2011. *An Evaluation of Procedures for The Determination of Vitamin B12 in Foods, Supplements and Premixes using HPLC and UPLC after Selective Extraction with Immunoaffinity Cartridges*. LGC Limited, 1–12.
- Lee, J.N., Lee, D.Y., Ji, I.H., Kim, G.E., Kim, H.N., and Sohn, J.S. 2001. Purification of Soluble β -Glukan with Immune-Enhancing Activity from the Cell Wall of Yeast. *Bioscience Biotechnology, and Biochemistry*, 65, 837-841.
- Lee, P.G., Lee, U.K., and Song, H. 2018. Recent Advances in the Microbial Hydroxylation and Reduction of Soy Isoflavones. *FEMS Microbiology Letters* 365: 195.
- Lee, K., Choi, Y., Kim, K., Koo, H. J., dan Choi, J. 2019. Quantification of Unknown Nanoscale Biomolecules using the Average-Weight-Difference Method. *Appl. Sci.*, 9, 130.
- Leentjens, J., Quintin, J., Gerretsen, J., Kox, M., Pickkers, P., Netea, M.G. 2014. The Effects of Orally Administered Beta-Glucan on Innate Immune Responses

- in Humans, a Randomized Open-Label Intervention Pilot-Study. PLoS ONE 9(9): e108794
- Lessage, G. and Bussey, H. 2006. Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 70 (2) : 317-343.
- Limberger-Bayer, V. M., de Francisco, A., Chan, A., Oro, T., Ogliari, P.J., and Barreto, P.L.M. 2014. Barley β -Glucans Extraction and Partial Characterization. *Food Chemistry*, 154, 84-89.
- Liu, F., Zhuanzi, W., Jia, L., and Wenjian, Li. 2018. Radioprotective Effect of Orally Administered Beta-D-Glucan Derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *Int. J. Biolog. Macromol.* 115 (2017): 572-79.
- Magnani, M., Castro-Gomez, R.J.H., Mori, M.P., Kuasne, H., Gregorio, E.P., Libos Jr., F. and Colus, I.M.S. 2011. Protective Effect of Carboxymethyl-Glucan (CM-G) against DNA Damage in Patients with Advanced Prostate Cancer. *Genetics and Molecular Biology*. 34(1): 131-135.
- Maheshwari, G., Sowrirajan, S., and Joseph, B. 2017. Extraction and Isolation of β -Glucan from Grain Sources—A Review. *Journal of Food Science*. DOI: 10.1111/1750-3841.137.
- Mahmud, M.K., Hermana, N.A. Zulfianto, R. Rozzana, I. Ngadiarti, B. Hartati, dan Bernadus. 2009. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia(TKPI)*. Elex Media Komputindo. Jakarta. 84 hlm.
- Mambang, D.E.P., Rosidah, dan Suryanto, D. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 25 (1) : 115-118. ISSN 1979-7788.
- Many, J.N. and Vizhi, K. 2014. Analysis of Different Extraction Methods on the Yield and Recovery of β -Glucan from Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Int J Innovative Sci Eng Technol*. 1(6): 268-271.
- Maryati, Y., Susilowati, A., Artanti, N., Lotulung, P.D.N., dan Aspiyanto. 2020. Pengaruh Fermentasi terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Betasianin Minuman Fungsional Buah Naga dan Umbi Bit. *Jurnal Bioteknologi Dan Biosains Indonesia*. 7(1): 48-58.
- Melliawati, R., Rohmatussolihat, and Octavina, F. 2006. Selection of Potential Microorganisms for Sago Starch Fermentation. *Biodiversitas*. 7 (2): 101-104.
- Moreno, M.R.F., Leisner, J.J., Tee, L.K., Ley, C., Radu, S., Rusul, G., Vancanneyt, M. and De Vuyst, L. 2002. Microbial Analysis of Malaysian Tempeh and Characterization of Two Bacteriocins Produced by Isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Applied Microbiology*. 92, 147–157.
- Mojsov, K. 2010. Experimental Investigations of Submerged Fermentation and Synthesis of Pectinolytic Enzymes by *Aspergillus niger* : Effect of Inoculum Size and Age of Spores. *Journal of Technologies and Innovations*, 2(2): 40–45.
- Muthmainna, Sabang, S.M., dan Supriadi. 2017. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Protein dari Tempe Biji Buah Lamtoro Gung (*Leucaena leucocephala*). *J. Akad. Kim.* 5(1): 50-54.

- Naruemon, M., Romanee, S., Cheunjit, P., Xiao, H., McLandsborough, L.A., and Pawadee, M. 2013. Influence of Additives on *Saccharomyces cerevisiae* β -Glucan Production. *International Food Research Journal*. 20 (4): 1953-1959.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2003. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. 6th Ed M02-A11, Wayne, PA. USA.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of biochemistry* 6th edition. W.H. Freeman and company. 1198 Hal.
- Nicolasi, R. 1999. Plasmalipid Changes after Supplementation with β -Glucan Fiber from Yeast. *Am Journal Clin Nutrition*. 70:208-212.
- Nie, S., Cui, S.W., and Xie, M. 2018. Beta-Glucans and Their Derivatives. In *Bioactive Polysaccharides*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809418-1.00003-4>.
- Ningsih, T.E., Siswanto, dan Winarsa, R. 2018. Aktivitas Antioksidan Kedelai Edamame Hasil Fermentasi Kultur Campuran oleh *Rhizopus oligosporus* dan *Bacillus subtilis*. *Berkala Sainstek*. 6 (1): 17-21.
- Nurdini, A.L., Nuraida, L., Suwanto, A., and Suliantari. 2015. Microbial Growth Dynamics during Tempeh Fermentation in Two Different Home Industries. *International Food Research Journal*. 22(4): 1668-1674.
- Nurhakim, M.A., Kusdiyantini, E., dan Raharjo, B. 2016. Penggunaan Substrat Glukosa Berbagai Konsentrasi sebagai Sumber Karbon *Microbial Fuel Cell Saccharomyces cerevisiae* untuk Menghasilkan Energi Listrik. *Jurnal Bioma* 18 (2)131-136. ISSN: 1410-8801.
- Pengkumsri, N., Sivamaruthi, B.S., Sirilun, S., Peerajan, S., Kesika, P., K. Chaiyasut, and Chaiyasut, C.t. 2017. Extraction of β -Glucan From *Saccharomyces cerevisiae* : Comparison of Different Extraction Methods and *In Vivo* Assessment of Immunomodulatory Effect in Mice. *Journal of Food Sci. Technol, Campinas*, 37(1): 124-130.
- Purwoko, T., Pawiroharsono, S., dan Gandjar, I. 2001. Biotransformasi Isoflavon oleh *Rhizopus oryzae* UICC 524. *Biosmart*, 3(2), 7-12.
- Rafli, F. 2015. The Role of Colonic Bacteria in The Metabolism of The Natural Isoflavone Daidzin to Equol. *Metabolites* 5: 56-73.
- Rahayu, W.P., R. Pambayun, U. Santoso, L. Nuraida, dan Ardiansyah. 2015. Tinjauan Ilmiah Teknologi Pengolahan Tempe Kedelai. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI). <http://patpi.or.id>. Diakses pada 07 November 2017 pukul 21.09 WIB.
- Rieder, A. and Samuelsen, A.B. 2012. Do Cereal Mixed-Linked β -Glucans Possess Immune-Modulating Activities? *Molecular Nutrition & Food Research*, 56,536-547.
- Rizal, S., Kustyawati, M.E., Murhadi, Hasanudin, U., dan Marniza. 2018. Pengaruh Konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* pada Kandungan Abu, Protein, Lemak dan β -Glukan Tempe. *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS* 2 (1): 96-103.

- Rokhmah, L.N., Anam, C., Handajani, S. dan Rachmawati, D. 2009. Kajian Kadar Asam Fitat dan Kadar Protein selama Pembuatan Tempe Kara Benguk (*Mucuna pruriens*) dengan Variasi Pengecilan Ukuran dan Lama Fermentasi. *Jurnal Biofarmasi*. 7 (1): 1-9. ISSN: 1693-2242
- Roubous, H.P.J., and 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*.
- Sarangi, I., Ghosh, D., Bhutia, S.K., Mallick, S.K., and Maiti, T.K. 2006. Anti-Tumor and Immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. *International Immunopharmacology*. 6 : 1287- 1297.
- Saraswaty, V., Zainal, A., dan Dewi, R. 2002. Uji Aktivitas Antibakteri dari Medium Sabouraud Cair yang Diperkaya dengan Infus Kacang Lai dan Telah Diinokulasikan dengan Jamur Tempe *Rhizopus* sp. Prosiding Seminar Tantangan Penelitian Kimia. Hal. 67-74.
- Sayudi, S., Herawati, N., dan Ali, A. 2015. Potensi Biji Lamtoro Gung dan Biji Kedelai sebagai Bahan Baku Pembuatan Tempe Komplementasi. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Universitas Riau*, 2(1), 1-9.
- Schmidt-Rohr, K. 2020. Oxygen Is the High-Energy Molecule Powering Complex Multicellular Life: Fundamental Corrections to Traditional Bioenergetics. *ACS Omega*. 5: 2221-2233.
- Setiarto, R.H.B., Widhyastuti, N., and Saskiawan, I. 2016. Effect of Lactic Acid Bacteria, Fungi and Yeast Fermentation on Nutritional Quality of Sorghum Flour. *Agritech*. 36 (4): 440-449.
- Shokri, H., Asadi, F., and Khosravi, A.R. 2008. Isolation of β -glukan from The Cell Wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Prod Res*. 22 (5): 414-421.
- Sine, Y. dan Soetarto, E.S. 2018. Perubahan Kadar Vitamin dan Mineral pada Fermentasi Tempe Gude (*Cajanus cajan* L.). *Jurnal Saintek Lahan Kering*. 1 (1): 1-3.
- Singleton, P. dan Sainsbury, D. 2006. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biologi, Third Edition, Revised*. John Wiley & Sons Ltd. England. ISBN: 0-470-03545-5.
- Siwicki, A. K., Patrycja, S., Stanisław, R., Krzysztof, K., Barbara, K., Edward, G., dan Ewa, S 2015. Influence of β -glukan Leiber®B-S on Selected Innate Immunity Parameters of European Eel (*Anguilla anguilla*) in an Intensive Farming System. *Central Euro. J. Immunol*. 40 (1): 5–10.
- Basic, A., Fincher, G.B., and Stone, B. 2009. *Chemistry of β -glukans. In Chemistry, Biochemistry, and Biology of 1-3 Beta-Glucans and Related Polysaccharides*. Academic Press. USA. 350 p.
- Synytsya, A and Novák, M. 2013. Structural Diversity of Fungal Glucans. *Carbohydrate Polymers*. 9 (30): 792-809.

- Sudiana, A.D.G., Kuswendi, H., Dewi, V.Y.K., and Balia, R.L. 2021. The Potential of β -Glukan from *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall as Anti Cholesterol. *Journal of Animam Health and Production*. 9(1): 72-77.
- Suphantharika, M., Khunrae, P., Thanardkit, P., dan Verduyn, C. 2003. Preparation of Spent Brewer's Yeast β -Glucans with a Potential Application as an Immunosti-mulant for Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. *Bioresource Technology*, 88: 55-60.
- Thammakiti, S., Suphantharika, M., Phaesuwan, T., and Verduyn, C. 2004. Preparation of Spent Brewer's Yeast β -glukans for Potential Applications in The Food Industry. *International Journal of Food Science and Technology*, 39: 21-29.
- Thontowi, A., Kusmiati., dan Nuswantara, S. 2007. Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor. *Biodiversitas*. 8(2): 253-256
- USDA. National Nutrient Data Base for Standard. 2014. Basic Report 20649, Tapioca, Pearl, Dry. The National Agricultural Library, USA.
- Utama, G.L., Irena, F., Lembong, E., Kayaputri, I.L., Tensiska, T., and Balia, R.L. 2020. The Utilization of Vegetable and Fruit Wastes for *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall Based β -Glukan Production with Antioxidant Activity. *Acta Univ Agric Silvic Mendel. Brun*. 68(1):119-27.
- Utami, N.F., Wardatun, S. dan Suri, F.A. 2016. Identifikasi Kandungan Polisakarida β -glukan pada Jamur Ganoderma (*Ganoderma lucidum*). *Jurnal Ilmiah Fitofarmaka Vol 6(2)*: 71-76.
- Vannucci, L., Krizan, J., Sima, P., Stakheev, D., Caja, F., Rajsiglova, L., Horak, V., and Saieh, M. 2013. Immunostimulatory Properties and Antitumor Activities of Glucans. *International Journal of Oncology*. 43: 357-364.
- Varelas, V., Tataridis, P., Liouni M., and Nerantzis, E.T. 2016. Application of Different Methods for The Extraction of Yeast β -glukan. *e-J. Sci. Technol. (e-JST)*, 2 (1): 75-81.
- Vetvicka, V. and Vetvickova, J. 2010. β -1,3-Glucan Silver Bullet or Hot Air. *Open Glycoscience*. 3: 1-6.
- Virgianti, D.P. 2015. Uji Antagonis Jamur Tempe (*Rhizopus sp*) terhadap Bakteri Patogen Enterik. *Jurnal Biosfera*. 32 (3): 162-168.
- Wang, H.L., Ruttle, D.I., and Hesseltine, W. 2012. Protein Quality of Wheat and Soybeans after *Rhizopus oligosporus* Fermentation. *Journal of Nutritions*. 20 (1): 109-114.
- Wang, Y., Ahmed, Z., Feng, W., Li, C., and Song, S. 2008. Physicochemical Properties of Exopolysaccharide Produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 Isolated from Tibet Kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43, 283-288.
- Widiantara, T., Sutrisno, A.D., and Juliardi. 2013. Processing of Modified Cassava Flour-Based on Variations in Microorganisms Types and Fermentation Time. *Infomatek*. 4 (1): 27-38.

- Widoyo, S., Handajani, S., dan Nandariyah. 2015. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Serat Ksar dan Aktivitas Antioksidan Tempe Beberapa Varietas Kedelai. *Biofarmasi*. 13 (2): 59-65.
- Widyastuti, N., Baruji, T.R., Giarni., H. Isnawan., P.Wahyudi., dan Donawati. 2011. Analisa Kandungan β -Glukan Larut Air dan Larut Alkali dari Tubuh Buah Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Shitake (*Lentimus edodes*). *Jurnal Sains dan Teknologi*. 13 (3): 182-191.
- Winanti, R., S.H. Bintari, dan D. Mustikaningtyas. 2014. Studi Observasi Higienitas Produk Tempe Berdasarkan Perbedaan Metode Inokulasi. *Unnes Journal of Life Science*. 3 (1): 39-46). ISSN 2252-6277.
- Wipradnyadewi, P.A.S, Rahayu, E.S., and Raharjo, S. 2004. *Isolasi dan Identifikasi Rhizopus oligosporus Pada Beberapa Inokulum Tempe*. Laporan Proyek Hibah Penelitian.
- Xiao Y, Zhang S, and Tong H. 2018 Comprehensive Evaluation of the Role of Soy and Isoflavone Supplementation in Humans and Animals Over the Past Two Decades. *Photother Research*. 32: 384–394.
- Yoon, G. and Park, S. 2014. Antioxidant Action of Soy Isoflavones on Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activities in Exercised Rats. *Nutrition Research and Practice*. 8(6):618-624.
- Yulifianti, R., Muzaiyanah, S., dan Utomo, J.S. 2018. Kedelai sebagai Bahan Pangan Kaya Isoflavon. *Buletin Palawija*, 16 (2): 84-93.
- Zaheer, K. dan Akhtar, M.H. 2017. An Updated Review of Dietary Isoflavone: Nutrition, Processing, Bioavailability and Impacts on Human Health. *Critical Review In Food Science And Nutrition*. 57(6):1280-1293.
- Zeković, D.B., Kwiatkowski, S., Vrvic, M.M., Jakovljević, D., and Moran, C.A. 2005. Natural and modified (1→3)- β -Dglukans in health promotion and disease alleviation. *Crit. Rev. Biotechnol*. 25 (4): 205–230.
- Zhu, F., Du, B., and Xu, B. 2016. A critical review on production and industrial applications of β -glukans. *Food Hydrocolloids*. 52: 275-288.
- Zlatkovic, D., Jakovljevic, D., Zekovic, D., and Miroslav, M. V. 2003. A glukan from active dry baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): a chemical and enzymatic investigation of the structure. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 68,805-809.