

**PENGARUH JENIS SUBSTRAT DAN LAMA INKUBASI
TERHADAP KARAKTERISTIK INOKULUM TEMPE YANG DIBERI
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

(Skripsi)

Oleh

**THERESIA SANTIKA KUSUMA PUTRI
1814051014**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRACT

EFFECT OF SUBSTRATE TYPE AND INCUBATION TIME ON THE CHARACTERISTICS OF TEMPEH INOCULUM ADDED WITH *Saccharomyces cerevisiae*

By

THERESIA SANTIKA KUSUMA PUTRI

This study aims to determine the effect of substrate type and incubation time on tempeh inoculum and to determine the best tempeh inoculum with the influence of substrate type and incubation time. The research was arranged in a Randomized Complete Block Design (RCBD) with two factors. The first factor was the substrate type consisting of two levels, namely tapioca and rice flour. The second factor with six levels is the incubation time of tempeh inoculum, which is treated with 0, 24, 48, 72, 96, and 120 hours. The tempe inoculum produced was then analyzed for pH value, water content, total mold, yeast, and bacteria. The data obtained were then tested for homogeneity with the Bartlett test, and additional data were tested with the Tuckey test. Data were analyzed by means of variance to determine whether or not there was an influence between treatments. If it has a significant effect, then the data is then further tested with the Honest Significant Difference (HSD) test with a level of 5%. The resulting tempeh inoculum was then analyzed for pH value, moisture content, total mold, yeast, and bacteria. The results showed that the substrate type affected the total yeast, total bacteria, pH, moisture content, and had no effect on the total mold in the tempeh inoculum. The incubation time affects the total mold, yeast, and bacteria, pH, water content in tempeh inoculum. The best tempeh inoculum was tempeh inoculum using rice flour substrate type with 96 hours incubation time which produced tempeh inoculum with total mold 9,02 log CFU/g, total yeast 9,17 log CFU/g, total bacteria 7,81 log CFU/g, pH 4,2, and moisture content 7,75%.

Keywords: *Tempeh inoculum, Rhizopus oligosporus, Saccharomyces cerevisiae, incubation time, substrate type.*

ABSTRAK

PENGARUH JENIS SUBSTRAT DAN LAMA INKUBASI TERHADAP KARAKTERISTIK INOKULUM TEMPE YANG DIBERI PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae*

Oleh

THERESIA SANTIKA KUSUMA PUTRI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis substrat dan lama inkubasi pada inokulum tempe yang dihasilkan dan mengetahui inokulum tempe terbaik dengan pengaruh jenis substrat dan lama inkubasi. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah jenis substrat yang terdiri dari dua taraf yaitu tapioka dan tepung beras. Faktor kedua dengan enam taraf yaitu lama inkubasi inokulum tempe yaitu dengan perlakuan 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam. Inokulum tempe yang dihasilkan selanjutnya dianalisis nilai pH, kadar air, total kapang, khamir, serta bakteri. Data yang diperoleh kemudian diuji kehomogennannya dengan uji bartlett, dan kementerian data diuji dengan uji tuckey. Data dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh antar perlakuan. Bila berpengaruh signifikan maka data kemudian diuji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis substrat berpengaruh terhadap total khamir, total bakteri, pH, kadar air, dan tidak berpengaruh terhadap total kapang pada inokulum tempe. Lama inkubasi berpengaruh terhadap total kapang, total khamir, total bakteri, pH, kadar air pada inokulum tempe. Inokulum tempe terbaik adalah inokulum tempe yang menggunakan jenis substrat tepung beras dengan lama inkubasi 96 jam yang menghasilkan inokulum tempe dengan total kapang 9,02 log CFU/g, total khamir 9,17 log CFU/g, total bakteri 7,81 log CFU/g, pH 4,2, dan kadar air 7,75%.

Kata kunci : Inokulum tempe, *Rhizopus oligosporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, lama inkubasi, jenis substrat

**PENGARUH JENIS SUBSTRAT DAN LAMA INKUBASI
TERHADAP KARAKTERISTIK INOKULUM TEMPE YANG DIBERI
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

Oleh

THERESIA SANTIKA KUSUMA PUTRI

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi : **PENGARUH JENIS SUBSTRAT DAN LAMA INKUBASI TERHADAP KARAKTERISTIK INOKULUM TEMPE YANG DIBERI PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

Nama : **Theresia Santika Kusuma Putri**

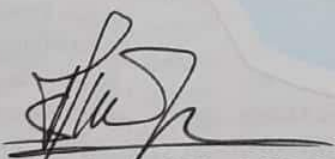
Nomor Pokok Mahasiswa : 1814051014

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian




1. Komisi Pembimbing


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


Dr. Dra. Maria Erna K., M.Sc.
NIP 19611129 198703 2 002

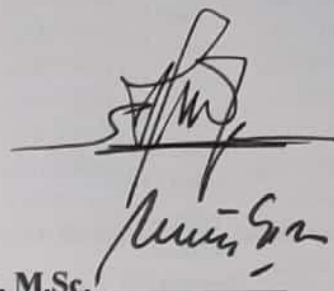
2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian


Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.
NIP 19721006 199803 1 005

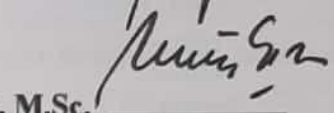
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

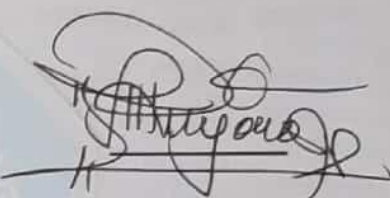
Ketua : **Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si.**



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



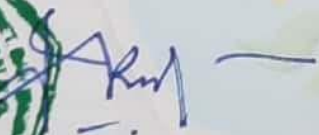
Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Suharyono A S., M.S.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **30 Mei 2022**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Theresia Santika Kusuma Putri

NPM : 1814051014

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

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

Bandar Lampung, 30 Mei 2022
Yang membuat pernyataan



Theresia Santika Kusuma Putri
NPM. 1814051014

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada 1 Oktober 1999, sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Thomas Sutopo dan Ibu M.M.A. Sukasih. Penulis memiliki seorang adik bernama Lusya Dhea Mutiara. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Fransiskus 1 Tanjung Karang pada tahun 2006, Sekolah Dasar di SD Fransiskus 1 Tanjung Karang pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama di SMP Fransiskus Tanjung Karang pada tahun 2015, dan Sekolah Menengah Atas di SMA Fransiskus Bandar Lampung pada tahun 2018.

Pada tahun 2018, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN. Pada bulan Januari-Februari 2021, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Gedong Meneng Baru, Kecamatan Rajabasa, Kota Bandar Lampung. Pada bulan Juli 2021, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di UMKM Keripik Bintang Buah dengan judul “Mempelajari Proses Produksi Keripik Pisang Muli di UMKM Keripik Bintang Buah”.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi Mentor Mata Kuliah Pendidikan Agama Katolik pada Tahun Ajaran 2019/2020, dan Asisten Dosen Mata Kuliah Rancangan Percobaan pada Tahun Ajaran 2020/2021. Penulis juga aktif dalam kegiatan kemahasiswaan yaitu menjadi Anggota Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung (HMJ THP FP Unila) serta menjadi anggota Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Katolik Universitas Lampung.

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “Pengaruh Jenis Substrat dan Lama Inkubasi terhadap Karakteristik Inokulum Tempe yang Diberi Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Teknologi Pertanian di Universitas Lampung. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, motivasi, serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, perkenankan penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik serta dosen pembimbing pertama yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, serta saran kepada penulis selama perkuliahan, penelitian, hingga penyelesaian skripsi penulis.
4. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku dosen pembimbing kedua yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan, serta saran kepada penulis selama penelitian hingga penyelesaian skripsi penulis.
5. Bapak Dr. Ir. Suharyono A S, M.S. selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran serta masukan kepada penulis selama penyusunan proposal hingga penyelesaian skripsi penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staf, dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang

telah mengajar, membimbing, dan membantu penulis selama proses perkuliahan hingga penyelesaian administrasi akademik.

7. Keluarga penulis yaitu Bapak Thomas Sutopo, Ibu M.M.A. Sukasih, dan adik Lusia Dhea Mutiara yang senantiasa memberikan motivasi, semangat, pengertian, serta doanya selama ini.
8. Support system penulis Mas Eril Aditya yang telah memberikan semangat, dukungan, motivasi, serta menjadi tempat keluh kesah penulis.
9. Sahabat-sahabat penulis Sekar, Tia, Sindi, Rizka, Qinar, Datin, Meisha, Faiz, Shinta, Agnes, Vina, dan sahabat-sahabat penulis lainnya yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, yang senantiasa memberikan semangat, motivasi, dan saran kepada penulis.
10. Teman-teman penelitian penulis Mela, Cipa, Cherly, Amin, Reka, serta Wila yang telah memberikan semangat, motivasi, serta membantu penulis selama penelitian.
11. Teman-teman angkatan 2018 Teknologi Hasil Pertanian, adik-adik, dan kakak-kakak yang telah memberikan dukungan, bantuan dan semangat kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun semua ini dapat dijadikan suatu pengalaman dan proses pembelajaran bagi penulis untuk menjadi lebih baik lagi. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi penulis maupun pembaca. Amin.

Bandar Lampung, 30 Mei 2022

Theresia Santika Kusuma Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Kerangka Pemikiran	3
1.4. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tempe	6
2.2. Inokulum Tempe	10
2.3. Tapioka	13
2.4. Tepung Beras	14
2.5. <i>Rhizopus oligosporus</i>	15
2.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.7. Pertumbuhan Mikroba	18
III. METODE PENELITIAN	22
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2. Bahan dan Alat	22
3.3. Metode Penelitian	23
3.4. Pelaksanaan Penelitian	24
3.4.1. Penelitian Pendahuluan	24
3.4.1.1. Pembuatan Inokulum Tempe Penelitian Pendahuluan	24
3.4.1.2. Pembuatan Tempe Penelitian Pendahuluan	25
3.4.2. Penelitian Utama	27
3.4.2.1. Persiapan Kultur <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	27
3.4.2.2. Persiapan Kultur <i>Rhizopus oligosporus</i>	28
3.4.2.3. Pembuatan Inokulum Tempe	30
3.4.2.4. Pembuatan Tempe	31
3.5. Pengamatan	32
3.5.1. Derajat Keasaman (pH)	33
3.5.2. Kadar Air	33
3.5.3. Perhitungan Total Khamir pada Inokulum Tempe	34

3.5.4. Perhitungan Total Kapang pada Inokulum Tempe	34
3.5.5. Perhitungan Total Bakteri pada Inokulum Tempe	35
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1. Penelitian Pendahuluan	37
4.2. Penelitian Utama	40
4.2.1. Derajat Keasaman (pH)	41
4.2.2. Kadar Air	42
4.2.3. Total Kapang	49
4.2.4. Total Khamir	52
4.2.5. Total Bakteri	54
4.2.6. Rekapitulasi Perlakuan Terbaik	56
4.2.7. Karakteristik Tempe dari Inokulum Tempe Perlakuan Terbaik	58
V. KESIMPULAN DAN SARAN	59
5.1. Kesimpulan	59
5.2. Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015	9
2. Komposisi gizi kedelai dan tempe kedelai dalam 100 g bahan kering	10
3. Syarat mutu tepung beras SNI 3549:2009	15
4. Jenis substrat dan lama inkubasi pada inokulum tempe	23
5. Hasil penelitian pendahuluan pengaruh jenis substrat dan lama inkubasi terhadap inokulum tempe setelah pengeringan	38
6. Hasil penelitian pendahuluan pengaruh jenis substrat dan lama inkubasi inokulum tempe terhadap tempe yang dihasilkan	39
7. Nilai pH inokulum tempe pada jenis substrat berbeda	41
8. Nilai pH inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	41
9. Pengaruh interaksi jenis substrat dan lama inkubasi terhadap kadar air pada masing-masing inokulum tempe setelah inkubasi dan setelah pengeringan	44
10. Pengaruh jenis substrat terhadap kadar air pada inokulum tempe setelah inkubasi dan setelah pengeringan	45
11. Pengaruh lama inkubasi terhadap kadar air pada inokulum tempe setelah inkubasi dan setelah pengeringan	45
12. Total kapang pada inokulum tempe dengan pengaruh interaksi jenis substrat dan lama inkubasi	50
13. Total kapang pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	50
14. Total khamir pada inokulum tempe dengan jenis substrat berbeda	53
15. Total khamir pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	53
16. Total bakteri pada inokulum tempe dengan jenis berbeda	55

17. Total bakteri pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	55
18. Rekapitulasi perlakuan terbaik inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	57
19. Hasil pengujian pH pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	66
20. Uji kehomogenan (Bartlett's test) pengujian pH pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	67
21. Analisis ragam pengujian pH pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	67
22. Uji BNJ terhadap pengujian pH pada inokulum tempe dengan jenis substrat berbeda	68
23. Uji BNJ terhadap pengujian pH pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	68
24. Hasil pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah inkubasi	69
25. Uji kehomogenan (Bartlett's test) pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah inkubasi	70
26. Analisis ragam pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah inkubasi	70
27. Uji BNJ terhadap pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat berbeda setelah inkubasi	71
28. Uji BNJ terhadap pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda setelah inkubasi	71
29. Uji BNJ terhadap pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah inkubasi	71
30. Hasil pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah pengeringan	72
31. Uji kehomogenan (Bartlett's test) pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah pengeringan	73
32. Analisis ragam pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah pengeringan	73

33. Uji BNJ terhadap pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat berbeda setelah pengeringan	74
34. Uji BNJ terhadap pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda setelah pengeringan	74
35. Uji BNJ terhadap pengujian kadar air pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda setelah pengeringan	74
36. Hasil pengujian total kapang pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	75
37. Uji kehomogenan (Bartlett's test) pengujian total kapang pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	76
38. Analisis ragam pengujian total kapang pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	76
39. Uji BNJ terhadap pengujian total kapang pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	77
40. Uji BNJ terhadap pengujian total kapang pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	77
41. Hasil pengujian total khamir pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	78
42. Uji kehomogenan (Bartlett's test) pengujian total khamir pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	79
43. Analisis ragam pengujian total khamir pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	79
44. Uji BNJ terhadap pengujian total khamir pada inokulum tempe dengan jenis substrat berbeda	80
45. Uji BNJ terhadap pengujian total khamir pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	80
46. Hasil pengujian total bakteri pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	81
47. Uji kehomogenan (Bartlett's test) pengujian total bakteri pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	82
48. Analisis ragam pengujian total bakteri pada inokulum tempe dengan jenis substrat dan lama inkubasi berbeda	82
49. Uji BNJ terhadap pengujian total bakteri pada inokulum tempe dengan jenis substrat berbeda	83

50. Uji BNJ terhadap pengujian total bakteri pada inokulum tempe dengan lama inkubasi berbeda	83
--	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tempe	7
2. Inokulum tempe	10
3. <i>Rhizopus oligosporus</i> pada cawan petri	16
4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dalam cawan petri	17
5. Pembuatan inokulum tempe penelitian pendahuluan	25
6. Pembuatan tempe kedelai	26
7. Diagram alir pembiakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	28
8. Diagram alir persiapan inokulum <i>Rhizopus oligosporus</i>	29
9. Diagram alir pembuatan inokulum tempe	31
10. Pembuatan tempe kedelai	32
11. Diagram alir perhitungan khamir	34
12. Diagram alir perhitungan kapang	35
13. Diagram alir perhitungan total bakteri	36
14. Hasil tempe dengan menggunakan inokulum tempe perlakuan terbaik yaitu inokulum tempe dengan substrat tepung beras dan lama inkubasi 96 jam	58
15. Pembiakan <i>Rhizopus oligosporus</i>	84
16. Pembiakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	85
17. Pembuatan inokulum tempe	86
18. Pengujian TPC inokulum tempe	87

19. Pengujian kadar air	88
20. Pembuatan tempe dengan inokulum terbaik	89

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tempe merupakan salah satu jenis makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Keunggulan tempe sebagai bahan pangan yaitu mengandung zat gizi yang tinggi terutama protein dan memiliki harga yang relatif terjangkau dibandingkan dengan bahan pangan dengan sumber protein hewani lainnya (Alvina dan Hamdani, 2019). Umumnya tempe terbuat dari bahan dasar kedelai yang difermentasikan menggunakan inokulum tempe. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2012), di Indonesia, sebanyak 50% kedelai diolah menjadi tempe, 40% diolah menjadi tahu, dan 10% diolah menjadi produk lainnya seperti kecap, tauco, dan lain-lain. Rata-rata konsumsi tempe per orang per tahun di Indonesia diperkirakan sekitar 6,45 kg.

Tempe merupakan salah satu produk fermentasi yang membutuhkan inokulum tempe dalam proses pembuatannya. Inokulum tempe merupakan bahan dengan kumpulan spora kapang yang berperan dalam proses pembuatan tempe (Wahyudi, 2018). Inokulum tempe berperan sebagai agen yang mengubah kedelai menjadi tempe karena adanya pertumbuhan jamur tempe pada kedelai dan melakukan proses fermentasi (Budiono, 2016). Salah satu jenis kapang yang biasa digunakan dalam pembuatan tempe yaitu *Rhizopus oligosporus* (Putri dkk., 2018).

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* ditemukan dalam fermentasi tempe, sehingga khamir dapat digunakan sebagai inokulum tambahan dalam pembuatan tempe. Penelitian pembuatan tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan oleh Rizal dan Kustyawati (2019) dengan keunggulan tempe yang

dihasilkan juga mengandung beta-glukan. Beta-glukan berperan dalam mencegah penyakit degeneratif (anti kolesterol), anti mikroba terutama virus (Tjokrokusumo, 2015), immunomodulator dan anti kanker (Pranamuda dkk., 2012). Selain itu, kelebihan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dalam fermentasi tempe yaitu dapat meningkatkan aroma dan menutupi rasa langu pada tempe (Kustyawati et al., 2017).

Masyarakat biasanya menggunakan inokulum tempe dalam bentuk bubuk karena praktis untuk digunakan. Inokulum tempe dalam bentuk bubuk yang telah beredar di masyarakat umumnya hanya mengandung kapang *Rhizopus oligosporus*. Pembuatan tempe dengan menggunakan *Rhizopus oligosporus* dan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* yang dikembangkan masih dalam bentuk cair sehingga penggunaannya belum praktis (Rizal dan Kustyawati, 2019). Inokulum tempe dalam bentuk bubuk memerlukan substrat yang berperan sebagai bahan pengisi, agar dapat dijual dalam jumlah yang banyak, serta sebagai media pengawetan atau penyimpanan bagi *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* agar dapat digunakan dalam waktu yang lama.

Kapang dan khamir dapat tumbuh dengan baik pada substrat yang banyak mengandung karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang terdapat dalam substrat yang berperan dalam memberikan nutrisi bagi pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Nutrisi merupakan salah satu faktor intrinsik yang memengaruhi pertumbuhan mikroba pada suatu bahan. Nutrisi yang diperlukan salah satunya adalah karbon. Sumber karbon yang dapat digunakan dalam pembuatan inokulum tempe yaitu nasi, bekatul jagung (Amaliyah dkk., 2017), tepung beras (Qohir dan Fajri, 2020), tepung terigu, tapioka (Rizal et al., 2020), dan sumber karbohidrat lainnya.

Inokulum tempe umumnya menggunakan nasi atau beras yang ditepungkan sebagai substrat karena kandungan pati sebesar 67,68% (Imanningsih, 2012). Ubi kayu atau singkong dalam bentuk tepung atau yang dapat disebut sebagai tapioka juga dapat digunakan sebagai substrat dalam inokulum tempe. Menurut

Imanningsih (2012), kandungan pati pada tapioka sebesar 65,26% sehingga tapioka cocok digunakan sebagai sumber karbon dalam proses fermentasi oleh kapang dan khamir. Inokulum tempe berupa mikroba *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* dengan substrat tapioka maupun tepung beras dalam bentuk bubuk akan membuat penggunaan inokulum tempe menjadi lebih praktis.

Faktor lain yang dapat memengaruhi jumlah sel mikroba pada suatu bahan adalah lama inkubasi. Jumlah sel mikroba akan semakin meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Lama inkubasi mikroba pada suatu substrat tertentu akan membuat mikroba menggunakan nutrisi pada substrat tersebut dengan baik hingga mencapai fase logaritmik karena adanya nutrisi yang cukup selama inkubasi sehingga jumlah sel mikroba akan mengalami peningkatan (Wahyudi, 2018). Jumlah sel *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* pada inokulum tempe bubuk akan menentukan kualitas tempe yang dihasilkan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis substrat dan lama inkubasi yang tepat pada inokulum tempe bubuk yang dibuat menggunakan *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui pengaruh jenis substrat pada inokulum tempe yang dihasilkan.
2. Mengetahui pengaruh lama inkubasi pada inokulum tempe yang dihasilkan.
3. Mengetahui inokulum tempe terbaik dengan pengaruh jenis substrat dan lama inkubasi.

1.3. Kerangka Pemikiran

Inokulum tempe yang mengandung *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus* memerlukan bahan tambahan sebagai pembawa atau pengikat agar dapat menjadi inokulum tempe dalam bentuk bubuk. Bahan yang dapat digunakan

sebagai pembawa atau pengikat dalam pembuatan inokulum tempe adalah tepung. Diduga adanya kandungan karbohidrat dengan sumber karbon dalam substrat yang merupakan salah satu faktor pemberi nutrisi bagi pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Hal ini sejalan dengan pendapat Triyono dkk. (2017), yang menyatakan bahwa syarat substrat dalam pembuatan inokulum tempe yaitu bahan yang mengandung karbohidrat tinggi yang dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan.

Penggunaan berbagai jenis substrat seperti tapioka dan tepung beras diduga dapat menjadi sumber nutrisi yang mengandung karbon dalam jumlah besar bagi pertumbuhan mikroba. Tapioka memiliki kandungan pati sebesar 65,26% dengan amilosa 8,06% dan amilopektin 91,94% dari % pati, sedangkan tepung beras memiliki kandungan pati sebesar 67,68% dengan amilosa 11,78% dan amilopektin 88,22% dari % pati (Imanningsih, 2012). Kandungan pati yang tinggi dalam tapioka dan tepung beras diduga mampu memenuhi nutrisi mikroba selama masa inkubasi untuk pertumbuhan. Perbedaan kadar pati dalam tapioka dan tepung beras diduga akan memengaruhi pertumbuhan mikroba dan diduga jumlah mikroba pada inokulum tempe dengan substrat tepung beras akan lebih tinggi dibandingkan dengan tapioka yang disebabkan oleh karena kandungan karbohidrat pada tepung beras lebih tinggi dibandingkan dengan tapioka.

Total kapang dan khamir pada substrat tepung beras dan tapioka dalam pembuatan inokulum tempe diprediksi akan mengalami peningkatan seiring dengan lama waktu inkubasi. Jumlah mikroba akan semakin meningkat seiring semakin lamanya waktu inkubasi yang disebabkan oleh mikroba tersebut dapat memanfaatkan nutrisi pada substrat tersebut secara optimal dan dapat mencapai fase logaritmik. Menurut Wahyudi (2018), tempe yang dibuat dengan inokulum tempe yang mengandung *Rhizopus oligosporus* dan diinkubasi dengan suhu 28°C pada waktu 0-12 jam mengalami fase lag, kemudian pada waktu 12-36 jam mengalami fase logaritmik dengan peningkatan jumlah 1 koloni menjadi 40 koloni dan mengalami fase kematian pada waktu 48 jam menjadi 38 koloni.

Pemilihan taraf perlakuan dengan lama inkubasi 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam karena *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan sel yang optimal dalam waktu 24-48 jam sedangkan *Rhizopus oigosporus* mengalami pertumbuhan spora yang optimal dalam waktu 5-7 hari, sehingga rentang waktu yang dipilih adalah 0-120 jam. Namun, belum diketahui jenis substrat dan lama inkubasi inokulum tempe yang tepat untuk menghasilkan inokulum tempe dengan kualitas yang terbaik.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah

1. Perbedaan jenis substrat diduga memengaruhi inokulum tempe yang dihasilkan.
2. Perbedaan lama inkubasi diduga memengaruhi inokulum tempe yang dihasilkan.
3. Terdapat inokulum tempe terbaik dengan pengaruh jenis substrat dan lama inkubasi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tempe

Tempe merupakan makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia sebagai lauk pauk. Tempe dapat dibuat dari bahan seperti kedelai, biji nangka, jagung, kacang merah, dan bahan lainnya, namun yang paling umum menggunakan kedelai yang difermentasi dengan inokulum tempe. Menurut Astawan (2013), terdapat delapan jenis tempe yang dibedakan berdasarkan bahan dasar pembuatannya, yaitu tempe gembus yang terbuat dari ampas tahu, tempe bongkrek yang terbuat dari ampas kelapa, tempe bungkil terbuat dari ampas pembuatan minyak kacang, tempe lamtoro terbuat dari biji lamtoro, tempe gude yang terbuat dari kacang gude, tempe koro terbuat dari biji koro, tempe benguk yang terbuat dari biji koro benguk, dan tempe kedelai yang terbuat dari tempe kedelai. Penyebutan tempe umumnya identik dengan tempe yang terbuat dari bahan dasar kedelai. Masyarakat Indonesia umumnya mengonsumsi tempe yang terbuat dari bahan dasar kedelai sebagai lauk pauk sehari-hari.

Menurut Badan Standardisasi Nasional (2012), di Indonesia, sebanyak 50% kedelai diolah menjadi tempe, 40% diolah menjadi tahu, dan 10% diolah menjadi produk lainnya seperti kecap, tauco, dan lain-lain. Rata-rata konsumsi tempe per orang per tahun di Indonesia diperkirakan sekitar 6,45 kg. Produksi tempe sebagian besar masih dalam skala industri kecil menengah dan dibuat secara tradisional. Menurut Mujianto (2013), beberapa faktor yang memengaruhi proses produksi tempe yaitu bahan baku berupa kedelai, air yang digunakan, inokulum tempe, proses fermentasi, serta sarana dan prasarana yang digunakan dalam proses produksi tempe.

Proses pembuatan tempe menurut Rahayu dkk. (2015) yaitu diawali dengan pencucian dan pembersihan, kemudian dilakukan pengupasan, perendaman, perebusan, penirisan, pendinginan, pengeringan, penginokulasian, pengemasan dan inkubasi. Sebelum proses pembuatan tempe dilakukan, tahap paling awal yang harus dilakukan adalah mencuci dan membersihkan bahan baku yaitu kedelai dari segala kontaminan seperti, tanah, kerikil, serangga, dan biji lainnya yang bercampur dengan kedelai. Pencucian dilakukan menggunakan air yang bersih dan dilakukan beberapa kali hingga kedelai bersih. Selanjutnya proses pengupasan yang bertujuan untuk memisahkan kulit ari dengan kedelai. Proses pengupasan sebaiknya dilakukan secara sempurna yaitu hingga tidak ada kulit ari yang menempel pada kedelai sehingga inokulum dapat tumbuh dengan baik pada kedelai.



Gambar 1. Tempe
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Proses pengupasan kulit ari dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu menggunakan metode kering dan basah. Metode kering dilakukan dengan menggunakan alat mekanis untuk mengupas kulit ari sebelum dilakukan proses perendaman kedelai. Metode kering menggunakan oven dengan suhu 93°C selama 10 menit, kemudian kulit ari dikupas menggunakan aspirator. Metode basah yang dilakukan dalam proses pengupasan kulit ari dilakukan setelah proses perendaman atau pemasakan, kemudian pengupasan dilakukan secara manual tanpa menggunakan alat mekanis (Rahayu dkk., 2015).

Menurut Fung dan Cozier-Dodson (2008) dalam Rahayu dkk. (2015), perendaman kedelai dalam air dilakukan selama 12-15 jam dengan suhu 30°C. Selain menggunakan air, proses perendaman juga dapat dilakukan dalam kondisi asam dengan menambahkan asam laktat maupun asam asetat. Fungsi perendaman dalam kondisi asam yaitu untuk mencegah dan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk. Perebusan bertujuan untuk melunakkan kedelai dan mematikan mikroba kontaminan, mendenaturasi protein yang ada dalam kedelai sehingga akan membuat kapang lebih mudah menggunakannya. Perbandingan antara kedelai dengan air disesuaikan agar jumlah air yang digunakan cukup untuk mematangkan kedelai. Proses perebusan dilakukan selama 2-4 jam.

Proses penirisan, pendinginan, pengeringan dilakukan dengan tujuan agar kandungan air pada kedelai berkurang, suhu kedelai menurun, dan membuat permukaan kedelai menjadi kering. Proses penirisan dapat dilakukan di atas wadah yang berlubang (nampan bambu). Proses penirisan dilakukan dengan sempurna agar bakteri kontaminan tidak tumbuh pada kedelai. Pendinginan kedelai dilakukan hingga suhu setidaknya 38°C sebelum dilakukan proses inokulasi. Faktor-faktor yang memengaruhi keberhasilan dalam produksi tempe adalah penggunaan jenis inokulum tempe dan jumlah atau konsentrasi inokulum tempe. Jumlah inokulum tempe yang terlalu banyak akan membuat proses fermentasi berlangsung tidak sempurna. Jumlah inokulum tempe yang digunakan terlalu sedikit maka bakteri kontaminan akan tumbuh pada tempe (Rahayu dkk., 2015).

Pengemasan kedelai yang telah bercampur dengan inokulum tempe dapat dilakukan dengan menggunakan daun pisang maupun plastik. Bahan pengemas tempe selama proses fermentasi harus memenuhi syarat, yaitu memiliki permeabilitas oksigen yang cukup untuk pertumbuhan kapang, suhu dalam kemasan dapat dikontrol, kadar air kedelai dapat dijaga, dan dapat menjamin fermentasi tempe dapat berlangsung dalam kondisi yang bersih dan baik. Proses fermentasi tempe dipengaruhi oleh suhu, waktu, ketersediaan oksigen, dan RH

pada saat masa inkubasi. Kondisi suhu dan waktu yang dapat digunakan selama masa inkubasi yaitu 25°C selama 80 jam, 25-37°C selama 20-50 jam, 32°C selama 20-22 jam, 35-38°C selama 15-18 jam (Rahayu dkk., 2015).

Tempe terbuat dari bahan dasar kedelai yang difermentasi menggunakan inokulum tempe yang mengandung *Rhizopus oligosporus*. Selama proses fermentasi, *Rhizopus oligosporus* akan terbentuk hifa yang merupakan benang-benang halus berwarna putih yang menumpuk pada permukaan kedelai dan membentuk misellium berwarna putih (Suknia, 2020). Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Tekstur	-	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 (N x 5,71)	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)	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>	APM/g	Maks. 10
8.2	<i>Salmonella sp.</i>	-	Negatif/25 g

Sumber: Badan Standardisasi Nasional (2015)

Tempe merupakan salah satu jenis pangan fungsional dengan kandungan gizi yang beragam. Sebagai pangan fungsional, tempe dapat meningkatkan kadar

hemoglobin remaja penderita anemia karena adanya kandungan zat besi serta asam folat yang mampu menstimulasi tubuh dalam membentuk hemoglobin, serta kandungan vitamin B12 yang dapat menyintesis hemoglobin dan sel darah merah dalam tubuh (Pinasti dkk., 2020). Komposisi gizi yang terdapat pada tempe dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi gizi kedelai dan tempe kedelai dalam 100 g bahan kering

Zat Gizi	Kedelai	Tempe
Abu (g)	6,1	3,6
Protein (g)	46,2	46,5
Lemak (g)	19,1	19,7
Karbohidrat (g)	28,2	30,2
Serat (g)	3,7	7,2
Kalsium (mg)	254	347
Fosfor (mg)	781	724
Besi (mg)	11	9
Vitamin B1 (mg)	0,48	0,28
Riboflavin (mg)	0,15	0,65
Niasin (mg)	0,67	2,52
Asam pantotenat (mcg)	430	520
Piridoksin (mcg)	180	100
Vitamin B12 (mcg)	0,2	3,9
Biotin (μ g)	35	53
Asam amino esensial (g)	17,7	18,9

Sumber: Astawan (2013)

2.2. Inokulum Tempe



Gambar 2. Inokulum tempe
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Inokulum tempe atau yang juga bisa disebut dengan kultur starter tempe atau laru merupakan suatu sediaan yang mengandung mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi kedelai menjadi tempe. Inokulum tempe yang digunakan dalam industri tempe terdapat dua jenis, yaitu laru dan usar. Laru merupakan inokulum tempe yang dibuat dengan menggunakan substrat beras, tepung beras, ataupun onggok yang ditumbuhi dengan kapang. Sedangkan usar merupakan inokulum tempe dalam bentuk lembaran daun waru kering atau daun jati yang telah ditumbuhi oleh kapang yang berperan dalam fermentasi tempe. Inokulum tempe yang biasa ditemukan di pasaran yaitu inokulum tempe dalam bentuk bubuk atau tepung. Mikroorganisme yang biasa terdapat dalam tempe terdapat beberapa jenis kapang, yaitu *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus stolonifer*, dan berbagai *Rhizopus sp.* lainnya, namun umumnya yang sesuai dalam pembuatan tempe adalah *Rhizopus oligosporus* (Rahayu dkk., 2015).

Menurut Kasmidjo (1990) dalam Rahayu dkk. (2015), inokulum tempe dapat diperoleh dengan beberapa cara. Inokulum tempe dapat diperoleh dari batch sebelumnya yang telah mengalami sporulasi, dapat diperoleh dari tempe segar yang dikeringkan dengan bantuan sinar matahari atau yang mengalami liofilisasi. Selain itu inokulum tempe juga dapat diperoleh dari pulungan beras yang berbentuk bulatan kecil yang mengandung misellia dan spora jamur tempe. Inokulum tempe dapat diperoleh dari biakan murni *Rhizopus oligosporus* dalam keadaan aseptis yang dapat berasal dari suatu lembaga riset ataupun institusi pendidikan.

Kalsifikasi inokulum tempe menurut Nout dan Rombouts (1990) dalam Rahayu dkk. (2015), yaitu starter alami, starter murni, starter semi murni, dan starter campuran. Starter alami diperoleh dari inokulasi menggunakan tempe yang telah dikeringkan dan dihaluskan dari batch sebelumnya, dapat juga diperoleh dari inokulum daun waru (dapat disebut sebagai usar), atau inokulum yang ditumbuhkan pada nasi atau tapioka yang diinokulasi dengan usar. Kualitas tempe yang dihasilkan dari starter alami tidak lebih baik dibandingkan dengan

kualitas tempe pada batch sebelumnya. Pembuatan inokulum tempe dengan starter alami dapat dilakukan sebanyak lima kali berturut-turut dan setelah itu pertumbuhan kapang akan melambat yang dapat disebabkan oleh meningkatkan kontaminasi bakteri pada starter tersebut. Hasil penelitian dari 15 strain *Rhizopus* yang diisolasi dari usar menunjukkan bahwa 80% bersifat antagonis terhadap *Aspergillus sp.*, 70% terhadap khamir, dan 40% terhadap bakteri pembentuk spora. Usar dapat memertahankan viabilitasnya selama 4-6 minggu pada suhu kamar dan >24 minggu pada suhu 4°C. Starter alami merupakan cara yang paling mudah dan murah untuk membuat inokulum tempe.

Starter murni dibuat dengan cara menumbuhkan kultur murni *Rhizopus* pada substrat yang steril (dapat berupa kedelai, gandum, atau beras) kemudian dilakukan proses pengeringan dan penggilingan. Strain yang paling umum yaitu *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 akan membentuk tempe dengan aroma khas, strain ini dapat tumbuh pada substrat sereal. Masa simpan starter murni yaitu selama 4 bulan pada suhu 25-30°C dan selama 1 tahun pada suhu 4°C. Penggunaan starter murni dianjurkan bagi industri tempe skala besar, namun penggunaan starter murni ini memiliki biaya yang mahal dan memakan waktu yang cukup lama. Penggunaan starter murni harus dalam kondisi aseptik. Starter semi murni dibuat dengan cara menumbuhkan kultur murni *Rhizopus* pada substrat yang telah dimasak atau dikukus secara tradisional dan tidak disterilisasi (biasanya berupa nasi atau kedelai), kemudian dilakukan proses inkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari, setelah itu dikeringkan pada suhu 40°C selama 15 jam. Alternatif lain juga dapat dilakukan dengan proses inkubasi pada suhu 37°C selama 8-9 hari. Inokulum tempe dapat mengandung mikroba campuran dengan tujuan tertentu (Nout dan Rombouts, 1990 dalam Rahayu dkk., 2015). Hasil penelitian Rizal et al. (2020), menunjukkan bahwa campuran kultur murni *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae* serta penambahan tapioca 10% pada pembuatan tempe akan menghasilkan tempe dengan kandungan beta-glukan yang tinggi.

2.3. Tapioka

Ubi kayu atau yang biasa disebut singkong merupakan bahan pangan pokok alternatif yang dapat dikonsumsi sebagai pengganti beras dan jagung. Kandungan gizi yang terdapat dalam 100 g ubi kayu yaitu kalori sebesar 146 g, protein 1,2 g, lemak 0,3 g, karbohidrat 34 g, kalsium, fosfor, dan zat besi. Ubi kayu dapat diolah menjadi beragam produk setengah jadi maupun produk jadi. Produk-produk olahan ubi kayu menjadi produk jadi yaitu keripik singkong, kerupuk singkong, tape, getuk, dan lainnya. Produk olahan singkong menjadi produk setengah jadi atau produk awetan yaitu tapioka, gaplek, dan tepung singkong modifikasi (Gardjito dkk., 2013).

Tapioka merupakan pati ubi kayu atau singkong yang memiliki kandungan amilosa sebesar 17% dan amilopektin sebesar 83% (Richard et al., 1992 dalam Herawati, 2012). Menurut Badan Ketahanan Pangan dan Penyuluhan Provinsi DIY (2014) dalam Ahmad (2018), tapioka sebesar 100 g memiliki kalori sebesar 363 kkal, karbohidrat sebesar 88,2%, protein 8,9%, lemak 0,5%. Tapioka memiliki granula pati yang berbentuk bulat dengan ukuran sebesar 5-35 mikron. Granula pati pada tapioka tidak larut dalam air dingin, granula pati yang ditambahkan air dingin akan mengalami hidrasi dan sedikit penggelembungan yang bersifat reversible yang dapat dikeringkan kembali tanpa adanya perubahan pada strukturnya modifikasi (Gardjito dkk., 2013).

Proses produksi tapioka menurut Mustafa (2015), yaitu pengupasan, pencucian, pamarutan, ekstraksi, pengendapan, pengeringan, dan penggilingan. Menurut Lingga (1993) dalam Mustafa (2015), terdapat empat tahap pembuatan tapioka, yaitu tahap pemecahan sel, tahap pengambilan pati, tahap penghilangan air, dan tahap melakukan penepungan. Tahap yang termasuk ke dalam tahap pemecahan sel serta memisahkan butiran pati dari unsur yang tidak larut dapat mencakup pengupasan, pecucian, pamarutan, dan penyaringan. Tahap pengambilan pati dilakukan dengan menambahkan air, kemudian dilakukan pengendapan. Tahap

pengilangan air dilakukan untuk mengurangi kadar air pada tapioka, tahap ini dapat dilakukan dengan cara pengeringan panas. Tahap penepungan dilakukan dengan proses penghalusan serta pengayakan tapioka sehingga diperoleh tapioka yang halus dan seragam.

2.4. Tepung Beras

Beras merupakan bahan makanan pokok masyarakat Indonesia. Beras biasanya diolah menjadi nasi sebagai makanan sehari-hari. Beras juga dapat diolah menjadi produk lain seperti tepung beras. Tepung beras merupakan salah satu produk olahan beras dengan umur simpan yang panjang dengan proses pembuatannya paling mudah. Proses pembuatan tepung beras dapat dilakukan dengan dua cara yaitu penggilingan kering dan penggilingan basah. Penggilingan kering dilakukan dengan pencucian, penirisan, penggilingan, pengeringan, dan pengayakan 100 mesh. Penggilingan basah dilakukan dengan perendaman beras selama 24 jam dan dilakukan modifikasi menggunakan teknik Heat Moisture Treatment (HMT) dengan cara penimbangan, penyesuaian kadar air (35%), penyemprotan dengan air pada tepung, pengemasan, penyegelelan, pendinginan 24 jam dengan suhu 4°C, perlakuan panas dengan suhu 100°C selama 16 jam, pengondisian suhu ruang, pengecilan ukuran, dan pengayakan 100 mesh.

Menurut Imanningsih (2012), tepung beras memiliki kandungan pati sebesar 67,68% dengan amilosa 11,78% dan amilopektin 88,22% dari % pati. Amilosa adalah polisakarida yang memiliki rantai lurus dengan ikatan α -(1,4)-D-glukosa. Amilopektin merupakan polisakarida yang memiliki rantai cabang dengan ikatan α -(1,6)-D-glukosa dan α -(1,4)-D-glukosa. Menurut Gardjito dkk. (2013) tepung beras dalam 100 gram mengandung kalori sebesar 360 kal, karbohidrat 78,9 g, protein 6,8 g, lemak 0,7 g, kalsium 6 mg, dan fosfor 140 mg. Syarat mutu tepung beras SNI 3549:2009 disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Syarat mutu tepung beras SNI 3549:2009

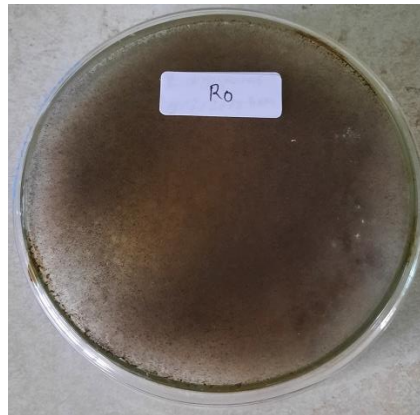
No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bentuk	-	serbuk halus
1.2	Bau	-	normal
1.3	Warna	-	putih, khas tepung beras
2	Benda asing	-	tidak boleh ada
3	Serangga dalam semua bentuk stadia dan potongan-potongannya yang tampak	-	tidak boleh ada
4	Jenis pati lain selain pati beras	-	tidak boleh ada
5	Kehalusan, lolos ayakan 80 mesh (b/b)	%	min. 90
6	Kadar air (b/b)	%	maks. 13
7	Kadar abu (b/b)	%	maks. 1,0
8	Belerang dioksida (SO ₂)	-	tidak boleh ada
9	Silikat (b/b)	%	maks. 0,1
10	pH	-	5-7
11	Cemaran logam		
11.1	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,4
11.2	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,3
11.3	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,05
12	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 0,5
13	Cemaran mikroba		
13.1	Angka lempeng total	koloni/g	maks. 1 x 10 ⁶
13.2	<i>Escherichia coli</i>	APM/g	maks. 10
13.3	<i>Bacillus cereus</i>	koloni/g	maks. 1 x 10 ⁴
13.4	Kapang	koloni/g	maks. 1 x 10 ⁴

Sumber: Badan Standardisasi Nasional (2009)

2.5. *Rhizopus oligosporus*

Rhizopus memiliki stolon dan rizoid yang berwarna gelap, kolumela berbentuk agak bulat, apofisis berbentuk menyerupai payung, sporangia berwarna hitam dengan ukuran besar pada bagian ujung sporangiospora. Hifa tidak berseptum dan memiliki dua tipe hifa, yaitu hifa negatif dan hifa fertile. Hifa negatif dapat menetrasi substrat dan hifa fertile dapat memproduksi sporangia. *Rhizopus oligosporus* memiliki sporangiospora dengan warna hitam kecoklatan dengan ukuran 7-8 µm. Kolumela globule *Rhizopus oligosporus* memiliki rhizoid yang pendek dan sporangiosfor yang halus. Sporangiumnya memiliki ukuran diameter

80-120 μm , setelah 7 hari akan pecah dan spora akan keluar kumela (Nurholipah dan Ayun, 2021).



Gambar 3. *Rhizopus oligosporus* pada cawan petri
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Taksonomi *Rhizopus oligosporus* menurut Suryani dkk. (2020), yaitu

Kingdom : Plantae
Divisio : Eumycota
Sub Divisio : Zygomycotina
Class : Zygomycetes
Ordo : Mucorales
Famili : Mucoraceae
Genus : *Rhizopus*
Spesies : *Rhizopus oligosporus*

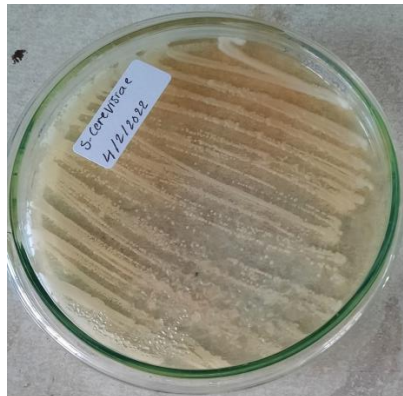
Rhizopus sp. dikenal sebagai jamur yang banyak berperan dalam proses fermentasi di bidang pangan yaitu pembuatan makanan bagi manusia maupun pakan hewan (ternak) (Leiskayanti dkk., 2017). Menurut Duniaji et al. (2019) *Rhizopus oligosporus* dapat tumbuh optimum pada suhu 30-35°C dengan suhu minimum 12°C dan suhu maksimum 42°C. *Rhizopus oligosporus* dapat hidup pada substrat yang mengandung karbohidrat. *Rhizopus sp.* adalah jenis kapang yang sering digunakan dalam proses fermentasi pada produk tauco, oncom, tempe, dan lainnya (Suryani dkk., 2020). *Rhizopus sp.* akan menghasilkan

beragam jenis enzim selama proses fermentasi tempe. *Rhizopus* tidak menghasilkan racun selama proses fermentasi tetapi akan berperan dalam melindungi tempe terhadap kapang penghasil aflatoksin (Nurholipah dan Ayun, 2021).

2.6. *Saccharomyces cerevisiae*

Taksonomi *Saccharomyces cerevisiae* menurut Zely (2014), yaitu

Super kingdom	: Eukariota
Filum	: Fungi
Subfilum	: Ascomycota
Kelas	: Saccharomycetes
Orde	: Saccharomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>



Gambar 4. *Saccharomyces cerevisiae* dalam cawan petri
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme anaerob fakultatif yaitu dapat hidup dalam keadaan aerob dan anaerob. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki beragam bentuk, yaitu oval, silinder, bulat, ogival (berbentuk bulat

panjang dan memiliki bentuk runcing pada salah satu bagian ujungnya), dan sebagainya. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki panjang 1-5µm sampai 20-50 µm dengan lebarnya 1-10 µm (Widyanti dan Moehadi, 2016). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan khamir yang mudah beradaptasi, berkembang biak, mudah ditemukan, stabil, dan tahan terhadap suhu yang tinggi (Silaban, 2017). Khamir dapat tumbuh dengan optimum pada suhu 25-30°C dengan pH asam yaitu 4-5 (Zely, 2014).

Saccharomyces cerevisiae yang digunakan dalam proses fermentasi pangan di Indonesia biasanya bukan merupakan kultur murni, seperti *Saccharomyces cerevisiae* yang telah dicampurkan dengan tepung beras dan dikeringkan. *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk kultur murni biasanya digunakan dalam proses fermentasi dalam pembuatan keju, bir, cuka, dan lainnya (Suryani dkk., 2020). *Saccharomyces cerevisiae* juga digunakan sebagai kultur starter bersama dengan *Rhizopus oligosporus* pada pembuatan tempe. *Saccharomyces cerevisiae* berperan dalam menghasilkan kandungan beta-glukan pada tempe yang memiliki manfaat untuk mencegah penyakit degeneratif (anti kolesterol), anti mikroba terutama virus (Tjokrokusumo, 2015), immunomodulator dan anti kanker (Pranamuda dkk., 2012). Tempe yang dihasilkan juga memiliki kelebihan yaitu dapat meningkatkan nutrisi serta flavor pada tempe (Kustyawati dkk., 2017).

2.7. Pertumbuhan Mikroba

Kurva pertumbuhan mikroba terdiri dari 4 fase, yaitu fase lag, fase logaritmik, fase stasioner dan fase kematian. Fase lag merupakan fase adaptasi bagi mikroba terhadap lingkungannya. Mikroba yang diinokulasikan pada suatu medium umumnya tidak langsung terjadi pertumbuhan, tetapi memerlukan waktu untuk beradaptasi pada lingkungan barunya. Menurut Rahayu dan Nurwitri (2012), ciri-ciri fase lag yaitu belum adanya penambahan jumlah populasi, sel mulai mengalami penambahan ukuran, dan substansi intrasluler bertambah. Fase logaritmik yaitu fase pembiakan atau pertumbuhan mikroba yang berlangsung

cepat. Mikroba akan bertambah banyak dengan konstanta tetap pada waktu tertentu. Ciri-ciri fase logaritmik yaitu sel mulai mengalami pertambahan dengan laju konstan, aktivitas metabolik konstan, dan massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama.

Fase stasioner merupakan fase dengan jumlah mikroba yang berkembang biak atau bertumbuh sama dengan mikroba yang mengalami kematian (statis). Ciri-ciri fase stasioner adalah mikroba mulai kehabisan nutrisi, terjadi penumpukan senyawa beracun, jumlah sel yang hidup sama dengan jumlah sel yang mati. Fase kematian merupakan fase dengan jumlah mikroba yang mengalami kematian lebih banyak daripada yang berkembang biak atau bertumbuh. Ciri-ciri fase kematian adalah terjadi kematian sel yang berlangsung cepat dan semua sel akhirnya akan mati dalam waktu tertentu bergantung dari spesiesnya (Rahayu dan Nurwitri, 2012).

Pertumbuhan mikroba pada suatu bahan pangan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik merupakan faktor yang memengaruhi pertumbuhan mikroba yang berasal dari dalam bahan pangan. Faktor intrinsik terdiri dari nutrisi, pH, aktivitas air, komponen antimikroba, dan struktur biologis. Faktor ekstrinsik yaitu faktor yang memengaruhi pertumbuhan mikroba yang berasal dari luar bahan pangan. Faktor ekstrinsik terdiri dari suhu dan kelembaban udara relatif.

Faktor intrinsik yang memengaruhi pertumbuhan mikroba pada bahan pangan:

a. Nutrisi

Nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan mikroba untuk dapat tumbuh pada bahan pangan yaitu nitrogen, air, karbon, vitamin, dan mineral yang terdapat pada bahan pangan tersebut. Urutan mikroba dari yang membutuhkan sedikit nutrisi hingga banyak nutrisi yaitu kapang, khamir, bakteri gram negatif, dan bakteri gram positif. Mikroba akan menggunakan nutrisi yang ada pada bahan pangan untuk dapat menghasilkan energi bagi pertumbuhannya. Sumber energi bagi

mikroba untuk tumbuh adalah karbon berupa metana, CO₂, CO, karbohidat (glukosa, malat, piruvat, asetat), selain itu mikroba juga menggunakan nutrisi berupa protein dan lemak.

b. pH

Pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh pH pada suatu bahan pangan. pH pertumbuhan kapang adalah 0,5-11, khamir pada pH 1,5-8,5, dan bakteri gram negatif pada pH 4,0-10,5.

c. Aktivitas Air

Aktivitas air (Aw) menyatakan perbandingan antara tekanan uap air pada bahan pangan dengan tekanan uap murni pada suhu yang sama. Aw menunjukkan jumlah air bebas yang dimanfaatkan oleh mikroba untuk dapat bertumbuh. Kapang dapat tumbuh pada bahan pangan dengan Aw 0,80, dan kapang xerofilik pada Aw 0,60. Khamir dapat tumbuh pada bahan pangan dengan Aw 0,88, dan khamir osmofilik pada Aw 0,60. Bakteri gram positif pada Aw 0,90, bakteri gram negatif pada Aw 0,93, dan bakteri halofilik tumbuh pada Aw 0,75.

d. Komponen Antimikroba

Komponen antimikroba yang terdapat secara alami pada bahan pangan dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

e. Struktur Biologis

Struktur biologis yang ada pada bahan pangan secara alami berperan sebagai pelindung terhadap mikroba perusak, seperti adanya kulit pada kacang-kacangan, kulit buah, kulit hewan, dan lainnya yang dapat mencegah masuknya mikroba perusak.

Faktor ekstrinsik yang memengaruhi pertumbuhan mikroba pada bahan pangan:

a. Suhu

Suhu lingkungan dapat memengaruhi pertumbuhan mikroba pada suatu bahan pangan. Terdapat 5 kelompok mikroba berdasarkan suhu pertumbuhannya yaitu psikrotropik, psikrofilik, mesofilik, termofilik, dan hipertermofilik. Mikroba psikrotrofik dapat hidup pada suhu 0-7°C dengan suhu optimum 20-30°C. Mikroba psikrofilik memiliki suhu optimum $\leq 15^{\circ}\text{C}$. Mikroba mesofilik

memiliki suhu optimum 20-45°C. Mikroba termofilik memiliki suhu optimum 55-65°C. Mikroba psikrofilik memiliki suhu optimum 80-113°C.

b. Kelembaban Udara Relatif

Kelembaban udara relatif (ERH) berkaitan dengan Aw pada bahan sehingga akan memengaruhi pertumbuhan mikroba pada bahan pangan. Aw pada bahan pangan yang rendah apabila disimpan pada ERH yang tinggi maka Aw pada bahan akan meningkat karena bahan pangan tersebut akan menyerap air pada lingkungan untuk mencapai kesetimbangan. Aw yang tinggi akan membuat bahan pangan tersebut mudah dirusak oleh mikroba perusak.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian, Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan Januari-Maret 2022.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni *Rhizopus oligosporus* FNCC (Food and Nutrition Culture Collection) 6010 dan *Saccharomyces cerevisiae* FNCC (Food and Nutrition Culture Collection) 3012 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta, Fermipan, Raprima, tepung beras merk Rose Brand, tapioka merk Pak Tani Gunung yang diperoleh dari Pasar Koga, Bandar Lampung, Potato Dextrose Agar (PDA) merk Himedia, Malt Extract Agar (MEA) merk Himedia, Nutrient Agar (NA) merk Himedia yang diperoleh dari Mitra Lab Sejahtera, Sidoarjo, akuades, garam fisiologis (NaCl), alkohol 70%, kapas dan alumunium foil.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, jarum ose, batang pengaduk, gelas beaker, batang segitiga, rak tabung reaksi, mikropipet, bunsen, kompor, oven, loyang, blender, sentrifuge, autoklaf, haemocytometer, inkubator, vortex, desikator, dan timbangan analitik.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) Faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah jenis substrat yang terdiri dari dua taraf yaitu tapioka (S1) dan tepung beras (S2). Faktor kedua dengan enam taraf yaitu lama inkubasi inokulum tempe yaitu dengan perlakuan 0 jam (T1), 24 jam (T2), 48 jam (T3), 72 jam (T4), 96 jam (T5), dan 120 jam (T6). Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Jenis substrat dan lama inkubasi pada inokulum tempe disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Jenis substrat dan lama inkubasi pada inokulum tempe

Jenis Substrat	Lama Inkubasi					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
S1	S1T1	S1T2	S1T3	S1T4	S1T5	S1T6
S2	S2T1	S2T2	S2T3	S2T4	S2T5	S2T6

Keterangan:

- S1T1 = Substrat tapioka dengan lama inkubasi 0 jam
- S1T2 = Substrat tapioka dengan lama inkubasi 24 jam
- S1T3 = Substrat tapioka dengan lama inkubasi 48 jam
- S1T4 = Substrat tapioka dengan lama inkubasi 72 jam
- S1T5 = Substrat tapioka dengan lama inkubasi 96 jam
- S1T6 = Substrat tapioka dengan lama inkubasi 120 jam
- S2T1 = Substrat tepung beras dengan lama inkubasi 0 jam
- S2T2 = Substrat tepung beras dengan lama inkubasi 24 jam
- S2T3 = Substrat tepung beras dengan lama inkubasi 48 jam
- S2T4 = Substrat tepung beras dengan lama inkubasi 72 jam
- S2T5 = Substrat tepung beras dengan lama inkubasi 96 jam
- S2T6 = Substrat tepung beras dengan lama inkubasi 120 jam

Parameter yang diamati dari inokulum tempe yaitu total kapang, total khamir, total bakteri, pH, dan kadar air. Data yang diperoleh kemudian diuji kehomogenannya dengan uji bartlett, dan kemenambahan data diuji dengan uji tuckey. Data dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh antar perlakuan. Bila berpengaruh signifikan maka data kemudian diuji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

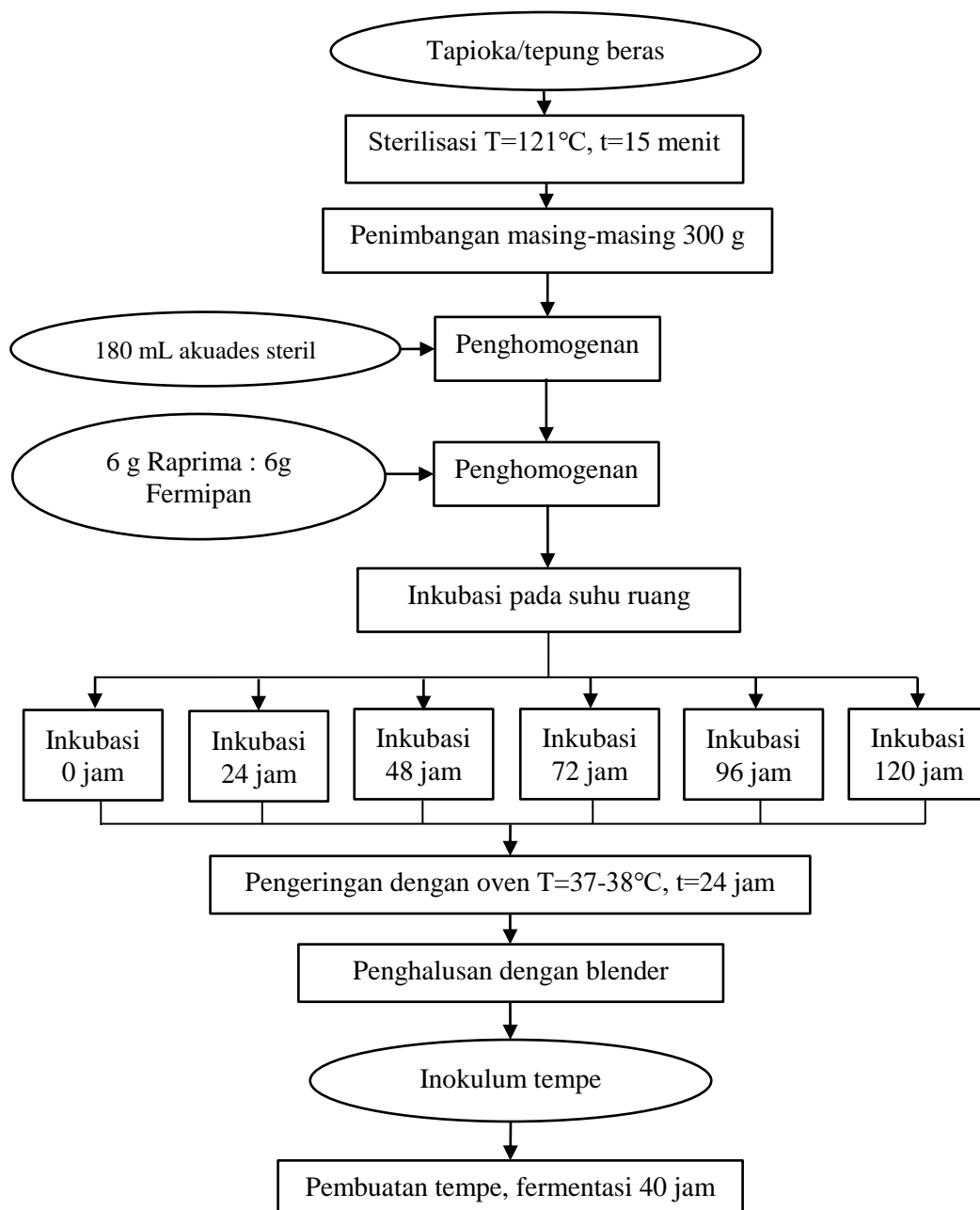
Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.4.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah perlakuan yang dipilih dapat dijadikan sebagai perlakuan pada penelitian utama. Penelitian pendahuluan juga dilakukan dengan tujuan untuk menentukan komposisi inokulum tempe yang tepat untuk membentuk adonan.

3.4.1.1. Pembuatan Inokulum Tempe Penelitian Pendahuluan

Pembuatan inokulum tempe menggunakan metode Amaliyah dkk. (2017) dengan beberapa modifikasi. Tapioka ditimbang sebanyak 300 gram dan tepung beras ditimbang sebanyak 300 gram, lalu masing-masing ditambahkan akuades steril sebanyak 180 mL hingga adonan dapat dibentuk tetapi tidak terlalu basah dan dihomogenkan. Lalu diinokulasi dengan 6 g inokulum tempe merk Raprima dan 6 g Fermipan dan dihomogenkan. Setelah itu masing-masing adonan dibagi menjadi 6 perlakuan lalu dilakukan inkubasi sesuai dengan perlakuan yaitu selama 0 jam (T1), 24 jam (T2), 48 jam (T3), 72 jam (T4), 96 jam (T5), dan 120 jam (T6) dengan pada suhu ruang kemudian dikeringkan dengan inkubator selama 24 jam dengan suhu 37-38°C, lalu dilakukan penghalusan dengan blender. Setelah itu dilakukan pembuatan tempe untuk melihat pertumbuhan mikroba pada inokulum tempe yang dihasilkan dari setiap perlakuan. Proses pembuatan inokulum tempe penelitian pendahuluan dapat dilihat pada diagram alir Gambar 5.

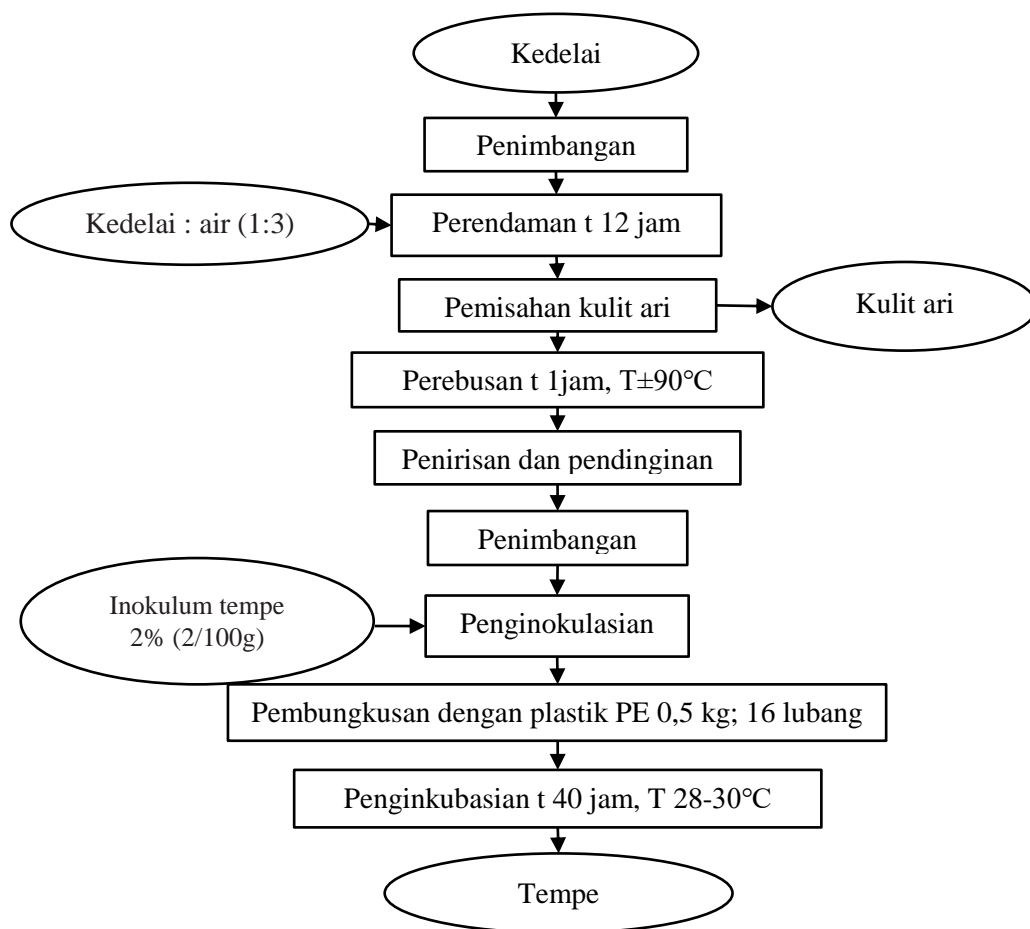


Gambar 5. Pembuatan inokulum tempe penelitian pendahuluan
(Sumber: Amaliyah dkk., 2017 dengan modifikasi)

3.4.1.2. Pembuatan Tempe Penelitian Pendahuluan

Pembuatan tempe kedelai mengikuti metode yang dilakukan oleh Alvina dan Hamdani, (2019) yang telah dimodifikasi. Proses pembuatan tempe diawali dengan ditimbang sebanyak 1,5kg kedelai lalu di rendam air dengan perbandingan

1:3 selama 12 jam. Kemudian kedelai dibersihkan dari kulit ari dengan cara diremas, setelah itu direbus selama 1 jam dengan suhu $\pm 90^{\circ}\text{C}$, kedelai ditiriskan dan didinginkan. Setelah dingin lalu ditimbang dan diinokulasi dengan inokulum tempe sebanyak 2% dari berat kedelai. Kedelai dibungkus dengan plastik PE 0,5 kg yang sudah dilubangi terlebih dahulu sebanyak 16 lubang. Kedelai diinkubasi pada suhu $28-30^{\circ}\text{C}$ selama 40 jam. Proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pembuatan tempe kedelai
(Sumber: Alvina dan Hamdani, 2019 dengan modifikasi)

3.4.2. Penelitian Utama

Berdasarkan penelitian pendahuluan maka diperoleh perlakuan terbaik untuk dilakukan pada penelitian utama. Penelitian utama diawali dengan persiapan kultur *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus*, dilanjutkan dengan pembuatan inokulum tempe, kemudian pengamatan terhadap total mikroba (kapang, khamir, dan bakteri), pengujian pH, dan kadar air.

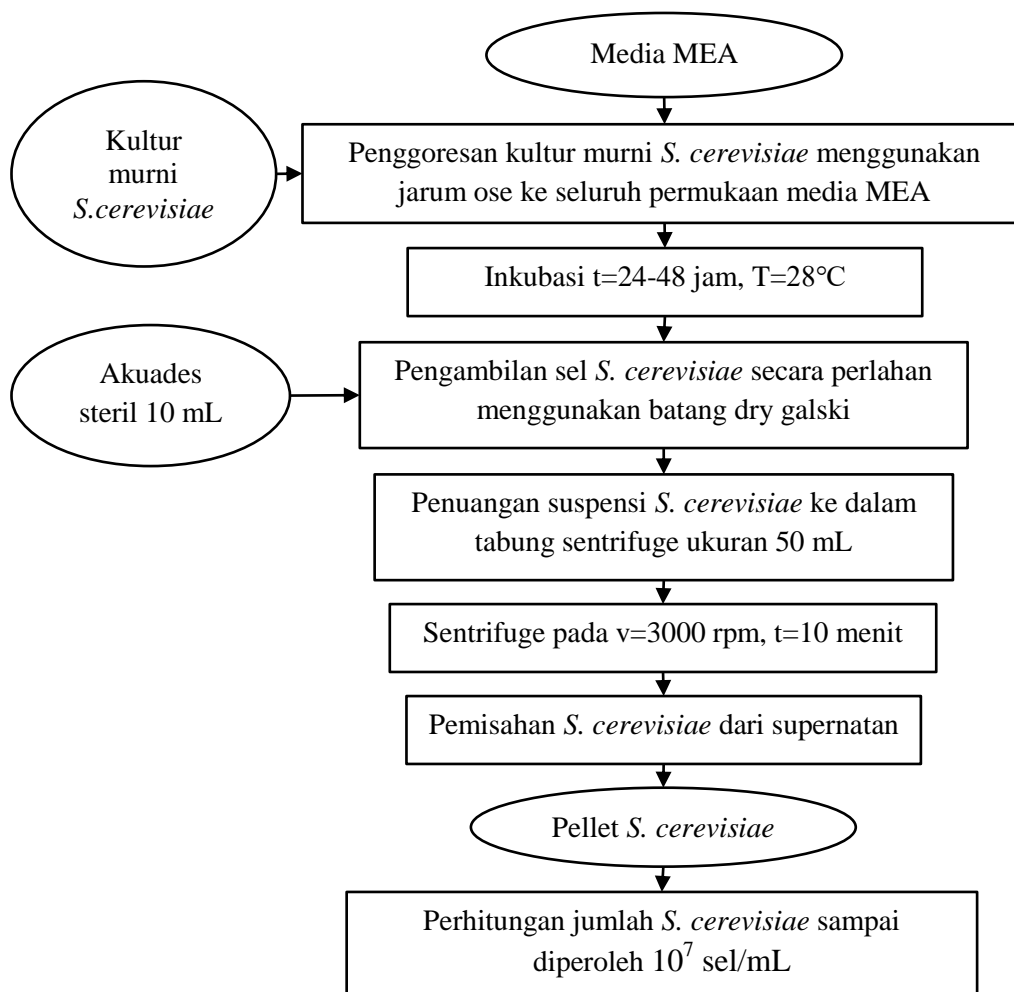
3.4.2.1. Persiapan Kultur *Saccharomyces cerevisiae*

1. Penyiapan Media Malt Extract Agar (MEA)

Sebanyak 12,5 gram media MEA dilarutkan dalam aquadest sebanyak 250 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hot plate hingga media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu didiamkan beberapa saat, lalu dituangkan media pada cawan sebanyak 20-25 mL, kemudian dibiarkan sampai media memadat.

2. Pemiakan *Saccharomyces cerevisiae*

Pemiakan *Saccharomyces cerevisiae* mengikuti metode Rizal et al. (2021). Kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* dikulturkan dalam media Malt Extract Agar (MEA) steril menggunakan jarum inokulasi steril dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C. Koloni dipanen dengan ditambahkan 10 mL akuades steril dan dilakukan pengambilan secara perlahan menggunakan batang dry galski. *Saccharomyces cerevisiae* dituang dalam tabung sentrifuge 50 mL. Tabung ditimbang dan diputar dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit agar kultur murni terpisah dari supernatan. Supernatan pada tabung sentrifuge dibuang dan didapatkan pellet kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*. Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* dihitung menggunakan haemocytometer hingga diperoleh *Saccharomyces cerevisiae* berjumlah 10^7 sel/mL. Proses pemiakan *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada diagram alir Gambar 7.



Gambar 7. Diagram alir pembiakan *Saccharomyces cerevisiae*
(Sumber: Rizal et al., 2021)

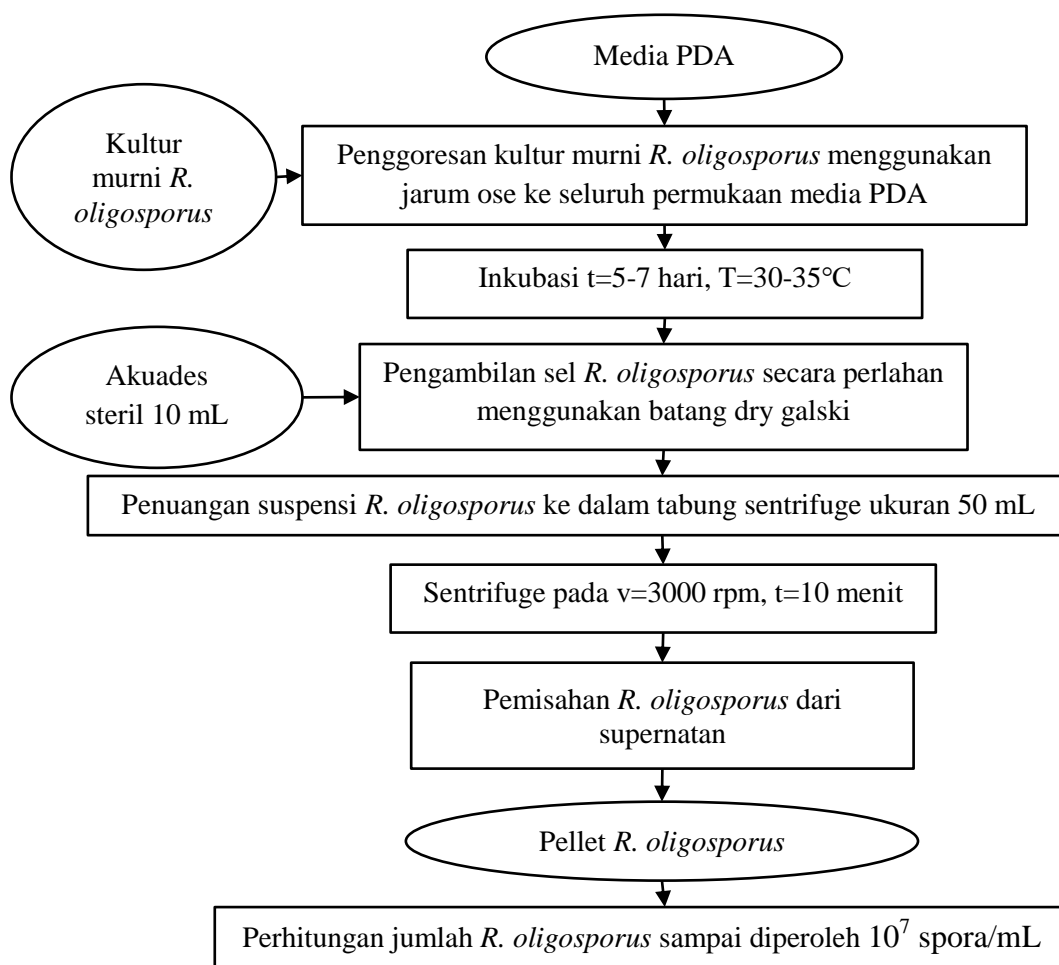
3.4.2.2. Persiapan Kultur *Rhizopus oligosporus*

1. Penyiapan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Sebanyak 9,75 gram media PDA ditambahkan aquadest sebanyak 250 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hot plate hingga media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan sebanyak 20-25 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

2. Pemiakan *Rhizopus oligosporus*

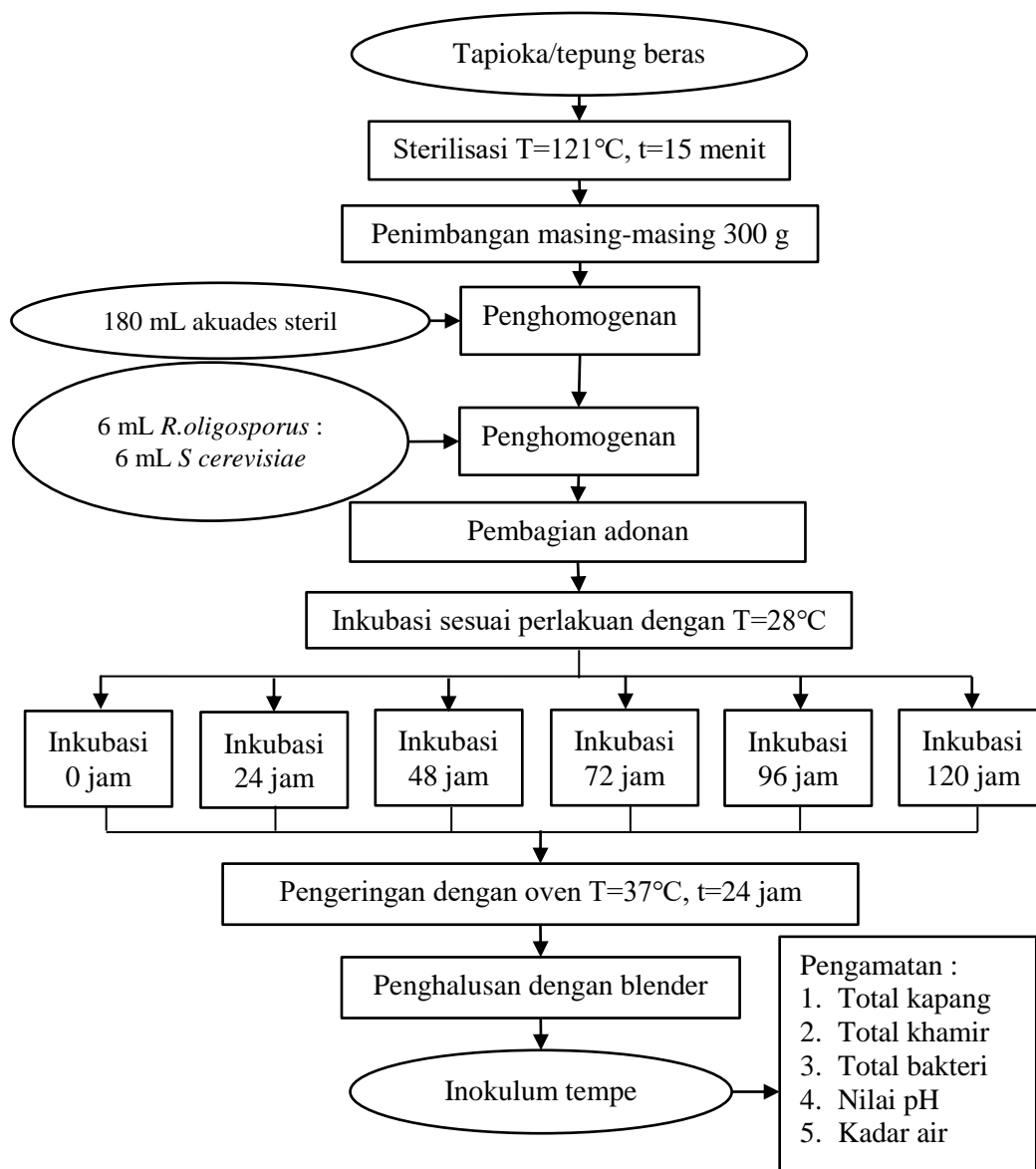
Pemiakan *Rhizopus oligosporus* mengikuti metode Rizal et al. (2021). *Rhizopus oligosporus* murni dalam dibiakkan dalam media PDA menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi, selanjutnya diinokulasi ke seluruh permukaan media dengan metode cawan gores. Kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 30-35°C sehingga diperoleh *Rhizopus oligosporus* murni dalam bentuk koloni media. Koloni-koloni *R. oligosporus* tersebut dipanen menggunakan dry galski dengan menambahkan akuades steril sebanyak 10 mL. Selanjutnya, spora *Rhizopus oligosporus* disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan pada tabung sentrifuge dibuang dan didapatkan *pellet* kultur murni *Rhizopus oligosporus*. Jumlah *Rhizopus oligosporus* dihitung menggunakan haemocytometer hingga diperoleh *Rhizopus oligosporus* berjumlah 10^7 spora/mL. Proses pemiakan *Rhizopus oligosporus* terdapat pada diagram alir Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir persiapan inokulum *Rhizopus oligosporus* (Sumber: Rizal et al., 2021)

3.4.2.3. Pembuatan Inokulum Tempe

Pembuatan inokulum tempe mengikuti prosedur Amaliyah dkk. (2017) yang dimodifikasi dengan beberapa proses dan perlakuan. Tapioka dan tepung beras masing-masing disterilisasi dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian ditimbang masing-masing sebanyak 300 gram tapioka dan tepung, lalu ditambahkan akuades steril sebanyak 180 mL pada masing-masing jenis substrat hingga adonan dapat dibentuk tetapi tidak terlalu basah (berdasarkan penelitian pendahuluan) dan dihomogenkan. Lalu diinokulasi dengan 6 mL *Rhizopus oligosporus* : 6 mL *Saccharomyces cerevisiae* yang masing-masing telah dihitung dan mengandung 10^7 sel/mL, kemudian dihomogenkan. Setelah itu pembagian adonan tapioka dan tepung beras masing-masing menjadi 6 perlakuan. Kemudian dilakukan inkubasi sesuai dengan perlakuan yaitu selama 0 jam (T1), 24 jam (T2), 48 jam (T3), 72 jam (T4), 96 jam (T5), dan 120 jam (T6) dengan suhu 28°C, kemudian dikeringkan dengan oven selama 24 jam dengan suhu 37°C, lalu dilakukan penghalusan dengan blender. Setelah itu dilakukan pengamatan terhadap jumlah mikroba (kapang, khamir, dan bakteri), nilai pH, dan kadar air. Proses pembuatan inokulum tempe dapat dilihat pada diagram alir Gambar 9.

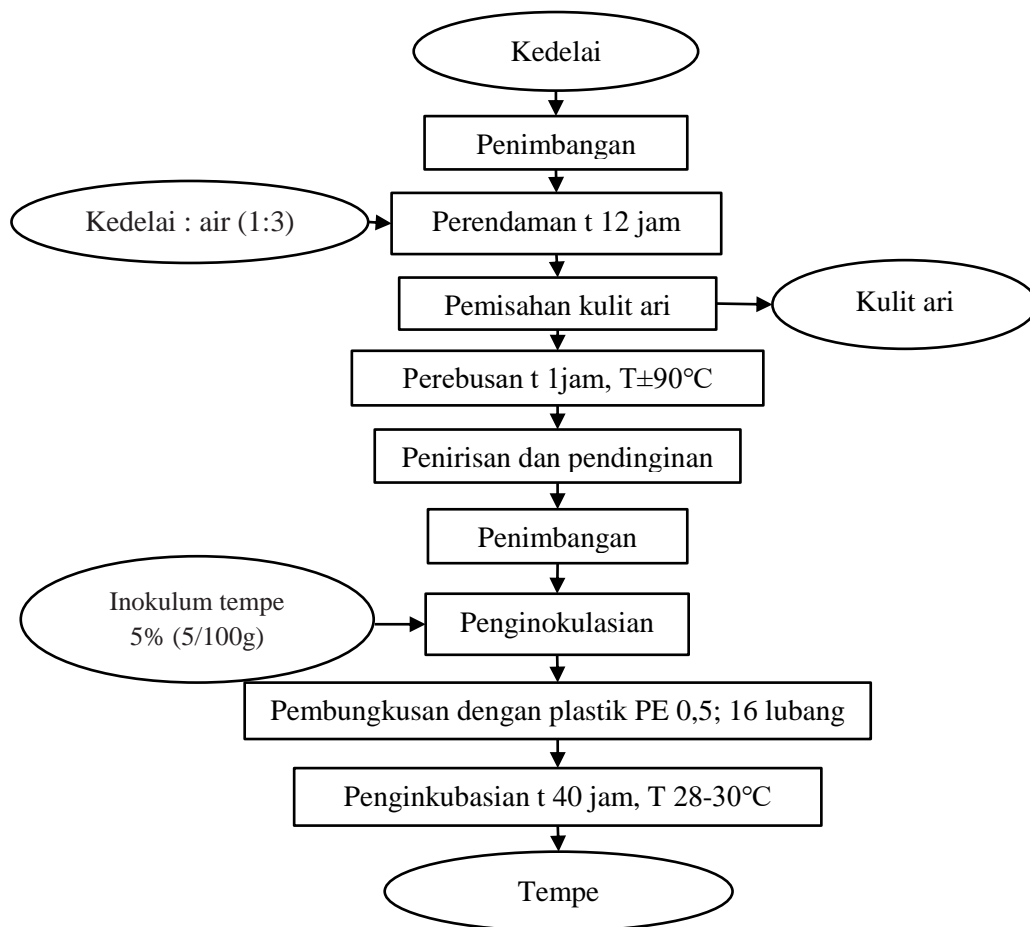


Gambar 9. Diagram alir pembuatan inokulum tempe
(Sumber: Amaliyah dkk., 2017 dengan modifikasi)

3.4.2.4. Pembuatan Tempe

Pembuatan tempe kedelai menggunakan inokulum tempe dari perlakuan terbaik dengan tujuan untuk melihat karakteristik tempe yang dihasilkan dari inokulum tempe terbaik. Prosedur pembuatan tempe kedelai mengikuti metode yang dilakukan oleh Alvina dan Hamdani, (2019) yang telah dimodifikasi. Proses pembuatan tempe diawali dengan ditimbang sebanyak 500 gram kedelai lalu di

rendam air dengan perbandingan 1:3 selama 12 jam. Kemudian kedelai dibersihkan dari kulit ari dengan cara direma, setelah itu direbus selama 1 jam dengan suhu $\pm 90^{\circ}\text{C}$, kedelai ditiriskan dan didinginkan. Setelah dingin ditimbang sebanyak 100 gram dan diinokulasi dengan inokulum tempe perlakuan terbaik sebanyak 5% dari berat kedelai. Kedelai dibungkus dengan plastik PE 0,5 kg yang sudah dilubangi terlebih dahulu sebanyak 16 lubang. Kedelai diinkubasi pada suhu $28-30^{\circ}\text{C}$ selama 40 jam. Proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Pembuatan tempe kedelai
(Sumber: Alvina dan Hamdani, 2019 dengan modifikasi)

3.5. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap inokulum tempe dengan substrat tapioka dan tepung beras dengan lama inkubasi berbeda meliputi: total kapang, total khamir, total bakteri, nilai pH dan kadar air.

3.5.1. Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter menurut prosedur AOAC (2016). Nilai pH diukur pada suhu yang sama. Sebelum pengukuran, pH meter distandarisasi dengan menggunakan buffer standar pH 4 dan pH 7. Pengukuran dilakukan dengan cara elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu. Sampel dimasukkan ke dalam gelas piala 100 mL kemudian elektroda dicelupkan hingga tenggelam pada larutan sampel dan dibiarkan kurang lebih satu menit hingga diperoleh angka yang stabil dan dicatat nilainya.

3.5.2. Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode gravimetri (AOAC, 2016). Prinsip pengujian adalah bobot yang hilang selama pemanasan pada suhu 105-110°C dianggap sebagai kadar air yang terkandung pada sampel. Langkah pertama yaitu cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 105-110°C selama 30 menit dan didinginkan dalam desikator selama 15 menit, lalu ditimbang (A). Selanjutnya sampel sebanyak 2 g dimasukan ke dalam cawan lalu ditimbang (B). Cawan berisi sampel dikeringkan di dalam oven suhu 105-110°C selama 6 jam. Kemudian cawan berisi sampel didinginkan pada desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Setelah itu, dikeringkan kembali selama 30 menit lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan lakukan pengeringan secara berulang sampai bobot konstan (C). Kadar air yang terkandung pada inokulum tempe dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

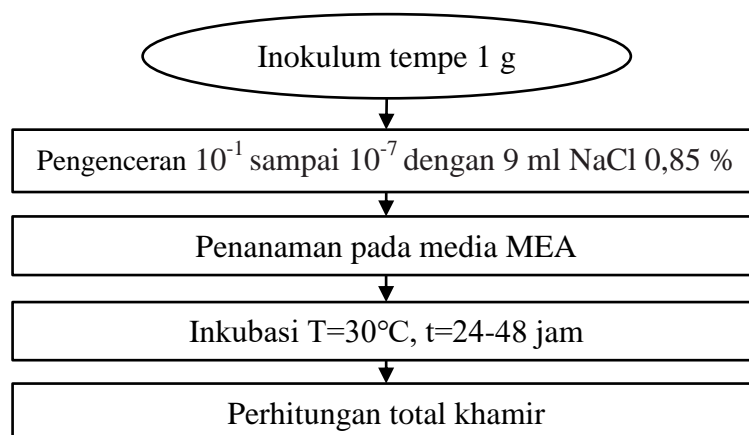
A : berat cawan kosong (g)

B : berat cawan + sampel awal (g)

C : berat cawan + sampel kering (g)

3.5.3. Perhitungan Total Khamir pada Inokulum Tempe

Perhitungan jumlah khamir pada inokulum tempe mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Rizal dkk. (2020) dengan beberapa modifikasi. Setiap inokulum tempe yang dibuat dilakukan analisis total jumlah khamir dengan menumbuhkan biakan pada media Malt Extract Agar (MEA). Masing-masing inokulum tempe diambil sampelnya sebanyak 1 gram dicampur dengan 9 mL NaCl 0,85 % dihomogenkan, lalu dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-7} . Selanjutnya diambil masing-masing 1 mL dari tiga pengenceran terakhir dan dilakukan penanaman mikroorganisme dengan metode cawan tebar permukaan (surface plate count) pada Malt Extract Agar (MEA) secara duplo. Inkubasi khamir pada suhu 30°C selama 24-48 jam. Diagram alir proses perhitungan khamir dapat dilihat pada diagram alir Gambar 11.

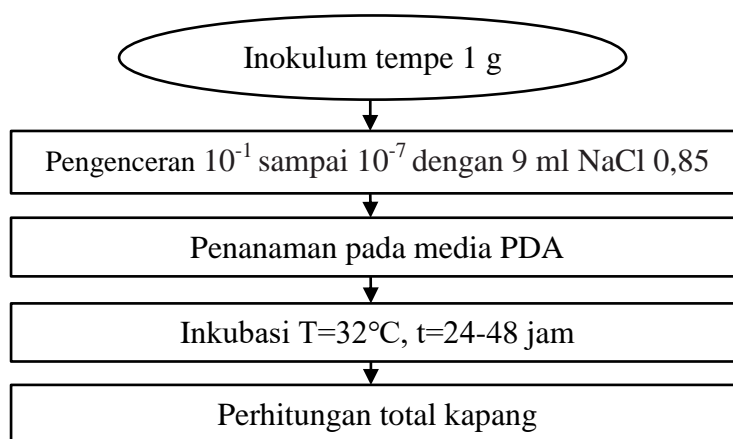


Gambar 11. Diagram alir perhitungan khamir
(Sumber: Rizal dkk., 2020 dengan modifikasi)

3.5.4. Perhitungan Total Kapang pada Inokulum Tempe

Perhitungan jumlah kapang pada inokulum tempe mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Rizal dkk. (2020) dengan beberapa modifikasi. Setiap inokulum tempe yang dibuat dilakukan analisis total kapang dengan menumbuhkan biakan pada media Potato Dextrose Agar (PDA). Masing-masing inokulum tempe diambil sampelnya sebanyak 1 gram dicampur dengan 9 mL NaCl 0,85 %

dihomogenkan, lalu dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-7} . Selanjutnya diambil masing-masing 1 mL dari tiga pengenceran terakhir dan dilakukan penanaman mikroorganisme dengan metode cawan tebar permukaan (surface plate count) pada Potato Dextrose Agar (PDA) secara duplo. Inkubasi kapang dilakukan pada suhu 32°C selama 24-48 jam. Diagram alir proses perhitungan kapang dapat dilihat pada diagram alir Gambar 12.

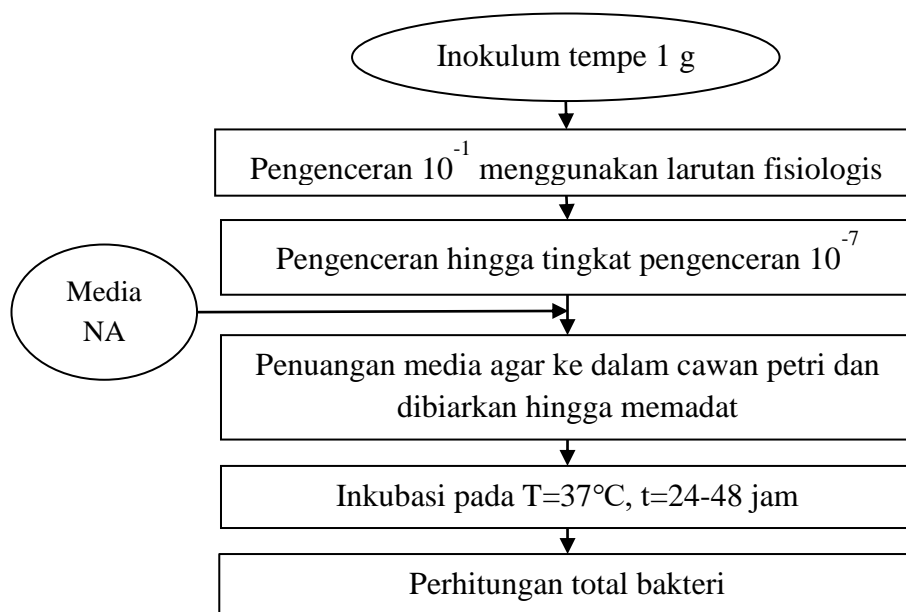


Gambar 12. Diagram alir perhitungan kapang
(Sumber: Rizal dkk., 2020 dengan modifikasi)

3.5.5. Perhitungan Total Bakteri pada Inokulum Tempe

Jumlah koloni bakteri yang dapat dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30-300 koloni. Sebelum digunakan alat-alat dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Menurut Suzanni dkk. (2020), sampel yang ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dilarutkan ke dalam larutan pengencer steril (larutan garam fisiologis) dengan volume mencapai 10 mL sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Larutan tersebut dipipet 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 mL larutan pengencer steril untuk memperoleh pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai didapat pengenceran 10^{-7} . Setiap tabung reaksi dari tiga pengenceran terakhir tersebut diambil dengan menggunakan pipet sebanyak 1 mL selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan secara

duplo. Dituangkan 15 mL media NA ke dalam setiap cawan petri kemudian digerakkan secara melingkar di atas meja supaya media NA merata. Setelah NA membeku, cawan petri diinkubasi dalam inkubator selama 24-48 jam pada suhu 37°C dengan posisi terbalik, kemudian dilakukan penghitungan jumlah bakteri. Diagram alir proses pengamatan jumlah bakteri dapat dilihat pada diagram alir Gambar 13.



Gambar 13. Diagram alir perhitungan total bakteri
(Sumber: Suzanni dkk., 2020 dengan modifikasi)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Jenis substrat berpengaruh nyata terhadap total khamir, total bakteri, pH, kadar air, dan tidak berpengaruh nyata terhadap total kapang pada inokulum tempe.
2. Lama inkubasi berpengaruh nyata terhadap total kapang, total khamir, total bakteri, pH, kadar air pada inokulum tempe.
3. Inokulum tempe terbaik adalah inokulum tempe yang menggunakan jenis substrat tepung beras dengan lama inkubasi 96 jam yang menghasilkan inokulum tempe dengan total kapang 9,02 log CFU/g, total khamir 9,17 log CFU/g, total bakteri 7,81 log CFU/g, pH 4,2, dan kadar air 7,75%.

5.2. Saran

Saran yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Selalu menjaga kondisi ruangan kerja dalam keadaan aseptis agar tidak terjadi kontaminasi pada media pertumbuhan mikroba.
2. Perlu dilakukan pengujian lanjutan terhadap masa simpan tempe yang dihasilkan dari inokulum terbaik yaitu inokulum tempe dengan substrat tepung beras dengan lama inkubasi 96 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R. Z. 2018. Medium Tapioka untuk Preservasi Kapang yang Bermanfaat untuk Veteriner. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 2(1): 1-6.
- Alvina, A., dan Hamdani, D. 2019. Proses pembuatan Tempe Tradisional. *Jurnal Pangan Halal*. 1(1): 9-12.
- Amaliyah, F., Wisaniyasa, N. W., dan Yusasrini, N. L. A. 2017. Pemanfaatan Bekatul Jagung dan Ragi Cap Jago untuk Pembuatan Inokulum tempe dan Karakteristik Tempe yang Dihasilkan. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian AGROTECHNO*. 2(2): 231-237.
- Andarti, I. Y., dan Wardani, A. K. 2015. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia, Mikrobiologi, dan Organoleptik Miso Kedelai Hitam (*Glycine max (L)*). 3(3): 889-898.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2016. *Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists 20th edition*. Benjamin Franklin Station. Washington DC. 19 hlm.
- Astawan. M., Wresdiyati, T., Widowati, S., Bintari, S. H., dan Ichسانی, N. 2013. Karakteristik Fisiko-kimia dan Sifat Fungsional Tempe yang Dihasilkan dari Berbagai Varietas Kedelai. *Jurnal Pangan*. 22(3): 241-251.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. SNI 3549:2009: Tepung Beras. BSN. Jakarta. 44 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional. 2011. SNI 3451:2011: Tapioka. BSN. Jakarta. 38 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional. 2012. Tempe: Persembahan Indonesia untuk Dunia. BSN. Jakarta. 17 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 3144:2015: Tempe Kedelai. BSN. Jakarta. 31 hlm.
- Budiono, R. A. 2016. Pengaruh Jenis Kapang Terhadap Aktivitas Fermentasi Tempe Saga Pohon (*Adenanthera pavonina L.*). Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. 80 hlm.

- Duniaji, A. S., Wisaniyasa, W., Puspawati, N. N., and Indri, N. M. 2019. Isolation and Identification of *Rhizopus oligosporus* Local Isolate Derived from Several Inoculum Sources. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 8(9): 1085-1098.
- Gardjito, M., Djuardi, A., dan Harmayani, E. 2013. Pangan Nusantara: Karakteristik dan Prospek untuk Percepatan Diversifikasi Pangan. Kencana. Jakarta. 558 hlm.
- Herawati, H. 2012. Teknologi Proses Produksi Food Ingridient dari Tapioka Termodifikasi. *Jurnal Litbang Pertanian*. 31(2): 68-76.
- Imanningsih, N. 2012. Profil Gelatinisasi Beberapa Formulasi Tepung-Tepungan untuk Pendugaan Sifat Pemasakan. *Panel Gizin Makan*. 35(1): 13-22.
- Kurniawan, T. B., Bintari, S. H., dan Susanti, R. 2014. Efek Interaksi Ragi Tape dan Ragi Roti terhadap Kadar Bio Etanol Ketela Pohon (*Manihot utilissima*, *Phol*) Varietas Mukibat. *Journal of Biology and Biology Education*. 6(2): 152-160.
- Kustyawati, M. E., Nawansih, O., dan Nurdjanah. 2017. Profile of Aroma Compounds and Acceptability of Modified Tempeh. *International Food Research Journal*. 24(2):734-740.
- Kustyawati, M. E., Sari, M., dan Haryati, T. 2013. Efek Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. *Agritech*. 13(3): 281-287.
- Leiskayanti, Y., Sriherwanto, C., dan Suja'I, I. 2017. Fermentasi Menggunakan Inokulum tempe sebagai Cara Biologis Pengapungan Pakan Ikan. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 4(2): 54-63.
- Lelatobur, L. E. dan Dewi, L. 2016. Optimasi Perebusan Biji Ketapang (*Terminalia cattapa*) dalam Fermentasi Tempe. *Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek 2016*. Hal 153-164.
- Moensaku, E., Sine, Y., dan Pardosi, L. 2021. Isolasi dan Identifikasi Kapang *Rhizopus* pada Tempe Merah (*Phaseolus vulgaris L*). *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*. 8(2): 61-69.
- Mujiyanto. 2013. Analisis Faktor yang Mempengaruhi Proses Produksi Tempe Produk UMKM di Kabupaten Sidoarjo. *Jurnal REKA Agroindustri*. 1(1). 8 hlm.
- Muslikhah, S., Anam, C., dan Andriani, M. A. M. 2013. Penyimpanan Tempe dengan Metode Modifikasi Atmosfer (Modified Atmosphere) untuk mempertahankan Kualitas dan Daya Simpan. *Jurnal Teknosains*. 2(3): 51-60.

- Mustafa, A. 2015. Analisis Proses Pembuatan Pati Ubi Kayu (Tapioka) Berbasis Neraca Massa. *AGROINTEK*. 9(2):127-133.
- Nasrun., Jalaluddin., dan Mahfuddhah. 2015. Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Fermentasi Kulit Pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 4(2): 1-10.
- Nurholipah, N., dan Ayun, Q. 2021. Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* pada Tempe Asal Bekasi. *Jurnal Teknologi Pangan*. 15(1): 98-104.
- Pinasti, L., Nugraheni, Z., dan Wiboworini, B. 2020. Potensi Tempe sebagai Pangan Fungsional dalam Meningkatkan Hemoglobin Remaja Penderita Anemia. *Jurnal AcTion: Aceh Nutrition Journal*. 5(1): 19-26.
- Pranamuda, H., Giarni, R., Pradana, A., Mahsunah, I. S.A., dan Dewi, D. 2012. Aplikasi Beta Glukan sebagai Bahan Berkhasiat Imunomodulator dan Antikanker. *Prosiding InSINas 2012*. Hal 70-73.
- Putri, B.D., Widyastuti, S., dan Werdiningsih, W. 2018. Tempe Kacang Komak dengan Beberapa Pembungkus yang Berbeda Selama Fermentasi. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 4(2): 343-350.
- Qohir, A. dan Fajri, N. 2020. Pengaruh Pencampuran Tepung Beras pada Inokulum tempe terhadap Kecepatan Fermentasi dalam Pembuatan Tempe yang Menggunakan Daun Pisang di Desa Kalijaga Tahun 2018. *Jurnal Pendidikan Biologi*. 5(1): 23-32.
- Rahayu, W. P., Pambayun, R., Santoso, U., Nuraida, L., dan Ardiansyah. 2015. Tinjauan Ilmiah Proses Pengolahan Tempe Kedelai. *Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*. 38 hlm.
- Rahayu, W. P. dan Nurwitri, C. C. 2012. *Mikrobiologi Pangan*. IPB Press. 137 hlm.
- Rahman, M dan Mardesci, H. 2015. Pengaruh Perbandingan Tepung Beras dan Tepung Tapioka terhadap Penerimaan Konsumen pada Cendol. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 4(1): 18-28.
- Rizal, S., dan Kustyawati, M. E. 2019. Karakteristik Organoleptik dan Kandungan Beta-Glukan Tempe Kedelai dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 20(2): 127-138.
- Rizal, S., Kustyawati, M. E., Murhadi., and Hasanudin, U. 2021. Research Article: the Growth of Yeast and Fungi, the Formation of β -glucan, and the Antibacterial Activities during Soybean Fermentation in Producing Tempeh. *International Journal of Food Science*. 2021: 1-8.

- Rizal, S., Murhadi., Kustyawati, M. E., and Hasanudin, U. 2020. Growth Optimization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhizopus oligosporus* During Fermentation to Produce Tempeh with High β -glucan Content. *BIODIVERSITAS*. 21(6): 2667-2673.
- Silaban. B. M. J. 2016. Optimasi Fermentasi Produksi Etanol dari Siwalan (*Borassus flaberifer*) Menggunakan Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipits* dengan Grafikse Surface Methodology. (Skripsi). Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya. Hal 35.
- Solihim, Muhtarudin., dan Sutrisna. 2015. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Kadar Air Kualitas Fisik dan Sebaran Jamur Wafer Limbah Sayuran dan Umbi-Umbian. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3(2): 48-54.
- Sopandi, T., dan Wardah. 2014. Mikrobiologi Pangan-Teori dan Praktik. ANDI. Yogyakarta. 493 hlm.
- Sukardi., Wignyanto., dan Purwaningsih, I. 2008. Uji Coba Penggunaan Inokulum Tempe dari Kapang Penggunaan Inokulum Tempe dari Kapang Penggunaan Inokulum Tempe dari Kapang *Rhizopus oryzae* dengan Substrat Tepung Beras dan Ubikayu pada Unit Produksi Tempe Sanan Kodya Malang. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9(3) : 207 - 215
- Suknia, S. L. 2020. Proses Pembuatan Tempe Home Industry Berbahan Dasar Kedelai (*Glycine max (L.) Merr.*) dan Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) di Candiwesi, Salatiga. *South Asian Journal of Islamic Education*. 3(1): 59-76.
- Suryani, Y., Taupiqurrahman, O., dan Kulsum, Y. 2020. Mikologi. PT. Freeline Cipta Ganesia. Padang. 126 hlm.
- Suzanni, M. A., Iqbal, M., dan Irhamni. 2020. Uji Cemar Mikroba pada Susu Kedelai Produksi Rumah Tangga yang Beredar di Banda Aceh dengan Metode TPC. *Jurnal Pendidikan dan Pengabdian Vokasi*. 2(1): 111-114.
- Tjokrokusumo, D. 2015. Diversitas Jamur Pangan Berdasarkan Kandungan Beta-Glukan dan Manfaatnya terhadap Kesehatan. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. 1(6): 1520-1523.
- Triyono, M., Nazaruddin., dan Werdiningsih, W. 2017. Uji Aktivitas Inokulum Tempe dari Bahan Limbah Kulit Pisang terhadap Mutu Tempe Kedelai. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 3(1): 200-206.
- Wahyudi, A. 2018. Pengaruh Variasi Suhu Ruang Inkubasi Terhadap Waktu Pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* pada Pembuatan Tempe Kedelai. 3(1): 37-44.

- Widyanti, E. M dan Moehadi, B. I. 2016. Proses Pembuatan Etanol dari Gula Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* Amobil. METANA. 12(2): 31-38.
- Zely, F. D. 2014. Pengaruh Waktu dan Kadar *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Produksi Etanol dari Serabut Kelapa pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan dengan Enzim Selulase. (Skripsi). Universitas Bengkulu. Hal 12.