

**KAJIAN PERUBAHAN KOMPOSISI GIZI SELAMA PENGOLAHAN  
TEMPE DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**VIRDA AULIA SUYARTO**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2021**

## ABSTRACT

### STUDY OF CHANGES IN NUTRITIONAL COMPOSITION DURING THE PROCESSING OF TEMPE WITH THE ADDITION OF *Saccharomyces cerevisiae*

By

VIRDA AULIA SUYARTO

This study aimed to determine the effect of different types of inoculum and duration of fermentation and the interaction between the two on the nutritional composition of the tempe produced. This study used a Randomized Complete Block Design (RCBD) with two factors and two repetitions. The first factor was the type of tempeh inoculum with 4 levels, namely commercial yeast, *R. oligosporus*, *S. cerevisiae*, and a mixture of *R. oligosporus* and *S. cerevisiae*. The second factor was the length of fermentation with 4 levels, namely 0 hours, 15 hours, 30 hours, and 45 hours. Observation parameters included fat content, protein content, ash content, water content, and carbohydrate content. The data obtained were analyzed statistically using the Barlett and Tukey test and then continued with the ANOVA test and the Orthogonal Polynomial–Orthogonal Comparison (OP-OC) test at the 5% level. The results showed that the use of mixed inoculum types *R. oligosporus* and *S. cerevisiae* affected the fat content, ash content, and water content of tempeh and the longer the fermentation, the protein content, ash content, and water content would increase, while the fat content and carbohydrate content would decrease. The best interaction of inoculum type and fermentation time was found in the addition of a mixture of *R. oligosporus* and *S. cerevisiae* and 30 hours of fermentation (T4F3) with protein content of 16.7%, fat content of 8.93%, moisture content of 64.44%, content of 1.21% ash, and 8.73% carbohydrate content.

**Keywords:** Tempe, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus*, fermentation time.

## ABSTRAK

### KAJIAN PERUBAHAN KOMPOSISI GIZI SELAMA PENGOLAHAN TEMPE DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae*

Oleh

**VIRDA AULIA SUYARTO**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis inokulum berbeda dan lama fermentasi serta interaksi antar keduanya terhadap komposisi gizi tempe yang dihasilkan. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) faktorial dengan 2 kali ulangan. Faktor pertama berupa jenis inokulum tempe dengan 4 taraf yaitu ragi komersil, *R. oligosporus*, *S. cerevisiae*, serta campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae*. Faktor kedua adalah lama fermentasi dengan 4 taraf, yaitu 0 jam, 15 jam, 30 jam, dan 45 jam. Parameter pengamatan meliputi kadar lemak, kadar protein, kadar abu, kadar air, dan kadar karbohidrat. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Barlett dan Tukey lalu dilanjutkan dengan uji ANOVA dan uji polinomial orthogonal-kontras ortogonal pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan jenis inokulum campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* berpengaruh terhadap kadar lemak, kadar abu, dan kadar air tempe serta semakin lama fermentasi maka kadar protein, kadar abu, dan kadar air akan meningkat, sedangkan kadar lemak dan kadar karbohidrat menurun. Interaksi terbaik dari jenis inokulum dan lama fermentasi terdapat pada perlakuan penambahan campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* dan lama fermentasi 30 jam (T4F3) dengan kadar protein sebesar 16,7%, kadar lemak 8,93%, kadar air 64,44%, kadar abu 1,21%, dan kadar karbohidrat 8,73%.

**Kata kunci:** Tempe, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus*, lama fermentasi.

**KAJIAN PERUBAHAN KOMPOSISI GIZI SELAMA PENGOLAHAN  
TEMPE DENGAN PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

**Oleh**

**Virda Aulia Suyarto**

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  
2021**

Judul Skripsi : **KAJIAN PERUBAHAN KOMPOSISI GIZI  
SELAMA PENGOLAHAN TEMPE DENGAN  
PENAMBAHAN *Saccharomyces cerevisiae***

Nama : **Virda Aulia Suyarto**


Nomor Pokok Mahasiswa : 1714051015

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian

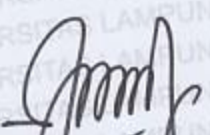


1. Komisi Pembimbing

  
**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

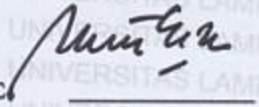
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

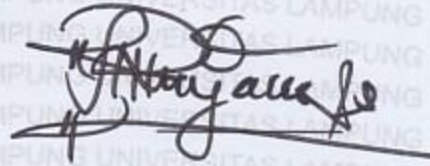
**Ketua : Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si.**



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



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



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



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



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 28 Oktober 2021**

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Virda Aulia Suyarto

NPM : 1714051015

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, 28 Oktober 2021  
Yang membuat pernyataan



Virda Aulia Suyarto  
NPM. 1714051015

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada 31 Mei 1999, sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Tri Suyarto dan Ibu Diah Kusuma Handayaniingrat. Penulis memiliki seorang adik bernama Salsabila Dwita Suyarto. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Darmawanita Bandar Lampung pada tahun 2005, Sekolah Dasar di SD Al-Azhar 2 Bandar Lampung pada tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama di SMP Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2014, dan Sekolah Menengah Atas di SMA Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2017.

Pada tahun 2017, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN. Pada bulan Januari-Februari 2020, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sukaraja, Kecamatan Cukuh Balak, Kabupaten Tanggamus. Pada bulan Juli 2020, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Bumi Saktiperdana Laujaya dengan judul “Mempelajari Proses Produksi Tapioka di PT Bumi Saktiperdana Laujaya Kabupaten Tulang Bawang Barat”.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi Asisten Dosen Mata Kuliah Kimia Dasar I pada Tahun Ajaran 2018/2019, dan Asisten Dosen Mata Kuliah Biokimia pada Tahun Ajaran 2019/2020, dan Asisten Dosen Mata Kuliah Teknologi Fermentasi pada Tahun Ajaran 2020/2021. Penulis juga aktif dalam kegiatan kemahasiswaan yaitu menjadi Anggota Bidang Seminar dan Diskusi Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung (HMJ THP FP Unila) periode 2018/2019.



## SANWACANA

*Alhamdulillah rabbil 'alamiin.* Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah karena atas Rahmat, Hidayah, dan Inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang 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 yang memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Bapak Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Pertama, atas arahan, saran, bantuan, motivasi, dan bimbingan yang telah diberikan selama Perkuliahan dan selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi Penulis.
4. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Kedua, yang telah memberikan banyak bimbingan, arahan, masukan serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Ir. Suharyono A S., M.S., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan saran serta masukan terhadap skripsi penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staf dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung, yang telah mengajari, membimbing, dan juga membantu penulis dalam menyelesaikan administrasi akademik.
7. Kedua orangtua penulis Bapak Tri Suyarto dan Ibu Diah Kusuma Handayani, adik penulis Salsabila Dwita Suyarto, serta keluarga besar

penulis yang telah memberikan dukungan material dan semangat, serta do'a yang selalu menyertai penulis selama ini.

8. Sahabat – sahabatku Ami, Bening, Lola, Salsa, Haybah, Wana, Wahyu, Nanda, Arlan, Aby, dan Adam yang telah memberikan bantuan, doa, semangat, motivasi, selalu menemani dalam suka maupun duka, memberikan kenangan indah selama perkuliahan, serta menjadi tempat berkeluh kesah.
9. Sahabat- sahabat sejak SMP, Nadhira, Siti Fauziah, Olga, Sindy, Adel, dan Nabila Ramanda yang telah memberikan semangat, hiburan, dan selalu mendengarkan keluh kesah penulis selama perkuliahan dan penyelesaian skripsi.
10. Sahabat – Sahabat sejak SMA, Rizka Anisa, Sasa, Zahra, Anggi, Anisa, Jibri, Diah, Putri Fadhila, Ani, dan Adela yang telah memberikan motivasi, semangat, dan hiburan selama perkuliahan dan penyelesaian skripsi.
11. Keluarga besar THP angkatan 2017 terima kasih atas perjalanan, kebersamaan serta seluruh cerita suka maupun dukanya selama ini. Adik-adik dan kakak-kakak yang telah membantu selama perkuliahan, penelitian, sampai penyelesaian skripsi penulis.
12. Pengurus Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung periode 2018/2019, serta seluruh keluarga besar HMJ THP FP Unila yang telah memberikan kesempatan dan banyak pengalaman bagi penulis selama menjadi pengurus HMJ THP

Penulis berharap semoga Allah membalas seluruh kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Bandar Lampung, 28 Oktober 2021

**Virda Aulia Suyarto**

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan .....	2
1.3. Kerangka Pikiran.....	2
1.4. Hipotesis.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1. Kedelai .....	5
2.2. Tempe.....	7
2.2.1. Protein Tempe .....	9
2.2.2. Vitamin Tempe .....	10
2.2.3. Lemak Tempe .....	11
2.2.4. Mineral Tempe.....	11
2.3. Fermentasi Tempe.....	12
2.4. <i>Rhizopus oligosporus</i> .....	14
2.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	15
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	16
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	16
3.2. Alat dan Bahan.....	16
3.3. Metode Penelitian .....	17
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	18
3.4.1. Pembuatan Biakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	18
3.4.2. Pembuatan Biakan <i>Rhizopus oligosporus</i> .....	20
3.4.3. Pembuatan Tempe.....	23
3.5. Pengamatan .....	24
3.5.1. Kadar Lemak.....	25
3.5.2. Kadar Protein .....	25
3.5.3. Kadar Abu.....	26
3.5.4. Kadar Air.....	27
3.5.5. Kadar Karbohidrat.....	27

<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	29
4.1. Kadar Lemak.....	29
4.2. Kadar Protein .....	31
4.3. Kadar Abu .....	34
4.4. Kadar Air.....	36
4.5. Kadar Karbohidrat.....	39
4.6. Rekapitulasi Perlakuan Terbaik .....	41
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	44
5.1. Kesimpulan .....	44
5.2. Saran.....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	45
<b>LAMPIRAN</b> .....	52

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia kedelai.....	6
2. Perbandingan kandungan protein beberapa jenis kacang-kacangan.....	6
3. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015 .....	8
4. Komposisi gizi tempe .....	9
5. Kandungan asam amino pada 100 gram tempe kukus.....	10
6. Kombinasi perlakuan jenis inokulum tempe dan lama fermentasi.....	17
7. Rekapitulasi hasil pengamatan tempe dengan jenis inokulum yang berbeda selama fermentasi .....	42
8. Hasil pengujian kadar lemak tempe selama fermentasi dengan jenis inokulum berbeda (ragi tempe, <i>R. oligosporus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , campuran <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> ) .....	53
9. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (bartlett's test ) kadar lemak tempe selama fermentasi .....	54
10. Uji kemenambahan (additifitas) kadar lemak tempe selama fermentasi.....	55
11. Hasil analisis ragam terhadap kadar lemak tempe selama fermentasi.....	56
12. Uji lanjut polinomial orthogonal-kontras ortogonal kadar lemak tempe yang diinokulasi dengan jenis inokulum yang berbeda selama fermentasi .....	57
13. Hasil pengujian kadar protein tempe selama fermentasi dengan jenis inokulum berbeda (ragi tempe, <i>R. oligosporus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , campuran <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> ) .....	59
14. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (bartlett's test ) kadar protein tempe selama fermentasi.....	60
15. Uji kemenambahan (additifitas) kadar protein tempe selama fermentasi.....	61

16. Hasil analisis ragam terhadap kadar protein selama fermentasi .....	62
17. Uji lanjut polinomial orthogonal-kontras ortogonal kadar protein tempe yang diinokulasi dengan jenis inokulum yang berbeda selama fermentasi .....	63
18. Hasil pengujian kadar abu tempe selama fermentasi dengan jenis inokulum berbeda (ragi tempe, <i>R. oligosporus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , campuran <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> ) .....	65
19. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (bartlett's test ) kadar abu tempe selama fermentasi .....	66
20. Uji kemenambahan (additifitas) kadar abu tempe selama fermentasi.....	67
21. Hasil analisis ragam terhadap kadar abu selama fermentasi.....	68
22. Uji lanjut polinomial orthogonal-kontras ortogonal kadar abu tempe yang diinokulasi dengan jenis inokulum yang berbeda selama fermentasi .....	69
23. Hasil pengujian kadar air tempe selama fermentasi dengan jenis inokulum berbeda (ragi tempe, <i>R. oligosporus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , campuran <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> ).....	71
24. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (bartlett's test ) kadar air tempe selama fermentasi.....	72
25. Uji kemenambahan (additifitas) kadar air tempe selama fermentasi.....	73
26. Hasil analisis ragam terhadap kadar air selama fermentasi .....	74
27. Uji lanjut polinomial orthogonal-kontras ortogonal kadar air tempe yang diinokulasi dengan jenis inokulum yang berbeda selama fermentasi .....	75
28. Hasil pengujian kadar karbohidrat tempe selama fermentasi dengan jenis inokulum berbeda (ragi tempe, <i>R. oligosporus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , campuran <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> ).....	77
29. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (bartlett's test ) kadar karbohidrat tempe selama fermentasi .....	78
30. Uji kemenambahan (additifitas) kadar karbohidrat tempe selama fermentasi.....	79
31. Hasil analisis ragam terhadap kadar karbohidrat selama fermentasi.....	80
32. Uji lanjut polinomial orthogonal-kontras ortogonal kadar karbohidrat tempe yang diinokulasi dengan jenis inokulum yang berbeda selama fermentasi .....	81

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram alir persiapan inokulum <i>S. cerevisiae</i> .....	20
2. Diagram alir persiapan inokulum <i>R. oligosporus</i> .....	22
3. Diagram alir pembuatan tempe kedelai .....	24
4. Respon faktor lama fermentasi terhadap kadar lemak tempe pada masing-masing jenis inokulum.....	29
5. Respon faktor lama fermentasi terhadap kadar protein tempe pada masing-masing jenis inokulum.....	32
6. Respon faktor lama fermentasi terhadap kadar abu tempe pada masing-masing jenis inokulum.....	34
7. Respon faktor lama fermentasi terhadap kadar air tempe pada masing-masing jenis inokulum.....	37
8. Respon faktor lama fermentasi terhadap kadar karbohidrat tempe pada masing-masing jenis inokulum .....	40
9. Peremajaan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	83
10. Peremajaan <i>Rhizopus oligosporus</i> .....	84
11. Proses pembuatan tempe.....	87
12. Tempe dengan lama fermentasi 0 jam (F1) .....	86
13. Tempe dengan lama fermentasi 15 jam (F2) .....	87
14. Tempe dengan lama fermentasi 30 jam (F3) .....	87
15. Tempe dengan lama fermentasi 45 jam (F4) .....	88
16. Pengujian kadar protein .....	89
17. Pengujian kadar lemak.....	90
18. Pengujian kadar air.....	91
19. Pengujian kadar abu.....	92

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang dan Masalah

Tempe merupakan salah satu produk pangan yang difermentasi dengan kapang *Rhizopus oligosporus* serta mempunyai komposisi gizi yang tinggi sehingga dapat bersaing dengan sumber pangan hewani seperti daging, telur, dan ikan baik dari komposisi protein, karbohidrat, vitamin, maupun mineral. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Astawan dkk. (2013), tempe mengandung protein berkisar antara 46,68–52,70 %, karbohidrat 6,57–6,12 %, kadar abu 2,01-2,47 %, dan serat kasar 6,21-6,77 %. Menurut Radiati dan Sumarto (2016) kapang yang tumbuh selama proses fermentasi kedelai akan menghasilkan beberapa enzim seperti enzim protease, lipase, dan amilase sehingga mampu menguraikan protein, lemak serta karbohidrat kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Hal ini akan menyebabkan kandungan gizi pada tempe menjadi lebih mudah dicerna, diserap dan dimanfaatkan oleh tubuh manusia dibandingkan dengan kacang kedelai biasa (Jayanti, 2019).

Menurut Efriwati *et al.* (2013), tidak hanya kapang yang terlibat pada proses fermentasi tempe namun terdapat mikroorganisme lain yang ditemukan yaitu bakteri asam laktat (BAL) dan khamir. Mikroorganisme tersebut sudah ikut terlibat dalam proses fermentasi tempe sejak proses perendaman kedelai. Keberadaan khamir tersebut menunjukkan bahwa khamir mampu tumbuh dan berinteraksi dengan mikroflora lain yang terdapat dalam tempe sehingga ada kemungkinan bahwa khamir memiliki peran dalam meningkatkan kualitas nutrisi dan flavor tempe (Kustyawati, 2009). Salah satu khamir yang dapat ikut berperan dalam proses fermentasi tempe adalah *S. cerevisiae* (Rizal dan Kustyawati, 2019).



Penggunaan khamir *S. cerevisiae* terbilang cukup luas. Khamir *S. cerevisiae* banyak digunakan pada berbagai industri terutama pada produk terfermentasi salah satunya pada industri pangan sebagai bahan pembantu pada proses pengolahan makanan, seperti antioksidan, aroma, warna, rasa dan vitamin (Kustyawati and Pujiastuti, 2018). Khamir *S. cerevisiae* mampu memproduksi beberapa enzim yang memiliki peran cukup penting dalam peningkatan kualitas gizi pada tempe. Khamir *S. cerevisiae* merupakan salah satu khamir yang berpotensi dalam menghasilkan enzim lipase (Treichel *et al.*, 2010) dan enzim amilase (Kustyawati, 2018). Adanya enzim-enzim yang diproduksi oleh *S. cerevisiae* selama proses pertumbuhannya menyebabkan komponen – komponen penyusun bahan pangan akan dirombak oleh khamir (Kustyawati, 2018), sehingga dengan adanya penambahan *S. cerevisiae* selama fermentasi tempe diduga dapat berpengaruh terhadap perubahan komposisi gizi penting yang terkandung di dalam tempe seperti kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, dan kadar karbohidrat. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui perubahan komposisi gizi selama proses pengolahan tempe modifikasi *S. cerevisiae*.

## **1.2. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh jenis inokulum berbeda terhadap komposisi gizi tempe yang dihasilkan.
2. Mengetahui pengaruh lama fermentasi dalam pembuatan tempe terhadap komposisi gizi tempe yang dihasilkan.
3. Mengetahui pengaruh interaksi dari jenis inokulum berbeda dan lama fermentasi terhadap komposisi gizi tempe yang dihasilkan.

## **1.3. Kerangka Pemikiran**

Penggunaan inokulum yang berbeda selama proses fermentasi tempe dapat mempengaruhi komposisi gizi tempe yang dihasilkan. Kapang *R. oligosporus* yang berperan dalam fermentasi mampu memproduksi enzim lipase, amilase, maupun protease. Adanya aktivitas enzim tersebut menyebabkan komponen kompleks pada

kedelai terurai sehingga dapat berpengaruh terhadap kadar gizi yang terkandung pada tempe. Selain kapang, khamir juga dapat ikut terlibat dalam fermentasi tempe. Salah satu jenis khamir yang dapat berperan dalam proses fermentasi tempe adalah *S. cerevisiae*. Penambahan *S. cerevisiae* dalam pembuatan tempe mampu meningkatkan kandungan beta-glukan tempe (Rizal dkk., 2019). Selain beta-glukan, *S. cerevisiae* dapat memproduksi beberapa enzim seperti enzim lipase (Treichel *et al.*, 2010) dan amilase (Kustyawati, 2018) yang memiliki peran cukup penting dalam peningkatan kualitas gizi pada tempe. Penambahan *S. cerevisiae* pada penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan kualitas nutrisi tempe lainnya jika dibandingkan pada tempe tanpa penambahan *S. cerevisiae*. Seperti halnya pada produk telur infertil sisa hasil penetasan, penambahan *S. cerevisiae* dapat menurunkan kadar lemaknya (Hatijah dkk., 2018) serta pada produk tapioka, penambahan *S. cerevisiae* dapat meningkatkan kadar proteinnya (Kustyawati dkk., 2013). Sehubungan dengan hal itu, karena penambahan *S. cerevisiae* pada tempe sudah berhasil menghasilkan kandungan beta-glukan dan berpotensi baik untuk kesehatan, maka perlu dipelajari pengaruh penambahan khamir selama fermentasi terhadap kandungan gizi tempe yang lain.

Selain jenis inokulum, waktu fermentasi juga dapat mempengaruhi mutu gizi tempe yang dihasilkan. Kenaikan waktu fermentasi pada batas tertentu dapat meningkatkan kualitas tempe yang dihasilkan, seperti kadar protein, air, dan abu yang akan mengalami peningkatan. Namun, apabila fermentasi terlalu lama dilakukan maka dapat menyebabkan tempe menjadi lunak, berair, dan timbul aroma tidak enak serta komposisi gizinya mengalami penurunan. Seperti pada penelitian Sawitri dan Santoso (2014), melaporkan bahwa kadar protein tempe biji durian mengalami peningkatan hingga lama fermentasi 48 jam dengan kadar protein tertinggi pada waktu fermentasi ke – 48 jam dengan kadar protein tertinggi pada waktu fermentasi ke – 48 jam yaitu sebesar 3,378%, kemudian mengalami penurunan pada lama fermentasi 60 jam menjadi 2,554% dan akan semakin menurun seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Raharjo dkk. (2019), kadar lemak tempe gude akan menurun seiring dengan meningkatnya lama fermentasi. Pada lama fermentasi 0 jam kadar lemaknya sebesar 3,3%, kemudian pada lama fermentasi 72 jam mengalami

penurunan menjadi 1,26%. Sejalan dengan ini maka diduga lama fermentasi pada proses pembuatan tempe juga dapat berpengaruh terhadap komposisi gizi tempe lainnya seperti kadar air, kadar abu, dan kadar karbohidrat.

Peran kapang *R. oligosporus* dan khamir *S. cerevisiae* yang mampu tumbuh dan berinteraksi selama fermentasi ada kemungkinan juga dapat meningkatkan kualitas nutrisi seperti kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, dan kadar karbohidrat tempe. Hal ini perlu diteliti untuk mengetahui pengaruh penambahan *S. cerevisiae* terhadap perubahan komposisi gizi tempe yang dihasilkan. Selain itu, lama fermentasi juga berpengaruh terhadap komposisi gizi tempe. Berdasarkan hal tersebut diduga terdapat interaksi terbaik dari penggunaan jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap komposisi gizi tempe. Oleh karena itu, perlu dikaji mengenai pengaruh penambahan *S. cerevisiae* dan lama fermentasi terhadap perubahan komposisi gizi tempe yang dihasilkan.

#### **1.4. Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh penggunaan jenis inokulum berbeda terhadap komposisi gizi tempe yang dihasilkan.
2. Terdapat pengaruh lama fermentasi dalam pembuatan tempe terhadap komposisi gizi tempe yang dihasilkan.
3. Terdapat interaksi terbaik dari jenis inokulum dan lama fermentasi terhadap komposisi gizi tempe yang dihasilkan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Kedelai

Kedelai merupakan jenis tanaman polong-polongan yang memiliki beberapa nama ilmiah yaitu *Glycine soja* (kedelai hitam) dan *Glycine max* (kedelai kuning) (Adisarwanto, 2013). Kedelai yang berasal dari Indonesia memiliki bobot yang lebih rendah dari pada kedelai impor. Kedelai asal Indonesia mempunyai bobot berkisar antara 6,35 -10,767 g, sedangkan kedelai impor sebesar 15,30 g. Biji kedelai Indonesia memiliki ukuran yang cukup beragam yaitu panjangnya berkisar antara 5,20-7,28 mm dan lebar 4,67-5,78 mm. Biji kedelai Indonesia umumnya memiliki pH 6-7. Kedelai merupakan salah satu komoditas yang dianggap penting dikarenakan kedelai memiliki nilai guna yang tinggi, dapat diolah menjadi produk pangan, minuman serta penyedap rasa alami makanan. Pada umumnya, kedelai sebagai sumber bahan pangan tidak langsung dikonsumsi, tetapi diolah terlebih dahulu sesuai dengan kebutuhannya, misalnya tempe, tahu, kecap, tauco, tauge dan bahkan diolah secara modern menjadi susu dan minuman sari kedelai yang dikemas di dalam botol. Produk olahan kedelai tersebut sangat baik bagi kesehatan tubuh manusia karena tidak mengandung kolesterol (Yuwono dkk., 2012).

Nutrisi dan zat gizi yang terkandung pada kedelai cukup tinggi dan memiliki manfaat bagi kesehatan tubuh. Kedelai mengandung berbagai nutrisi misalnya protein, lemak, karbohidrat, vitamin, mineral, serat, dan isoflavon. Namun selain mengandung nutrisi, kedelai juga mengandung antinutrisi diantaranya antitripsin, hemaglutinin, asam fitat, oligosakarida penyebab flatulensi (timbulnya gas dalam perut sehingga perut menjadi kembung). Tentunya kandungan antinutrisi tersebut harus dilakukan pengurangan. Beberapa metoda yang dapat digunakan untuk mengurangi antinutrisi kedelai yaitu dengan fermentasi, perendaman dan perkecambahan. Metode tersebut apabila diaplikasikan pada kedelai, selain dapat

mengurangi antinutrisi juga dapat meningkatkan nilai dari kedelai (Narsih dkk., 2018). Komposisi kimia kedelai disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia kedelai

<b>Komposisi</b>	<b>Jumlah</b>
Kalori (kkal)	381
Air (gram)	12,7
Protein (gram)	40,4
Lemak (gram)	16,7
Serat (gram)	3,2
Kalsium (mg)	222
Fosfor (mg)	628
Zat Besi (mg)	10
Abu (gram)	5,5
Vitamin B (mg)	0,52

Sumber: BSN (2012)

Kadar protein kasar pada kedelai merupakan yang paling tinggi jika dibandingkan dengan jenis kacang-kacangan yang lainnya seperti kacang merah, kacang tanah, kacang gude, kacang tunggak, kacang Bogor, dan kacang hijau. Hal tersebut telah ditegaskan oleh Dewi dkk. (2015) bahwa kadar protein kasar pada kedelai paling tinggi diantara jenis kacang-kacangan lainnya, yaitu sebesar 37,71%. Perbandingan kadar protein beberapa jenis kacang-kacangan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan kandungan protein beberapa jenis kacang - kacang

<b>Jenis Kacang</b>	<b>Kandungan Protein Kasar (%BK)</b>
Kacang Kedelai	37,7
Kacang Merah	25,98
Kacang Hijau	26,60
Kacang Tanah	33,92
Kacang Gude	24,21
Kacang Tunggak	27,27
Kacang Bogor	23,69

Sumber: Dewi dkk. (2015).

Kadar protein kedelai yaitu 35-40% basis bobot kering, sebagian besar merupakan protein tersimpan yang penyusun utamanya adalah 11S glycinin berkisar antara 7,32 - 56,82% dan 7S  $\beta$ -conglycinin sebesar 4, 48-14, 05% (Yuwono dkk., 2012). Kandungan isoflavone pada biji kedelai cukup beragam yaitu berkisar 128 - 380

mg/100 g (Murni dkk., 2013) dan antara 80,7 hingga 213,6 mg/100g (Muji<sup>ae</sup> *et al.*, 2011). Kadar isoflavon yang beragam tersebut dikarenakan beberapa faktor diantaranya varietas kedelai, lingkungan dan kondisi lingkungan tumbuh tanaman, budi daya serta penanganan pascapanen kedelai (Jung *et al.*, 2012; Hasanah *et al.*, 2015). Isoflavon memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, diantaranya sebagai anti-inflamasi (Kole *et al.*, 2011) dan mampu mencegah perkembangan sel-sel kanker dengan cara menghambat kerja enzim tirosin kinase seperti kanker payudara dan kanker prostat (Kang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010; Mahoney *et al.*, 2012). Kandungan isoflavon pada kedelai dapat berbentuk senyawa aglikon dan glikosida. Bagian utama senyawa aglikon meliputi genistein, daidzein, dan glisitein, sedangkan untuk senyawa glikosida berupa genistin, daidzin, dan glisitin (Zaheer and Akhtar, 2017).

Kedelai mengandung lemak yang tersusun atas 15% asam lemak jenuh dan sekitar 60% lemak tidak jenuh berupa asam linolenat dan linoleat yang bermanfaat untuk menyehatkan jantung dan mengurangi risiko terkena kanker. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Matthaus and Özcan (2014) terhadap kandungan asam lemak dan tokoferol pada minyak biji kedelai ditemukan kandungan asam oleat yang bervariasi antara 21,4% (varietas AEM 7) hingga 26,6% (varietas Türksoy). Asam linoleat minyak biji kedelai memiliki proporsi yang bervariasi yaitu berkisar antara 49,0% (varietas Türksoy) hingga 53,5% (varietas ATAEM 7). Proporsi asam palmitat minyak biji kedelai bervariasi antara 9,2% (varietas Adasoy) hingga 11,2% (varietas Noya). Tokoferol utama yang ditemukan pada minyak biji kedelai adalah  $\alpha$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol, dan  $\delta$ -tocopherol.

## 2.2. Tempe

Tempe merupakan produk pangan Indonesia yang diolah dengan memfermentasikan kedelai dengan kapang *R. oligosporus*. Tempe memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap dan telah terbukti secara ilmiah bermanfaat bagi kesehatan seperti lemak, protein, vitamin B12 dan isoflavon. Tempe lebih mudah dicerna oleh tubuh dibandingkan kedelai, karena adanya proses fermentasi selama proses pembuatan tempe yang mengakibatkan perubahan kimia maupun

fisik pada biji kedelai. Tempe segar yang disimpan pada suhu ruang dan tidak terkemas dengan baik memiliki masa simpan yang sebentar. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Purwanto dan Weliana (2018), tempe yang disimpan pada suhu ruang sudah mengalami kerusakan pada hari ke-2 penyimpanan yang ditandai dengan penurunan laju konsumsi O<sub>2</sub>. Kapang tempe (*R. oligosporus*) mati pada 2x24 jam dan kemudian akan tumbuh mikroba lain atau bakteri yang dapat merombak protein sehingga menimbulkan bau tidak enak (Muslikhah *et al.*, 2013).

Ciri-ciri tempe yang memiliki kualitas yang baik yaitu permukaan tempe secara merata berwarna putih bersih, memiliki struktur yang homogen dan kompak, dan memiliki rasa, bau dan aroma khas tempe (Winanti *et al.*, 2014). Miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai akibat adanya proses fermentasi menyebabkan tempe berwarna putih. Antar biji-biji kedelai akan saling terhubung oleh miselia-miselia jamur yang tumbuh tersebut sehingga tekstur tempe menjadi homogen dan kompak (Pratiwi, 2018). Syarat mutu tempe kedelai menurut Standar Nasional Indonesia 01-3144-2015 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan		
	Bau	-	Bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak
	Warna	-	Putih merata pada seluruh permukaan
	Tekstur	-	Kompak, jika diiris tetap (tidak mudah rontok)
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		
	Kadmium (Cd)	Mg/kg	Maks. 0,2
	Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks. 0,25
	Timah (Sn)	Mg/kg	Maks. 40
	Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maks. 0,03
7.	Cemaran Arsen	Mg/kg	Maks. 0,25
8.	Cemaran Mikroba		
	<i>Coliform</i>		Maks. 10
	<i>Salmonella sp.</i>	APM/g	Negatif/25 g

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (2015)

Tempe memiliki berbagai macam unsur yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Unsur-unsur yang ada di dalam tempe adalah protein, lemak, hidrat arang, serat, vitamin, enzim, daidzein, genestein, komponen antibakteri dan zat antioksidan yang berkhasiat sebagai obat. Komponen-komponen pada tempe yang berfungsi sebagai obat adalah genestein, daidzein, fitosterol, asam fitat, asam fenolat, lesitin dan inhibitor protease. Komposisi gizi tempe dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi gizi tempe

Komposisi	Tempe
Air (wb)	57,98 - 61,42%
Protein kasar (db)	46,68 - 52,70%
Lemak (db)	28,11 - 33,09%
Karbohidrat (db)	6,57 - 7,12%
Abu (db)	2,01 - 2,47%
Serat kasar (db)	6,21 - 6,77%

Sumber: Astawan dkk. (2013).

### 2.2.1. Protein Tempe

Tempe merupakan salah satu produk pangan yang memiliki kandungan protein tinggi. Dua tipe protein yang terkandung pada tempe glycinin dan  $\beta$  conglycinin. Glycinin berperan sebagai antioksidan, sedangkan  $\beta$ -conglycinin dilaporkan berperan dalam menurunkan akumulasi kolesterol dalam aorta, sehingga dapat mencegah penyakit jantung koroner (Agung, 2013). Kadar protein tempe berkisar 46,68–52,70 % (bk) dan akan mengalami peningkatan apabila dibandingkan kadar protein pada kedelai yang memiliki kandungan protein sebesar 37,10–41,79 % (bk) (Astawan dkk., 2013). Menurut Bavia *et al.* (2012), peningkatan kadar protein pada tempe disebabkan oleh hilangnya beberapa komponen terlarut seperti mineral dan gula dari biji kedelai. Tempe memiliki asam amino esensial yang lengkap yang sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh. Penelitian oleh Utari dkk (2011), menunjukkan bahwa pada 100 g tempe kukus terdapat 15 jenis asam amino dengan kandungan yang bervariasi, terdiri dari asam amino esensial (lysin, methionin, valin, histidin, fenilalanin, arginin, isoleusin, threonin, leusin, dan triptofan) dan asam amino non-esensial (asam glutamate, asam aspartate, alanin, tirosin, glisin,



dan serin). Kandungan asam amino pada 100 gram tempe kukus dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kandungan asam amino pada 100 gram tempe kukus

<b>Parameter</b>	<b>Hasil (%w/w Berat Basah)</b>
Asam Amino	
Arginin	6,58
Asam Glutamat	1,74
Asam Aspartat	1,13
Serin	0,50
Histidin	0,31
Glisin	0,42
Threonin	0,44
Alanin	0,47
Tirosin	0,40
Methionin	0,15
Valin	0,58
Fenilalanin	0,53
Isoleusin	0,51
Leusin	0,76
Lisin	0,95
Triptofan	0,13

Sumber: Utari dkk. (2011)

### 2.2.2. Vitamin Tempe

Menurut Dwinaningsih (2010), kelompok vitamin yang terdapat di dalam tempe terdiri atas dua jenis yaitu yang larut di dalam air (Vitamin B kompleks) dan larut lemak (Vitamin A, D, E dan K). Tempe merupakan salah satu produk pangan potensial yang berperan sebagai sumber vitamin B. Jenis vitamin yang terdapat pada tempe yaitu vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, asam pantotenat, dan asam nikotinat. Vitamin B<sub>12</sub> umumnya hanya dapat dijumpai pada produk-produk hewani dan tidak ada pada produk nabati (sayuran, buah-buahan, dan biji-bijian). Namun nyatanya pada tempe terdapat vitamin B<sub>12</sub> sehingga tempe merupakan satu-satunya sumber vitamin B<sub>12</sub> dari bahan pangan nabati. Tempe memiliki kandungan vitamin B<sub>12</sub> berkisar antara 1,5 µ hingga 6,3µ g per 100g tempe kering. Vitamin B<sub>12</sub> pada tempe diproduksi oleh bakteri yang ikut serta dalam proses fermentasi, seperti pada saat perendaman dan pengupasan kulit (Sine dan Soetarto, 2018). Selama proses fermentasi aktivitas vitamin B<sub>12</sub> meningkat 33 kali, vitamin B<sub>2</sub> sebanyak 8-47 kali,

vitamin B<sub>3</sub> sebanyak 2-5 kali, vitamin B<sub>6</sub> sebanyak 4-14 kali, biotin sebanyak 2-3 kali, asam folat sebanyak 4-5 kali, dan panthotemat sebanyak 2 kali (Agung, 2013).

### 2.2.3. Lemak Tempe

Tempe memiliki kandungan lemak jauh di bawah kandungan lemak hewani. Hal tersebut ditegaskan oleh penelitian yang dilakukan oleh Utari (2010) bahwa tempe hanya mengandung 2,89 g lemak. Asam lemak yang dominan adalah asam linoleat sebesar 50,12 %w/w, disusul asam oleat, asam linolenat dan asam palmitat. Semuanya tergolong asam lemak tidak jenuh rantai panjang, sekitar 80% dari total asam lemak. Asam lemak yang dominan tersebut tergolong esensial yaitu tidak dapat disintesa di dalam tubuh sehingga harus diperoleh dari konsumsi makanan. Asam linoleat (18:2, n-6) bersifat meningkatkan kadar HDL (*high density lipoprotein*) dan menurunkan kadar LDL (*low density lipoprotein*), Jika konsumsi energi dari SAFA (*saturated fatty acid*) diganti oleh asam linoleat, maka secara bermakna akan menurunkan kolesterol darah (Utari, 2010)

Asam linoleat dan asam linolenat akan mengalami elongasi dan desaturasi menjadi rantai yang lebih panjang. Asam linoleat akan dikonversi menjadi asam arakhidonat, sedangkan asam linolenat akan dikonversi menjadi *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexosenoic* (DHA). EPA dan DHA dapat mencegah timbulnya platelet darah. Platelet dalam darah dalam jumlah besar akan mengganggu aliran darah yang merupakan faktor utama penyebab serangan jantung dan stroke. EPA dan DHA juga dapat memperbaiki trigliserida darah pada individu dengan hipertrigliserida (Utari, 2010).

### 2.2.4. Mineral Tempe

Tempe mengandung mineral makro dan mikro dalam jumlah yang cukup. Jumlah mineral besi, tembaga, dan zink berturut-turut adalah 9,39; 2,87; dan 8,05 mg setiap 100 g tempe. Kapang tempe dapat menghasilkan enzim fitase yang akan menguraikan asam fitat (yang mengikat beberapa mineral) menjadi fosfor dan inositol. Akibat terurainya asam fitat, mineral-mineral tertentu (seperti besi, kalsium, magnesium, dan zink) menjadi lebih tersedia untuk dimanfaatkan tubuh.

Kandungan kalsium dan fosfor yang tinggi dalam tempe akan meningkatkan ketersediaan mineral kalsium dan fosfor bagi tubuh dan sangat bermanfaat dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tulang. Tempe juga mengandung mineral seperti Ca dan Fe, tidak mengandung kolesterol dan relatif bebas dari racun kimia (Suhartanti, 2010).

### **2.3. Fermentasi Tempe**

Fermentasi merupakan suatu proses perubahan kimia pada suatu substrat karbohidrat menjadi produk akibat adanya mikroorganisme yang mempunyai aktivitas enzim. Proses fermentasi membutuhkan mikroba sebagai starter untuk kemudian ditumbuhkan pada substrat. Starter merupakan populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi. Fermentasi dapat dilakukan secara spontan dan maupun tidak spontan. Fermentasi spontan merupakan fermentasi tanpa penambahan mikroorganisme dalam bentuk ragi ataupun starter selama proses pembuatan produknya, sedangkan fermentasi tidak spontan ialah fermentasi dengan penambahan ragi ataupun starter selama proses pembuatannya. Mikroorganisme tersebut akan tumbuh dan berkembang sehingga mampu mengubah bahan yang difermentasi menjadi produk yang diinginkan, misalnya dari kedelai menjadi tempe (Suprihatin, 2010).

Proses fermentasi pada kedelai dengan bantuan ragi mampu menghasilkan produk olahan tempe. Mikroorganisme utama yang berperan selama pengolahan tempe adalah spesies kapang *R. oligosporus* (Kustyawati *et al.*, 2016). Namun selain spesies *R. oligosporus*, ada spesies *Rhizopus* lainnya yang terdapat pada tempe antara lain *R. oryzae*, *R. arrhizus*, dan *R. stolonifer* (Rahayu dkk., 2015). Nilai gizi pada kedelai akan meningkat akibat adanya proses fermentasi selama pengolahan tempe yang menyebabkan terjadinya perubahan biokimia. Perubahan tersebut dapat terjadi karena kapang *Rhizopus spp.* mampu memproduksi enzim amilase, lipase dan protease. Enzim-enzim tersebut dapat memecah makronutrien menjadi substansi molekul yang lebih kecil dengan kelarutan yang lebih tinggi sehingga lebih mudah dicerna, diserap dan dimanfaatkan oleh tubuh (Asmoro, 2016).

Proses fermentasi pada tempe terjadi pada proses perendaman dan setelah diinokulasi dengan kapang. Pada proses perendaman terjadi fermentasi asam laktat akibat adanya aktivitas bakteri asam laktat yang mengakibatkan pengasaman kedelai sehingga pH menjadi turun. Fermentasi yang terjadi selama proses perendaman ini penting karena asam yang dihasilkan tersebut berasal dari fermentasi stakiosa dan rafinosa yang merupakan senyawa-senyawa karbohidrat tidak terhidrolisis yang dapat menyebabkan flatulensi. Senyawa-senyawa yang tidak diharapkan ada pada kedelai tersebut akan hilang atau berkurang setelah fermentasi bakteri. Setelah kedelai diinokulasi dengan kapang kemudian diinkubasi akan terjadi pertumbuhan kapang dan mikroorganisme lain yang ada pada kedelai. Hal yang sangat dibutuhkan untuk mempercepat pertumbuhan kapang *Rhizopus* selama proses fermentasi tempe adalah germinasi spora. Proses pembengkakan spora untuk bergerminasi berkorelasi dengan up take glukosa dan peningkatan pH internal dari 5.2 ke 6.2 (Rahayu dkk., 2015).

Selain kapang, khamir juga dapat ikut terlibat dalam fermentasi tempe. Salah satu jenis khamir yang dapat berperan dalam proses fermentasi tempe adalah *S. cerevisiae*. Rizal dkk. (2019) melaporkan bahwa terjadi peningkatan kandungan  $\beta$ -glukan pada tempe yang dihasilkan seiring dengan peningkatan konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* yang ditambahkan. Pada penelitian tersebut, penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 3% memiliki kandungan  $\beta$ -glukan sebesar 0,25%, sedangkan kandungan  $\beta$ -glukan pada penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 1% hanya sebesar 0,181%. Terjadinya peningkatan kadar beta-glukan pada tempe tersebut dapat disebabkan karena sebagian besar dinding sel *S. cerevisiae* terusun atas beta-glukan (Dietrich-Muszalska et al., 2011; Li et al., 2018; Hong et al., 2019). Selain beta-glukan, tempe yang difermentasi dengan penambahan *S. cerevisiae* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Hal ini ditegaskan dalam penelitian yang dilakukan Fatimah (2018) yang melaporkan bahwa tempe yang diinokulasi dengan campuran inokulum *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* memiliki diameter daerah hambat tertinggi terhadap bakteri *E. coli* apabila dibandingkan dengan tempe tanpa penambahan *S. cerevisiae*, yaitu sebesar  $25,98 \pm 0,56$  mm.

#### 2.4. *Rhizopus oligosporus*

Kapang *R. oligosporus* merupakan kapang yang berperan penting dalam industri makanan salah satunya tempe dikarenakan mampu menghasilkan berbagai macam enzim seperti amilase, protease, pektinase dan lipase. *R. oligosporus* mempunyai koloni abu-abu kecoklatan dengan tinggi 1 mm atau lebih. Sporangiofor tunggal atau dalam kelompok dengan dinding halus atau agak sedikit kasar, dengan panjang lebih dari 1000  $\mu\text{m}$  dan diameter 10-18  $\mu\text{m}$ . Ukuran sporangiospora tidak teratur dapat globosa atau elip dengan panjang 7-10  $\mu\text{m}$ . Klamidospora banyak, tunggal atau rangkaian pendek, tidak berwarna, dengan berisi granula, terbentuk pada hifa, sporangiofor dan sporangia. Bentuk klamidospora globosa, elip atau silindris dengan ukuran 7-30  $\mu\text{m}$  atau 12-45  $\mu\text{m}$  x 7-35  $\mu\text{m}$ . Kapang *R. oligosporus* memiliki suhu optimum berkisar antara 30-35°C, suhu minimum sebesar 12°C dan suhu maksimum pada 42°C (Wipradnyadewi dkk., 2010).

Beberapa sifat penting dari *R. oligosporus* antara lain meliputi aktivitas enzimatiknya, kemampuan menghasilkan antibiotika, biosintesa vitamin-vitamin B, kebutuhannya akan senyawa sumber karbon dan nitrogen, perkecambahan spora, dan penetrasi miselia jamur tempe ke dalam jaringan biji kedelai. Selama proses fermentasi pada kedelai, *Rhizopus oligosporus* tidak menggunakan karbohidrat dari biji kedelai tetapi menggunakan sumber karbon dari glukosa dan mempunyai aktivitas enzim lipase yang tinggi sehingga dapat mendegradasi lemak biji kedelai menjadi asam lemak yang digunakan sebagai sumber energi. Selain itu, *Rhizopus oligosporus* juga dapat mensintesis komponen antioksidan serta menghasilkan aroma yang spesifik (Sine dan Soetarto, 2018).

*Rhizopus sp.* dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri terhadap beberapa bakteri gram positif. Ekstrak tempe 1% dalam media BHI diantaranya dapat menghambat pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria innocua* dan *Listeria monocytogenes*, namun tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *E. coli* dan *Salmonella enteritidis*. Namun pada penelitian-penelitian dengan perlakuan yang berbeda dapat menunjukkan aktivitas antibakteri

berspektrum luas pada bakteri Gram positif dan Gram negatif *B. cereus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris*, *S. aureus* dan *Salmonella typhi* (Roubous *et al.*, 2010).

## 2.5. *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces* merupakan jenis khamir atau ragi atau yeast yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi etanol dan CO<sub>2</sub>. *Sacharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu, tidak berklorofil, dan termasuk golongan eumycete, tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,5-5. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber karbon, unsur N, unsur ammonium dan pepton, unsur mineral dan vitamin. Sel khamir terdiri dari kapsul, dinding sel, membran sitoplasma, nucleus, vakuola, globula lipid dan mitokondria. Khamir ini berbentuk oval (bulat telur) dengan ukuran sekitar 1-5 µm atau 20-25 µm dengan lebar sekitar 1-10 µm. Koloninya berbentuk rata, lembab, mengkilap dan halus (Agustining, 2012).

Khamir *S. cerevisiae* merupakan galur potensial penghasil β-glukan, karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas β-glukan. β-Glukan merupakan homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan β-(1,3) dan β-(1,6)-glukosida. β-glukan sel ragi khas terdiri dari ~ 30-45% β-1,3-glukan dan ~ 5-10% dari β-1,6-glukan (Pengkumsri *et al.*, 2017). β-1,3-D-glukan berperan dalam pemeliharaan bentuk dinding sel ragi dan kekakuan, sedangkan β-1,6-D-glukan sebagai polisakarida yang menghubungkan bersama semua polisakarida dinding sel. β-glukan dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Aimaniada *et al.*, 2009).

Khamir *S. cerevisiae* yang ditambahkan sebagai campuran inokulum dalam pembuatan tempe kedelai dapat menambah kandungan gizi tempe yang dihasilkan. Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Rizal dkk. (2018) menunjukkan bahwa tempe yang difermentasi dengan penambahan ragi khamir komersial sebesar 3% mengandung β-glukan sebanyak 0,076%. Tempe dengan penambahan yeast juga memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi (Kustyawati, 2009), yang berfungsi sebagai antioksidan, antihemolisis, antivirus, antikanker dan antimikroba (Bavia *et al.*, 2012).

### **III. METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan Februari 2021 sampai Juni 2021.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ragi tempe dengan merk dagang Raprima, kultur murni *R. oligosporus* FNCC 6010 dan *S. cerevisiae* FNCC 3012 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta, kacang kedelai jenis impor dengan merk dagang Soybean USA no. 1 yang diperoleh dari Gunung Sulah di Bandar Lampung, Malt Extract Agar (MEA), Potato Dextrose Agar (PDA), larutan fisiologis, K<sub>2</sub>S atau Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, CuSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, batu didih, aquades, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, indikator PP, dan heksana.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu labu Erlenmeyer, spatula atau sudip, batang pengaduk, autoklaf, cawan petri, inkubator, batang drygalski, centrifuge, tabung centrifuge, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, haemocytometer, vortex, mikroskop, kompor, baskom, loyang, neraca analitik, panci, plastic, tampah, saringan bambu, timbangan analitik, buret, labu Kjeldahl, alat destilasi, beaker glass, alat Soxhlet lengkap, cawan porselin, oven, tanur.

### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) faktorial dengan 2 kali ulangan. Faktor pertama berupa jenis inokulum tempe (T) dengan 4 taraf yaitu kedelai yang direbus 30 menit + ragi komersil (T1), kedelai yang direbus 30 menit + *R. oligosporus* (T2), kedelai yang direbus 30 menit + *S. cerevisiae* (T3), kedelai yang direbus 30 menit + *R. oligosporus* + *S. cerevisiae* (T4). Faktor kedua adalah lama fermentasi dengan 4 taraf, yaitu 0 jam (F1), 15 jam (F2), 30 jam (F3), dan 45 jam (F4). Berdasarkan kedua faktor tersebut diperoleh kombinasi perlakuan yang dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kombinasi perlakuan jenis inokulum tempe dan lama fermentasi

T \ F	F	F1	F2	F3	F4
T1		T1F1	T1F2	T1F3	T1F4
T2		T2F1	T2F2	T2F3	T2F4
T3		T3F1	T3F2	T3F3	T3F4
T4		T4F1	T4F2	T4F3	T4F4

Keterangan:

- T1F1 : kedelai yang direbus 30 menit + ragi komersil, difermentasi 0 jam
- T1F2 : kedelai yang direbus 30 menit + ragi komersil, difermentasi 15 jam
- T1F3 : kedelai yang direbus 30 menit + ragi komersil, difermentasi 30 jam
- T1F4 : kedelai yang direbus 30 menit + ragi komersil, difermentasi 45 jam
- T2F1 : kedelai yang direbus 30 menit + *R. oligosporus*, difermentasi 0 jam
- T2F2 : kedelai yang direbus 30 menit + *R. oligosporus*, difermentasi 15 jam
- T2F3 : kedelai yang direbus 30 menit + *R. oligosporus*, difermentasi 30 jam
- T2F4 : kedelai yang direbus 30 menit + *R. oligosporus*, difermentasi 45 jam
- T3F1 : kedelai yang direbus 30 menit + *S. cerevisiae*, difermentasi 0 jam
- T3F2 : kedelai yang direbus 30 menit + *S. cerevisiae*, difermentasi 15 jam
- T3F3 : kedelai yang direbus 30 menit + *S. cerevisiae*, difermentasi 30 jam
- T3F4 : kedelai yang direbus 30 menit + *S. cerevisiae*, difermentasi 45 jam
- T4F1 : kedelai yang direbus 30 menit + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 0 jam
- T4F2 : kedelai yang direbus 30 menit + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 15 jam
- T4F3 : kedelai yang direbus 30 menit + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 30 jam
- T4F4 : kedelai yang direbus 30 menit + campuran *R. oligosporus* + *S. cerevisiae*, difermentasi 45 jam



Parameter yang diamati yaitu kadar lemak, kadar protein, kadar air, kadar abu, dan kadar karbohidrat. Data yang diperoleh diuji kesamaan ragamnya dengan uji Barlett dan dilakukan uji kemenambahan data menggunakan uji Tuckey. Data kemudian dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Data diuji lanjut menggunakan uji Polinomial Ortogonal - Kontras Ortogonal pada taraf 5%.

### **3.4. Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1. Pembuatan Biakan *Saccharomyces cerevisiae***

##### **1. Pembuatan Media MEA (Malt Extract Agar)**

Sebanyak 24 g media Malt Extract Agar dilarutkan di dalam erlenmeyer dengan menggunakan aquadest sebanyak 500 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hotplate sampai media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan petri sebanyak 20-25 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

##### **2. Pembuatan Larutan Fisiologis**

Sebanyak 0,85 gram NaCl dilarutkan pada Erlenmeyer dengan menggunakan aquadest sampai mencapai 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0,85%. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 mL. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, larutan fisiologis siap untuk digunakan.

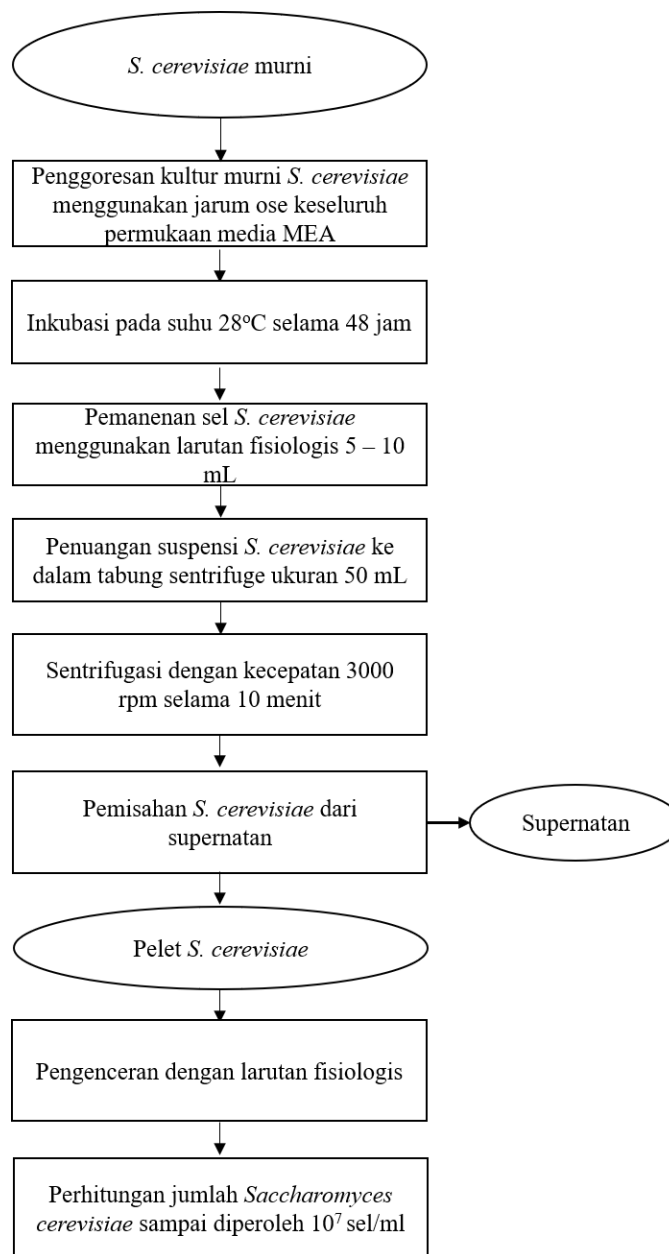
##### **3. Pemiakan *Saccharomyces cerevisiae***

Khamir *S. cerevisiae* dari bentuk agar miring dibiakkan ke dalam media Malt Extract Agar (MEA) menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi, selanjutnya diinokulasi dengan metode cawan gores. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 32°C sehingga diperoleh *S. cerevisiae* murni dalam bentuk koloni. Koloni yang telah tumbuh dilakukan pemanenan dengan menambahkan larutan fisiologis sebanyak 5-10 mL dan dilakukan pengambilan secara perlahan

menggunakan batang drygalski. Suspensi *S. cerevisiae* yang telah dipanen, dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge ukuran 50 mL. Tabung sentrifuge selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan kultur murni dan supernatan. Supernatan pada tabung sentrifuge dibuang dan didapatkan pelet kultur murni *S. cerevisiae*. Selanjutnya pelet murni *S. cerevisiae* diencerkan pada tabung reaksi dengan menggunakan larutan fisiologis. Jumlah sel *S. cerevisiae* dihitung menggunakan haemocytometer sampai diperoleh *S. cerevisiae* berjumlah  $10^7$  sel/ml. Diagram alir persiapan inokulum *S. cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 1.

#### 4. Perhitungan Jumlah Sel dengan Haemocytometer

Petroff-Hauser Counting Chamber atau Haemocytometer dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70 % lalu dikeringkan dengan tissue. Letakkan cover glass di atas counting chamber. Suspensi mikroba yang telah diencerkan dengan larutan fisiologis diteteskan sebanyak  $\pm 50 \mu\text{l}$  (kira-kira 1 tetes) pada parit kaca yang terdapat pada bilik hitung. Suspensi sel akan menyebar dengan sendirinya memenuhi bilik hitung dan pastikan ruangan penuh terisi dengan suspensi. Biarkan sejenak sehingga sel diam di tempat (tidak terkena aliran air dari efek kapilaritas). Selanjutnya, dihitung jumlah sel menggunakan mikroskop dengan perbesaran 4x terlebih dahulu. Apabila dengan perbesaran 4x selnya belum terlihat jelas, perbesaran dapat dilakukan dengan perbesaran 10-40x.



Gambar 1. Diagram alir persiapan inokulum *S. cerevisiae* (Sumber : Zahrah, (2019)).

### 3.4.2. Pembuatan Biakan *Rhizopus oligosporus*

#### 1. Pembuatan Media PDA (Potato Dextrose Agar)

Sebanyak 19,5 g media PDA dilarutkan pada labu erlenmeyer dengan menggunakan aquadest sebanyak 500 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hot plate sampai media terhomogenisasi sempurna.

Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan petri sebanyak 20-25 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

## 2. Pembuatan Larutan Fisiologis

Sebanyak 0,85 gram NaCl dilarutkan pada Erlenmeyer dengan menggunakan aquadest sampai mencapai 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0,85%. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 mL. Larutan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, larutan fisiologis siap untuk digunakan.

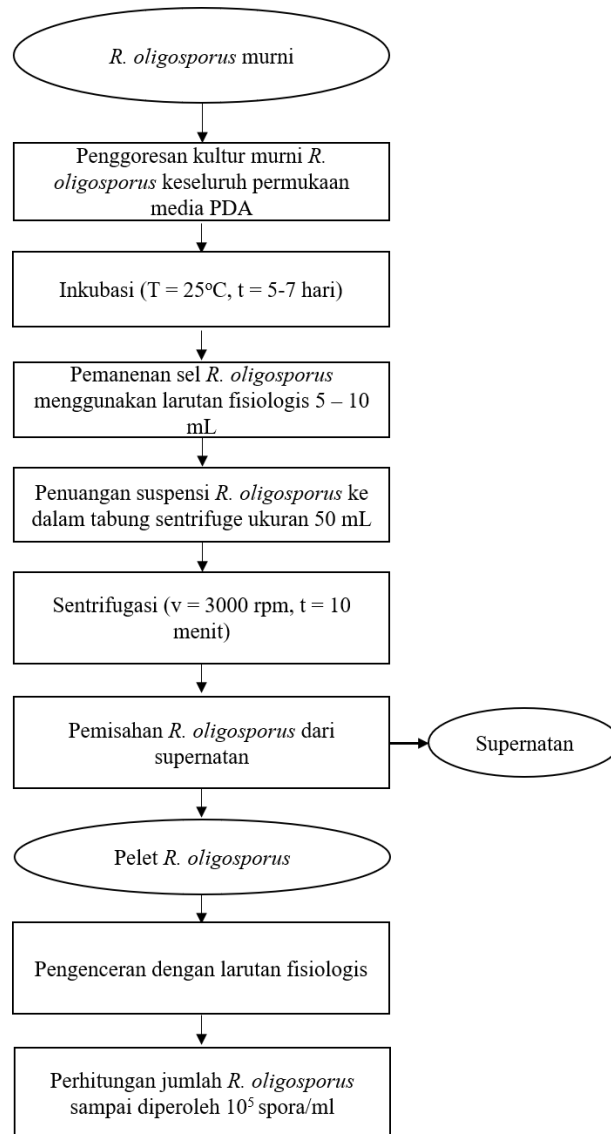
## 3. Pemiakan *Rhizopus oligosporus*

Kapang *R. oligosporus* dari agar miring dibiakkan ke dalam media Potato Dextrose Agar (PDA) pada cawan petri, kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 25°C sehingga diperoleh *R. oligosporus* dalam bentuk koloni. Koloni-koloni *R. oligosporus* tersebut dipanen menggunakan batang pengaduk segitiga dengan menambahkan larutan fisiologis sebanyak 5-10 mL. Selanjutnya, spora *R. oligosporus* dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan pada tabung sentrifuge dibuang dan didapatkan pelet kultur murni *R. oligosporus*. Selanjutnya pelet murni *R. oligosporus* diencerkan dengan larutan fisiologis. Jumlah spora *R. oligosporus* dihitung dengan menggunakan haemocytometer sampai diperoleh spora *R. oligosporus* berjumlah  $10^5$  spora/ml. Tahapan persiapan inokulum *R. oligosporus* dapat dilihat pada Gambar 2.

## 4. Perhitungan Jumlah Sel dengan Haemocytometer

Petroff-Hauser Counting Chamber atau Haemocytometer dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70 % lalu dikeringkan dengan tissue. Letakkan cover glass di atas counting chamber. Suspensi mikroba yang telah diencerkan dengan larutan fisiologis diteteskan sebanyak  $\pm 50 \mu\text{l}$  (kira-kira 1 tetes) pada parit kaca yang terdapat pada bilik hitung. Suspensi sel akan menyebar dengan sendirinya

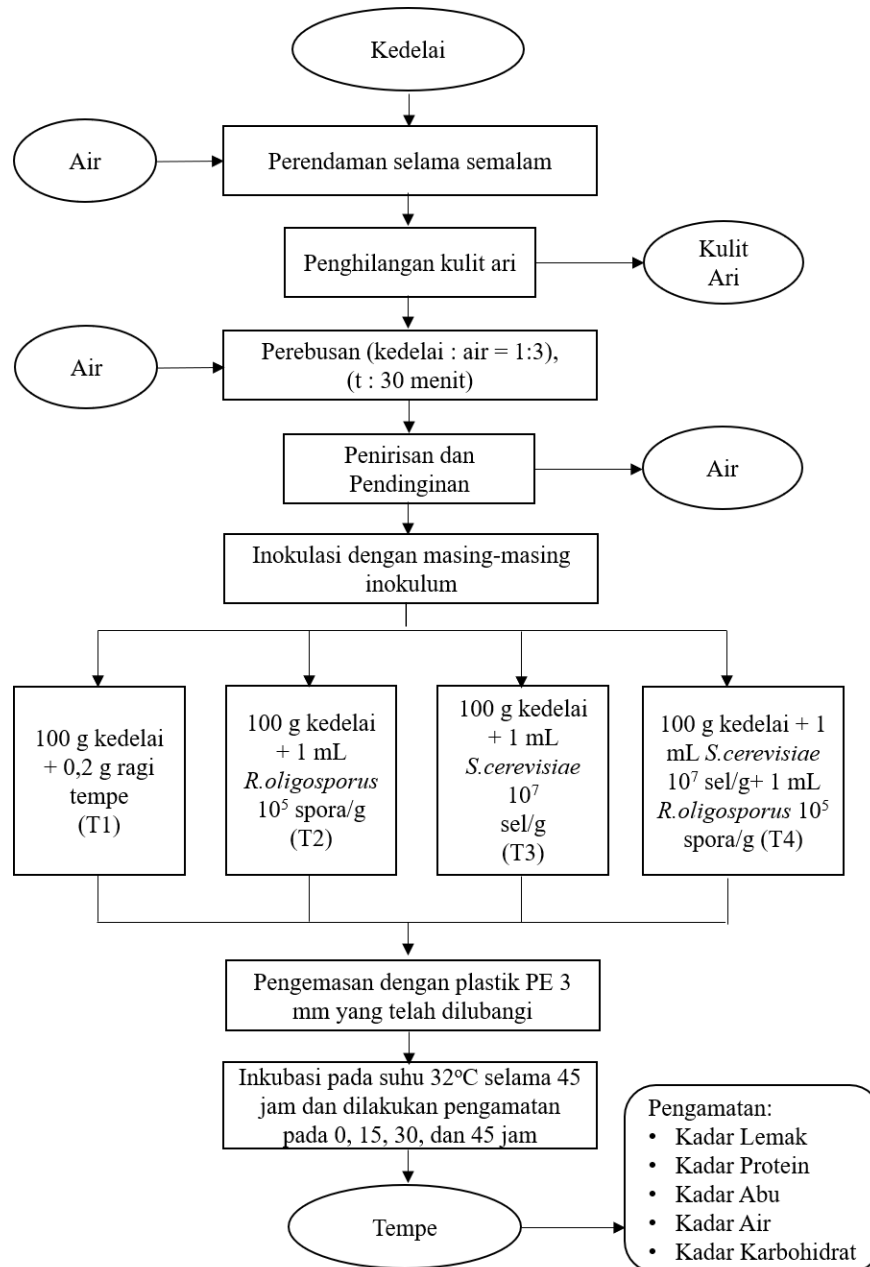
memenuhi bilik hitung dan pastikan ruangan penuh terisi dengan suspensi. Biarkan sejenak sehingga sel diam di tempat (tidak terkena aliran air dari efek kapilaritas). Selanjutnya, dihitung jumlah sel menggunakan mikroskop dengan perbesaran 4x terlebih dahulu. Apabila dengan perbesaran 4x selnya belum terlihat jelas, perbesaran dapat dilakukan dengan perbesaran 10-40x.



Gambar 2. Diagram alir persiapan inokulum *R. oligosporus* (Sumber: Fatimah, (2018)).

### **3.4.3. Pembuatan Tempe**

Proses pembuatan tempe mengikuti prosedur Kustyawati (2009). Sebanyak 500 g kedelai direndam dalam air bersih pada suhu ruang selama semalam lalu dihilangkan kulit arinya secara manual. Selanjutnya kedelai direbus menggunakan air bersih dengan perbandingan 1 : 3 (kedelai : air) selama 30 menit, ditiriskan lalu diangin-anginkan sampai suhu kedelai mencapai suhu ruang. Tahap peragian dilakukan dengan cara mencampurkan setiap 100 g kedelai rebus dengan inokulum tempe sesuai perlakuan. Setelah tercampur rata, dikemas dalam kemasan plastik PE (polietilen) dengan ketebalan 3 mm yang telah dilubangi secara teratur untuk tujuan aerasi dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 45 jam dengan dilakukan pengamatan pada 0, 15, 30, dan 45 jam. Diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. Diagram alir pembuatan tempe kedelai (Sumber: Kustyawati (2009) yang telah dimodifikasi).

### 3.5. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap masing-masing perlakuan tersebut berupa kadar lemak, kadar protein, kadar abu, kadar air, dan kadar karbohidrat.

### 3.5.1. Kadar Lemak

Pengujian kadar lemak masing-masing sampel tempe dilakukan menggunakan metode ekstraksi Soxhlet (AOAC, 2016). Prosedur analisis kadar lemak yaitu labu lemak yang akan digunakan dioven selama 30 menit pada suhu 100–105°C. Labu lemak didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 2 gram (B) kemudian dibungkus dengan kertas saring, lalu ditutup dengan kapas bebas lemak dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi sokhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak. Pelarut heksan atau pelarut lemak lain dituangkan sampai sampel terendam dan diekstraksi lemak selama 5–6 jam atau sampai pelarut lemak yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut lemak yang telah digunakan disuling dan ditampung. Ekstrak lemak yang ada dalam labu lemak dikeringkan dalam oven bersuhu 100–105°C selama 1 jam. Labu lemak didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap pengeringan labu lemak diulangi hingga diperoleh bobot yang konstan. Berat lemak dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

A : berat labu alas bulat kosong (gram)

B : berat sampel (gram)

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

### 3.5.2. Kadar Protein

Pengujian kadar protein pada masing-masing sampel tempe dilakukan menggunakan metode Gunning (Sudarmadji dkk., 2010). Prosedur pengujian kadar protein yaitu sampel sebanyak 0,5 - 1 gram yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 ml. Selanjutnya sampel tersebut ditambahkan 10 g K<sub>2</sub>S atau Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, 15-25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1 – 0,3 gram CuSO<sub>4</sub> dan kemudian dilakukan destruksi di atas pemanas listrik dalam lemari asam. Proses destruksi diakhiri setelah cairan menjadi jernih. Langkah berikutnya yaitu campuran



dibiarkan dingin lalu ditambahkan aquades sebanyak 200 mL serta NaOH 45% sampai campuran bersifat basa. Sampel segera didestilasi sampai ammonia menguap semua. Kemudian hasil destilasi ditampung pada labu Erlenmeyer yang berisi 100 mL HCl 0,1 N yang sudah diberi indikator PP (Phenolptalein) 1% beberapa tetes. Destilasi diakhiri setelah hasil destilasi tertampung sebanyak 150 mL atau setelah hasil destilasi yang keluar tidak bersifat basa. Destilat yang diperoleh dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N. Kadar protein yang terkandung pada sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

Keterangan:

VA : mL NaOH untuk titrasi sampel

VB : mL NaOH untuk titrasi blanko

$$\text{Kadar Protein} = \frac{(VB-VA)_{NaOH} \times N_{NaOH} \times 14,008 \times 5,75}{W} \times 100\%$$

N : normalitas NaOH standar yang digunakan 14,008

5,75 : faktor konversi kedelai

W : berat sampel (mg)

### 3.5.3. Kadar Abu

Pengujian kadar abu tempe dilakukan dengan metode gravimetri (AOAC, 2016). Cawan porselen yang akan digunakan dikeringkan pada oven 100-105°C kurang lebih 1 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang (A). Sampel sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam cawan porselen (B). Selanjutnya sampel dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap lagi, kemudian dimasukkan ke dalam tanur listrik. Pengabuan dilakukan pada suhu maksimum 550°C selama 3 jam atau sampai terbentuk abu berwarna putih. Sampel kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit, setelah dingin ditimbang (C). Pengeringan dilakukan secara berulang hingga diperoleh berat konstan. Perhitungan kadar abu dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan :

A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan + sampel awal (g)

C = Berat cawan + sampel kering (g)

#### 3.5.4. 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 dimasukkan 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 contoh 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)

#### 3.5.5. Kadar Karbohidrat

Penetapan total karbohidrat dilakukan dengan metode by different (Andarwulan dkk., 2011). Metode by different dengan prinsip pengurangan angka 100 dengan

persentase komponen lain (air, abu, lemak dan protein). Analisis total karbohidrat dihitung setelah diketahui total kadar air, kadar abu, kadar lemak dan kadar protein dengan rumus berikut:

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

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Penggunaan jenis inokulum terbaik yaitu terdapat pada perlakuan campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* (T4).
2. Lama fermentasi terbaik pada pembuatan tempe yaitu terdapat pada perlakuan lama fermentasi 30 jam (F3).
3. Interaksi terbaik dari jenis inokulum dan lama fermentasi terdapat pada perlakuan penambahan campuran *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* dan lama fermentasi 30 jam (T4F3) dengan diperoleh nilai komposisi gizi berupa kadar protein sebesar 16,7%, kadar lemak 8,93%, kadar air 64,44%, kadar abu 1,21%, dan kadar karbohidrat 8,73%.

### 5.2. Saran

Saran yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan tempe dengan menggunakan campuran inokulum *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae* serta lama fermentasi 30 jam dapat dipertimbangkan untuk produksi tempe komersil.
2. Selama proses penirisan dan pendinginan kedelai saat pembuatan tempe harus dipastikan kedelai sudah kering sebelum diinokulasi sehingga kadar air tempe yang dihasilkan tidak terlalu tinggi

## DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T. 2013. Kedelai Tropika Produktivitas 3 Ton/Ha. Penebar Swadaya. Jakarta. 92 Hal.
- Affandi, D.R., Handjani, S., dan Utami, R. 2010. Kajian Kandungan Protein, Senyawa Antinutrisi, Aktivitas Antioksidan, dan Sifat Sensoris Tempe Koro Babi (*Vicia faba* L.) dengan Variasi Pengecilan Ukuran. Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. 3(2): 77-88.
- Agung. I. G. A. 2013. Suplementasi Kombinasi Tempe M-2 dengan Wortel Meningkatkan HDL dan Antioksidan Total, serta Menurunkan LD L, F2Isoprostan dan IL-6 pada Wistar Aterosklerosis. (Disertasi). Universitas Udayana. Denpasar. Hal 53-58.
- Agustining, D. 2012. Daya Hambat *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum*. Skripsi. Universitas Jember. Hal 21-28.
- Aimaniada, V., Clavaud, C., Simenel, C., Fontaine, T., Delepierre, M., and Latage, J. P. 2009. Cell wall (1→6)-β-D-glucan of *Saccharomyces cerevisiae* – Structural Characterization and In Situ Synthesis. The Journal of Biological Chemistry. 284: 13401-13412.
- Andarwulan, N., Kusnandar, F. dan Herawati. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat. Jakarta. 442 Hal.
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists 20th edition. Benjamin Franklin Station. Washington DC.
- Asmoro, N. W. 2016. Pengaruh Jenis Inokulum Terhadap Kandungan Asam Folat pada Fermentasi Tempe Kedelai Hitam Varietas Mallika. Jurnal Ilmiah Teknosains. 2(1): 66-72.
- Astawan, M., Wresdiyati, T., Widowati, S., Bintari, S. H., dan Ichsani, N. 2013. Karakteristik Fisikokimia dan Sifat Fungsional Tempe yang dihasilkan dari Berbagai Varietas Kedelai. Jurnal Pangan. 22(3): 241-252.

- Badan Standar Nasional (BSN). 2015. SNI 3144:2015.Tempe Kedelai. BSN. Jakarta. Hal 2.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2012. Tempe : Persembahan Indonesia untuk Dunia. www.bsn.go.id. Diakses 7 Desember 2020. Hal 5.
- Bavia, A. C. F., Silva, C. E., Ferreira, M. P., Leite, R. S., Mandarino, J. M. G., and Panizzi, M. C. C.. 2012. Chemical Composition of Tempeh from Soybean Cultivars Cpecially Developed for Human Consumption. *Ciencia Tecnologia de Alimentos, Campinas*. 32(3): 613-620. ISSN 0101-2061.
- Damanik, R. N. S., Pratiwi, D. Y. W., Widyastuti, N., Anjani, G., and Afifah, D. N. 2018. Nutritional Composition Changes During Tempeh Gembus Processing. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 116 (2018) 012026. doi :10.1088/1755-1315/116/1/012026.
- Dietrich-Muszalska, -A., Olas, -B., Kontek, -B., Rabe-Jablonska, -J., 2011. Beta-Glucan from *Saccharomyces cerevisiae* Reduces Plasma Lipid Peroxidation Induced by Haloperidol. *International Journal of Biological Macromolecules*. 49: 113-116.
- Dewi, I. W. R., Anam, C., dan Widowati, E. 2014. Karakteristik Sensoris, Nilai Gizi dan Aktivitas Antioksidan Tempe Kacang Gude (*Cajanus cajan*) dan Tempe Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan Berbagai Variasi Waktu Fermentasi. *Biofarmasi*. 12(2): 73-82.
- Dewi, S. P., Ridla, M., dan Jayanegara, A. 2015. Fraksinasi dan Utilisasi Protein Sejumlah Kacang-Kacangan Lokal Menggunakan Metode In Vitro. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil PPM IPB*. 1: 1-14.
- Dwinaningsih, E.A. 2010. Karakteristik Kimia dan Sensori Tempe dengan Variasi Bahan Baku Kedelai/Beras dan Penambahan Angkak serta Variasi Lama Fermentasi. *Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta*. Hal 33-40.
- Efriwati, A. Suwanto, G. Rahayu, dan L. Nuraida. 2013. Populations Dynamic of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB ) during Tempeh Production. *Hayati Journal of Biosciences* 20(2) : 57-64. DOI: 10.4308/hjb.20.2.57.
- Fakruddin, Hossain, N., and Ahmed, M. M.. 2017. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a Potential Probiotic. *BMC Complemet Alten Med*. 17:64.
- Fatimah. 2018. Pola Pertumbuhan Khamir dan Aktivitas Antibakteri pada Tempe dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 26-27.

- Febriani, N. L. C., Suparhana, I. P., dan Wiadnyani, A. A. I. S. 2019. Pengaruh Lama Fermentasi Kacang Gude (*Cajanus cajan* L.) terhadap Karakteristik “Sere Undis”. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8(2): 181-188.
- Hasanah, Y., Nisa, T.C., Armidin, H., and Hanum, H. 2015. Isoflavone Content Of Soybean (*Glycine Max* L.Merr.) Cultivar with Different Nitrogen Sources and Growing Season Under Dry Land Condition. *Journal of Agriculture and Environment for International Development*. 109(1): 5-17.
- Hatijah, Nahariah, N., Fattah, H., dan Hikmah, H. 2018. Evaluasi Karakteristik Fisikokimia Telur Infertil Sisa Hasil Penetasan yang di Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada Level yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan*. 6(2): 81-87.
- Hong, J, -Y., Son, S, -H., Hong, S, -P., Yi, S,H., Kang, S, -H., Lee, N, K., Paik, H, D., 2019. Production of B-Glucan, Glutathione, and Glutathione Derivatives by Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* Isolated From Cucumber Jangajji. *LWT*. 100: 114-118.
- Jayanti, E.T. 2019. Kandungan Protein Biji dan Tempe Berbahan Dasar Kacang-Kacangan Lokal (*Fabaceae*) Non Kedelai (Seeds and Tempeh Protein Content from Non Soybean Fabaceae). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*. 7(1): 79-86.
- Jung, G. H., Lee, J. E., Kim, Y. H., Kim, D. W., Hwang, T. Y., Lee, K. S., Lee, B. M., Kim, H. S., Kwon, Y.U., Kim, S. L. 2012. Effect of Planting Date, Temperature on Plant Growth, Isoflavone Content, and Fatty Acid Composition of Soybean. *Korean J Crop Sci*. 57: 373-383.
- Kang, X., Zhang, Q., Wang, S., Huang, X., and Jin, S. 2010. Effect of Soy Isoflavones on Breast Cancerrecurrence And Death For Patients Receiving Adjuvantendocrine Therapy. *Canadian Medical Assosiation Journal*. 182 (17): 1857-1862.
- Kole, L., Gin, B., Manna, S. K., Pali, B., and Ghosh, S. 2011. Biochanin-A, An Isoflavon, Showed Anti-Proliferativeand Anti-Inflammatory Activities Through The Inhibitionof Inos Expression, P38-MAPK and ATF-2 phosphorylation and Blocking Nfêb Nucleartranslocation. *European Journal of Pharmacology*. 653(1): 8-15.
- Kustyawati, M, E., 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. *Agritech*. 29(2): 64-70.
- Kustyawati, M. E. 2018. *Saccharomyces cerevisiae*: Metabolit dan Agensia Modifikasi Pangan. *Graha Ilmu*. Yogyakarta. 140 hlm.

- Kustyawati, M. E., Nawansih, O., dan Nurdjannah, S. 2016. 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*. 33(3): 281-287.
- Kustyawati, M.E. and Pujiastuti, P. 2018. Who Produces Vitamin B<sub>12</sub> In Tempeh. *International Conference on Green Agro-Industry and Bioeconomy*. Malang. Hal 1-4.
- Laksono, A. S., Marniza, dan Rosalina, Y. 2019. Karakteristik Mutu Tempe Kedelai Lokal Varietas Anjasmoro dengan Variasi Lama Perebusan dan Penggunaan Jenis Pengemas. *Jurnal Agroindustri*. 9(1): 8-18.
- Lelatobur, L.E., dan L. Dewi. 2016. Optimasi Perebusan Biji Ketapang (*Terminalia cattapa*) dalam Fermentasi Tempe. Skripsi. Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga. Hal 157.
- Li, -F., Wang, -Z., Liu, -J., Li, -W., 2018. Radio Protective Effect of Orally Administered Beta-D-Glucan Derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 115: 572-579.
- Mahoney, S., Arfuso, F., Rogers, P., Hisheh, S., Brown, D., Millward, M., and Dharmarajan, A. 2012. Cytotoxic effects of The Novel Isoflavone, Phenoxodiol, On prostate Cancer Cell Lines. *J. Biosci*. 37(1): 1–12.
- Malianti, L., Sulistiyowati, E., dan Fenita, Y. 2019. Profil Asam Amino dan Nutrien Limbah Biji Durian (*Durio zibethinus* Murr) yang difermentasi dengan Ragi Tape (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Ragi Tempe (*Rhizopus oligosporus*). *Jurnal Penelitian Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. 8(1): 59-66.
- Matthaus, B. and Özcan, M. M.. 2014. Fatty Acid and Tocopherol Contents Of Several Soybean Oils. *Nat ProdRes*. 28(8): 589-592.
- Mujić, I., Šertović, E., Jokić, S., Sariać, Z., Alibabić, V., Vidović, S., and Živković, J. 2011. Isoflavone Content and Antioxidant Properties of Soybean Seeds. *Croat.J. Food Sci. Technol*. 3(1): 16-20.
- Murni, I., Reftina, E., Puji, A., Harti, A., Estuningsih, dan Kusumawati, H. N. 2013. Pemanfaatan Bakteri Asam laktat dalam Proses Pembuatan Tahu dan Tempe untuk Peningkatan Kadar Isoflavon, Asam Linoleat dan Asam Linolenat. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*. 4(2): 89-95.
- Muslikhah, S., Choirul, A., Martina, A. 2013. Penyimpanan Tempe dengan Metode Modifikasi Atmosfer (Modified Atmosphere) untuk



- Mempertahankan Kualitas dan Daya Simpan. *Jurnal Teknologi Sains Pangan*. 2(3): 51-60.
- Narsih, Agito, dan Sesario, R. 2018. Penurunan Senyawa Antinutrisi pada Biji Jagung dengan Berbagai Metoda. *Jurnal Teknologi Pangan*. 9(1): 45-50.
- Pengkumsri, N., Sivamaruthi, B.S., Sirilun, S., Peerajan, S., Kesika, P., Chaiyasut, K., and Chaiyasut, C. T. 2017. Extraction of B-Glucan From *Saccharomyces cerevisiae*: Comparison of Different Extraction Methods and In Vivo Assessment of Immunomodulatory Effect in Mice. *Journal of Food Sci. Technol, Campinas*. 37(1): 124-130. ISSN 0101-2061.
- Pratiwi, L. D. 2018. Kajian Kinetika Pertumbuhan Mikroorganismen dan Kandungan  $\beta$ -Glukan Selama Fermentasi Tempe dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 12.
- Purwanto, Y. A. dan Weliana. 2018. Kualitas Tempe Kedelai pada Berbagai Suhu Penyimpanan. *Journal of Agro-based Industry*. 35(2): 106-112.
- Qomariyah, N. dan Utomo, D. 2016. Pengaruh Penambahan Biji Lamtoro Gung (*Leucaena leucophala*) pada Proses Fermentasi Tempe. *Jurnal Teknologi Pangan*. 7(1): 46-56.
- Radiati A, dan Sumarto. 2016. Analisis Sifat Fisik, Sifat Organoleptik, dan Kandungan Gizi pada Produk Tempe dari Kacang Non-Kedelai. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 5(1): 16-22.
- Raharjo, D. S., Bhuja, P., dan Amalo, D. 2019. The Effect of Fermentation on Protein Content and Fat Content of Tempeh Gude (*Cajanus cajan*). *Jurnal Biotropikal Sains*. 16(3): 55-63.
- Rahayu, W. P., Pambayun, R., Santoso, U., Nuraida, L., dan Ardiansyah. 2015. Tinjauan Ilmiah Teknologi Pengolahan Tempe Kedelai. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI). <http://patpi.or.id>. Diakses pada 09 Desember 2020 pukul 19.42 WIB.
- Rizal, S. dan Kustyawati, M. E. 2019. Karakteristik Organoleptik dan Kandungan Beta-Glukan Tempe Kedelai dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2(20) : 127-138.
- Rizal, S., Kustyawati, M. E., Murhadi, Hasanudin, U., dan Marniza. 2018. Pengaruh Konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Kadar Abu, Kadar Protein, Kadar Lemak dan Kandungan Beta-Glukan Tempe. Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis UNS Ke 42 Tahun 2018. 2(1).
- Roubous-van de Hil, P. J., Dalmas, E., Nout, M. J. R., and Abee, T. 2010. Soya bean tempe extract show antibacterial activity against *Bacillus cereus* cells and spore. *Journal of Applied Microbiology*. 109: 137-145.

- Sari, A. M., Artini, D. A., Ishartani, D., Nursiwi, A., and Zaman, M. D. 2021. The Changes in The Chemical and Microbiological Characteristics of Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Tempe from Pacitan with Usar Inoculum during Continued Fermentation. *Food Research* 5 (Suppl. 2). 45 -50.
- Sari, K. P., Jamaluddin, P., dan Sukainah, A. 2018. Fortifikasi Tempe Berbahan Dasar Kedelai dan Biji Nangka. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. 2(2016): 16-26.
- Sawitri, A. dan Santoso, H. 2014. Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Protein Tempe Biji Durian (*Durio zibethinus*) sebagai Sumber Belajar Biologi SMA Kelas XII pada Materi Bioteknologi Pangan. *Jurnal Pendidikan Biologi*. 5(2).
- Seredynski, R., Wolna, D., Kedzior, M., and Gutowicz, J. 2016. Different Patterns of Extracellular Proteolytic Activity in W303a and BY4742 *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Journal of Basic Microbiology*. 56: 1-7.
- 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.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 2010. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian Edisi Keempat*. Liberty. Yogyakarta. Hal 69.
- Suhartanti, P. D. 2010. Karakteristik Fisik Biji Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max*) dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Kimia tempe. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Hal 11-12.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNESA Press. Surabaya. Hal 2.
- Treichel, H., Oliveira, D., Mazutti, M. A., Luccio, M. D., and Oliveira, J. V. 2010. A Review on Microbial Lipases Production. *Food Bioprocess Technol*. 3: 182-196.
- Utari, D. M. 2010. Kandungan Asam Lemak, Zink, dan Copper pada Tempe, Bagaimana Potensinya untuk Mencegah Penyakit Degeneratif?. *Gizi Indon*. 33(2): 108 – 115.
- Utari, D. M., Rimbawan, Riyadi, H., Muhilal, dan Purwastyastuti. 2011. Potensi Asam Amino pada Tempe untuk Memperbaiki Profil Lipid dan Diabetes Mellitus. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 5(4): 166-170.
- Winanti, Bintari, R. S. H., Mustikaningtyas, D. 2014. Higienitas Produk Tempe berdasarkan Perbedaan Metode Inokulasi. Unnes. *Jurnal of Life Science*. 3(1): 39-46.

- Wipradnyadewi, P. A. S., Rahayu, E. S., dan Raharjo, S. 2010. Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus oligosporus* pada Beberapa Inokulum Tempe. Agrotekno. 11(2): 1-9.
- Yuwono, S. S., Hayati, K. K., dan Wulan, S. N. 2012. Karakterisasi Fisik, Kimia dan Fraksi Protein 7s dan 11s Sepuluh Varietas Kedelai Produksi Indonesia. Jurnal Tek. Pert. 4(1): 84 – 90.
- Zaheer, K. and 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.
- Zahrah, R. 2019. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Tepung Terhadap Pertumbuhan Khamir dan Kandungan Beta-glukan Tempe. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 20-32.
- Zhang, C., Ho, S. C., Lin, F., Cheng, S., Fu, J., and Chen, Y. 2010. Soy Product and Isoflavone Intake and Breastcancer Risk Defined by Hormone Receptor Status. The Official. Journal Of The Japanese Cancer Association. 101(2): 501-507.