

TINJAUAN ILMIAH TEKNOLOGI PENGOLAHAN TEMPE KEDELAI

Winiati P. Rahayu
Rindit Pambayun
Umar Santoso
Lilis Nuraida
Ardiansyah



Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia
(The Indonesian Association of Food Technologists)

TINJAUAN ILMIAH
PROSES PENGOLAHAN TEMPE KEDELAI



Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia
2015

Judul Buku:

TINJAUAN ILMIAH PROSES PENGOLAHAN TEMPE KEDELAI

Edisi 1

ISBN ###

Tim Penulis:

Winiati P. Rahayu

Rindit Pambayun

Umar Santoso

Lilis Nuraida

Ardiansyah

Layout Isi dan Desain Sampul Muka:

Feri Kusnandar

Nurheni Sri Palupi

Diterbitkan oleh:

Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)

<http://patpi.or.id>

Cetakan pertama, Februari 2015

DAFTAR ISI

Kata Pengantar.....	1
Surat Tugas Ketua Patpi.....	iii
I. Pendahuluan.....	1
II. Teknologi Proses Pengolahan Tempe	5
III. Laju dan Dinamika Mikroorganisme Selama Fermentasi Tempe	13
IV. Perubahan Biokimia Pada Pengolahan Tempe	20
V. Keamanan Tempe	31
VI. Kesimpulan Dan Rekomendasi	33
Daftar Pustaka.....	34

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, akhirnya penulisan buku berjudul “Tinjauan Ilmiah Proses Pengolahan Tempe Kedelai” dapat diselesaikan oleh Tim Penulis PATPI. Penulisan buku ini bertujuan untuk melatarbelakangi dan mendukung diterbitkannya Rekomendasi Komisi Ilmu Rekayasa-Akademi Ilmu Pengetahuan Indonesia (KIR-AIPI) Mengenai Tempe Sebagai Bahan untuk MP-ASI yang akan dideklarasikan pada Acara Seminar Tempe di Yogyakarta, tanggal 17 Februari 2015. Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Tim Penulis yaitu Prof. Dr. Winiati P. Rahayu (Institut Pertanian Bogor), Prof. Dr. Rindit Pambayun (Universitas Sriwijaya), Prof. Dr. Umar Santoso (Universitas Gadjah Mada), Prof. Dr. Lilis Nuraida (Institut Pertanian Bogor) dan Dr. Ardiansyah (Universitas Bakrie). Melalui kesempatan ini, kami juga mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dalam pengumpulan bahan yang berupa artikel ilmiah, buku-buku, dan jurnal tentang hasil penelitian tempe, terutama kepada Prof. Dr. Mary Astuti yang telah banyak membantu dengan memberikan informasi mengenai tempe, dan kepada berbagai pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu. Semoga, bantuan yang telah diberikan mendapat imbalan karunia dari Tuhan YME, Amin. Kami berharap tulisan ini bermanfaat bagi seluruh pembacanya.

Palembang, 30 Januari 2015
Ketua Umum PATPI



Prof. Dr. Ir. Rindit Pambayun, MP.

SURAT TUGAS
Nomor : 04/ST-PATPI/XII/2014

Sehubungan dengan Rencana Penyusunan Naskah Ilmiah pengkajian Proses Pengolahan Tempe dalam rangka *Launching: "Tempe sebagai Bahan Makanan Pendamping ASI"*, maka Ketua Umum PATPI Periode 2014-2018 menugaskan nama-nama berikut untuk melaksanakan kegiatan tersebut.

1. Prof. Dr. Winiati P. Rahayu (Koordinator)
2. Prof. Dr. Ir. Rindit Pambayun (Anggota)
3. Prof. Dr. Lilis Nuraida (Anggota)
4. Prof. Dr. Umar Santoso (Anggota)
5. Dr. Ardiansyah (Anggota)

Surat Tugas ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan selesainya kegiatan penyusunan Naskah Ilmiah tersebut.

Demikian surat tugas ini diterbitkan agar nama-nama yang ditugaskan dapat melaksanakan tugasnya dengan penuh tanggung jawab.

Ditetapkan di : Palembang
Pada tanggal : 24 Desember 2014

Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia,
Ketua Umum



Prof. Dr. Ir. Rindit Pambayun, MP

I. PENDAHULUAN

Tempe adalah produk fermentasi asli Indonesia yang telah lama dikenal secara turun temurun dan menjadi hidangan sehari-hari oleh sebagian besar masyarakat Indonesia. Seiring dengan bertambahnya waktu, tempe juga mulai digemari oleh berbagai kelompok masyarakat di berbagai belahan dunia, utamanya dari berbagai negara barat seperti Eropa dan Amerika Serikat. Tempe dalam ejaan bahasa Indonesia atau dalam bahasa Inggris dikenal sebagai “tempeh” adalah nama kolektif untuk produk pangan hasil fermentasi kacang-kacangan atau biji-bijian oleh kapang fermentatif dari jenis *Rhizopus* sp. Tempe berbentuk massa yang kompak dan dapat diiris. Jenis kacang-kacangan yang banyak digunakan sebagai bahan baku tempe adalah kacang kedelai yang berwarna kuning (Nount dan Kiers 2005). Selanjutnya, kacang kedelai disebut kedelai.

Asal-usul dan sejarah tempe cukup unik, karena di antara produk pangan olahan kedelai secara tradisional, tempe adalah satu-satunya produk olahan kedelai fermentasi asli Indonesia yang tidak berasal dari China atau Jepang seperti berbagai produk olahan kedelai lainnya (Shurtleff dan Aoyagi, 2007). Produk olahan kedelai seperti tahu dan kecap berasal dari China sedangkan miso berasal dari Jepang. Penelusuran asal usul tempe di Indonesia telah dilaporkan oleh beberapa peneliti dalam berbagai buku maupun jurnal (Roubos 2010). Referensi awal telah ditulis dalam tulisan sastra Indonesia sejak awal tahun 1800-an, namun tempe diyakini telah berkembang jauh sebelum waktu itu (Roubos 2010). Bukti sejarah menunjukkan bahwa tempe kedelai merupakan produk fermentasi yang dibuat pertama kali oleh orang Jawa Tengah dan muncul sekitar tahun 1700 (Astuti 1996). Pada tahun 1875 istilah tempe didefinisikan dalam kamus Jawa-Belanda sebagai: kedelai yang difermentasi, berbentuk padat yang dikonsumsi dengan cara dipanggang atau digoreng (Roubos 2010). Pada tahun 1895 ahli mikrobiologi dan kimia

dari Belanda telah mulai mengidentifikasi tempe (Shurtleff dan Aoyagi 2007). Sampai saat ini, telah banyak publikasi mengenai tempe yang terkait dengan sifat mikrobiologi dari larunya, teknologi proses serta perubahan biokimia dan nilai gizi selama proses fermentasi tempe.

Seiring perkembangan dan kemajuan teknologi, maka kini tempe tidak hanya dibuat dari kedelai, tetapi juga dari bahan-bahan lain. Bahan-bahan lain tersebut adalah kecipir, lamtoro, koro benguk, koro pedang, beludru buncis, kacang polong merpati, ampas tahu, ampas kacang tanah, dan sebagainya. Dengan demikian, nama tempe pun disesuaikan berdasarkan bahan baku yang digunakan dalam pembuatannya, sehingga dikenal sebagai tempe lamtoro yang terbuat dari lamtoro, tempe koro benguk dari koro benguk dan seterusnya. Berdasarkan perkembangan tersebut, dapat diyakini bahwa tempe kedelai adalah jenis tempe tertua diantara berbagai jenis tempe lainnya dan penyebutan kata “tempe” sudah dikotonasikan sebagai tempe yang dibuat dari bahan baku kedelai yang paling dikenal luas dan paling banyak dikonsumsi masyarakat. Tempe yang baik adalah tempe yang dibuat hanya dari kedelai saja tanpa campuran bahan lain dan tempe yang demikian dinamakan tempe “asli”. Selain itu secara visual, tempe yang bermutu baik akan terlihat tempennya kompak dalam arti biji kedelainya terikat kuat oleh miselium kapang sehingga bila diiris akan terlihat keping-keping kedelai dan tempennya masih berwarna putih. Standar mutu tempe telah diatur dalam SNI 3144:2009, Tempe Kedelai.

Pada dasarnya cara pembuatan tempe meliputi tahapan sortasi dan pembersihan biji, hidrasi atau fermentasi asam, penghilangan kulit, perebusan, penirisan, pendinginan, pengemasan, inokulasi dengan laru/ starter tempe yang berisi kapang, inkubasi dan akhirnya akan didapat tempe yang siap diolah sebelum dikonsumsi. Cara pengolahan tempe yang lazim dilakukan sebelum dikonsumsi adalah dengan cara digoreng, direbus, dikukus, dipanggang atau diolah menjadi berbagai jenis masakan. Sebagian besar tempe diproduksi oleh industri rumah tangga atau industri usaha mikro kecil menengah dengan berbagai skala produksi mulai dari 10 kg hingga 10 ton tempe per hari. Diperkirakan,

terdapat lebih dari 100 000 produsen tempe yang tersebar di seluruh provinsi di Indonesia. Masyarakat perkotaan dan pedesaan, terutama di daerah Jawa, umumnya mengonsumsi tempe sebagai bagian dari pola makan mereka. Tempe diyakini sebagai jenis pangan yang mudah didapat dan bernilai gizi tinggi. Nilai gizi tercermin dari berbagai nutrisi yang diperlukan oleh tubuh terutama adalah protein, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral. Kandungan protein yang terdapat dalam tempe sangat tinggi bila dibandingkan dengan produk olahan kedelai lainnya, apalagi bila dibandingkan dengan produk olahan kedelai yang diekstrak seperti halnya kecap atau sari kedelai. Hermansyah (1985) dalam Ginting (2010) menyebutkan bahwa kandungan protein pada tempe adalah sebesar 18.3%, sedangkan kandungan protein pada berbagai produk lainnya hanya mencapai sekitar 50% nya seperti tauco yang hanya 10.4%, tahu 7.9%, kecap 5.5%, dan susu kedelai 2.8%. Dari sisi nilai gizinya, protein dan karbohidrat pada tempe lebih mudah dicerna, diserap dan dimanfaatkan oleh tubuh. Hal ini dikarenakan aktivitas kapang *Rhizopus* sp. mampu menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia (Kasmidjo 1990).

Saat ini, tempe dikenal sebagai jenis pangan yang populer, enak, murah, bernilai gizi tinggi dan digunakan di negara-negara berkembang sebagai sumber protein. Karakteristik tempe sebagai pangan yang ideal di negara-negara berkembang diantaranya disebabkan oleh beberapa hal sebagai berikut ini.

1. Teknologi yang digunakan sederhana dengan biaya rendah
2. Bahan baku yang digunakan hanya kedelai atau sejenisnya dengan bahan penolong air dan laru
3. Kondisi fermentasi berjalan secara mesofilik sangat sesuai dengan iklim hangat atau tropis
4. Waktu fermentasi singkat (24-48 jam) dibandingkan dengan waktu fermentasi berbagai jenis produk fermentasi lainnya
5. Tempe memiliki rasa, tekstur, penampilan, dan aroma yang cocok untuk aneka jenis masakan

6. Tempe mengandung zat gizi lengkap dengan flavor yang serupa daging (*meat like flavor*) yang khas, mudah dicerna tubuh dan dapat digunakan sebagai pengganti daging.
7. Tempe tidak hanya aman tetapi juga memiliki beberapa senyawa fungsional seperti isoflavon, sehingga dapat memberikan kontribusi kesehatan pada tubuh.

II. TEKNOLOGI PROSES PENGOLAHAN TEMPE

Proses pembuatan tempe pada dasarnya adalah proses fermentasi dengan didahului oleh berbagai proses lainnya. Hal yang berperan penting dalam proses fermentasi adalah faktor inokulum yang berisi kapang dari genus *Rhizopus* sp. seperti *Rhizopus oryzae* atau *Rhizopus oligosporus*. Selama proses fermentasi, jenis-jenis mikroorganisme lain mungkin dapat hidup namun tidak menunjukkan aktivitas yang nyata. Fermentasi kapang hanya berlangsung aktif kurang lebih 1-2 hari, setelah itu terbentuk spora-spora yang berwarna kehitaman.

Tempe pada umumnya memiliki daya simpan yang terbatas, apabila terlalu lama disimpan tempe akan membusuk. Hal ini dikarenakan pada proses fermentasi yang terlalu lama, proses degradasi protein dan turunannya terus berlanjut dan tumbuhnya bakteri pembusuk sehingga terbentuk amoniak, yang menyebabkan munculnya bau busuk. Kualitas tempe antara lain bergantung pada kualitas kedelai, kultur kapang dan teknologi prosesnya.

Cara pengolahan tempe di tingkat pengrajin, berbeda antara satu daerah dengan daerah lain dan antara satu pengrajin dengan pengrajin lainnya (Astuti *et al.* 2000; Shurtleff dan Aoyagi 2011). Menurut Saono *et al.* (1986), variasi metode pengolahan tempe terbagi menjadi tujuh metode seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1. Salah satu perbedaan yang signifikan dalam proses produksi tempe adalah ada atau tidaknya perendaman dan pemasakan kedelai untuk kedua kalinya. Perbedaan ini dapat menyebabkan perbedaan kualitas tempe yang signifikan pada tekstur, rasa, dan aroma tempe yang dihasilkan. Selain perbedaan, terdapat juga beberapa persamaan yang terdapat diantara pengrajin tempe selama proses produksi antara lain adalah proses pemasakan kedelai, penguapan kulit dan pengasaman kedelai, pencucian, pencampuran dengan laru/inokulum, pengemasan dan inkubasi (Hermana *et al.* 1996).

Tabel 1. Variasi metode pengolahan tempe

Tahap	Metode produksi						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	Biji kedelai	Biji kedelai	Biji kedelai	Biji kedelai	Biji kedelai	Biji kedelai	Biji kedelai
2	Pengupasan	Perebusan	Perendaman	Perebusan	Perebusan	Perendaman	Perendaman
3	Pencucian	Perendaman	Pengupasan	Perendaman	Pendinginan	Perebusan	Perebusan
4	Perebusan	Pengupasan	Pencucian	Pengupasan	Pengupasan	Pencucian	Pendinginan
5	Tiriskan	Pencucian	Perebusan	Pencucian	Pencucian	Perebusan	Pengupasan
6	Pendinginan	Penirisan	Penirisan	Perebusan	Perendaman	Pendinginan	Pencucian
7	Inokulasi	Inokulasi	Pendinginan	Penirisan	Perebusan	Pengupasan	Perendaman
8	Pengemasan	Pengemasan	Inokulasi	Pendinginan	Penirisan	Pencucian	Perebusan
9	Inkubasi	Inkubasi	Pengemasan	Inokulasi	Pendinginan	Penirisan	Penirisan
10	Tempe	Tempe	Inkubasi	Pengemasan	Inokulasi	Inokulasi	Pendinginan
11	-	-	Tempe	Inkubasi	Pengemasan	Pengemasan	Inokulasi
12	-	-	-	Tempe	Inkubasi	Inkubasi	Pengemasan
13	-	-	-	-	Tempe	Tempe	Inkubasi
14	-	-	-	-	-	-	Tempe

Diolah dari Saono *et al.* (1986)

Metode I dan II merupakan metode yang paling sederhana. Pada proses yang kompleks seperti penggunaan metode VII, yang proses perebusan dan perendamannya dilakukan sebanyak dua kali menghasilkan tempe dengan rasa yang enak (Hidayat *et al.* 2004). Daerah yang memproduksi tempe dengan tahapan metode VII ini diantaranya adalah Yogyakarta dan Wonogiri. Tempe dengan metode III banyak dilakukan oleh pengrajin di Pekalongan dan Purwokerto. Pada beberapa studi yang terkait dengan pengolahan tempe, baik yang ditinjau dari segi perubahan komposisi kimia, biokimia, fisik, dan mikrobiologi, metode pembuatan tempe yang digunakan berbeda-beda. Sebagai contoh, dari 10 studi yang dilakukan oleh 10 orang peneliti, satu studi menggunakan dua proses metode II dan VII, empat studi menggunakan metode III, tiga studi menggunakan metode IV, satu studi menggunakan metode V dan satu studi menggunakan metode VII. Selain di Indonesia, studi mengenai tempe juga dilakukan di beberapa negara. Contohnya adalah empat studi yang menggunakan metode III antara lain adalah studi mengenai tempe sebagai makanan bergizi dengan harga rendah dilakukan di India (Dinesh *et al.* 2009); studi komponen bioaktif dari fermentasi kedelai yang efektif terhadap bakteri diare (Roubos 2010); studi produksi tempe, pangan fermentasi Indonesia (Hedger 1982); dan studi fermentasi tempe, inovasi dan fungsinya (Nout dan Kiers 2005).

Variasi pengolahan tempe dengan metode III dimulai dengan perendaman sebagai tahap awal pengolahan, dan hanya menggunakan satu kali tahap perebusan. Pada tiga studi yang menggunakan metode IV, dilakukan perebusan sebagai tahap awal pengolahan tempe yang diikuti oleh tahap perendaman, namun pada metode ini perebusan dilakukan sebanyak dua kali. Oktavia (2012) dalam studinya mengenai pembuatan formula tepung tempe menggunakan variasi proses metode V. Pada dasarnya metode V ini tidak jauh berbeda dari metode IV yang menggunakan proses perebusan sebanyak dua kali. Perbedaannya terletak pada proses perendaman. Pada metode IV, perendaman merupakan tahap kedua yang dilakukan setelah perebusan pertama, sedangkan pada

metode V perendaman dilakukan sebelum perebusan kedua setelah pengupasan kulit dilakukan.

Lain halnya dengan beberapa studi lainnya, Barus *et al.* (2008) yang melakukan studi di Bogor, mengidentifikasi penggunaan metode pembuatan tempe tanpa pemasakan kedua telah biasa dilakukan oleh industri rumah tangga tempe di Bogor. Empat dari lima industri rumah tangga tempe yang ada di Bogor tidak menggunakan dua kali pemasakan kedelai pada proses pengolahan tempennya. Hanya satu industri rumah tangga tempe yang melakukan pemasakan dua kali (pemasakan kedua) selama proses pembuatan tempe. Selain itu Barus *et al.* (2008) juga mempelajari akibat perbedaan metode pengolahan tersebut pada rasa pahit yang terdeteksi pada tempe. Pengrajin tempe A melakukan pemasakan kedelai satu kali dan pengrajin tempe B melakukan pemasakan dua kali. Hasilnya menunjukkan terdapat intensitas rasa pahit yang sangat berbeda diantara ke dua jenis tempe yang dihasilkan. Intensitas rasa pahit tertinggi, dengan skor 2.3 dari skor kepahitan maksimum 2.5 terdapat pada tempe yang dihasilkan oleh pengrajin A, sedangkan tempe yang dihasilkan oleh pengrajin B memiliki intensitas rasa pahit yang lebih rendah yaitu dengan skor 1.3. Pada pengolahan tempe, tahapan proses seperti telah diulas di atas adalah meliputi tahapan pencucian dan pembersihan, pengupasan kulit ari, perendaman, perebusan, penirisan, pendinginan, pengemasan, inokulasi, dan inkubasi, yang teknologinya adalah sebagai berikut ini.

1. Pencucian dan Pembersihan

Tahap pencucian dan pembersihan merupakan tahap pertama dalam pengolahan tempe. Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran dan kontaminan lainnya seperti serangga, tanah, dan bahan asing lainnya. Biji kedelai yang digunakan untuk pengolahan tempe harus bersih, tidak tercampur dengan benda asing seperti kerikil, batu, dan biji lainnya, serta bentuk biji kedelai sebaiknya seragam. Penggunaan air pencuci yang bersih dengan jumlah yang cukup diharapkan dapat menghilangkan semua kotoran yang terdapat pada kedelai. Proses pencucian

kedelai dapat dilakukan sekali atau berkali-kali bergantung pada kondisi awal kedelai sampai diperoleh kedelai bersih.

2. Pengupasan

Pengupasan merupakan salah satu tahap penting dalam proses pengolahan tempe. Kulit ari yang masih tersisa karena pengulitan yang tidak sempurna akan mengakibatkan inokulum tidak dapat tumbuh dengan baik. Metode pengupasan dapat dilakukan dengan cara kering atau cara basah. Metode pengupasan cara kering dilakukan sebelum proses perendaman kedelai dan dilakukan dengan menggunakan peralatan mekanis. Kedelai dipanaskan menggunakan oven pada suhu 93°C selama 10 menit, selanjutnya kedelai dikupas kulit arinya menggunakan aspirator atau gravitasi aspirator (Steinkraus *et al.* 1983). Metode ini sangat efisien dan hanya memerlukan tenaga kerja sedikit. Sebaliknya, pengupasan basah dilakukan setelah pencucian dan perendaman atau setelah pemasakan. Pengupasan dilakukan secara manual dengan tangan untuk memisahkan kulit ari dari kedelai, sehingga tidak diperlukan peralatan mekanis. Namun karena banyak menggunakan tenaga kerja, maka cara ini tidak cocok untuk produksi tempe skala besar.

3. Perendaman

Pada saat proses perendaman, biji kedelai akan mengalami proses hidrasi sehingga terjadi kenaikan kadar air biji kedelai. Beberapa peneliti menyebutkan kenaikannya dapat mencapai dua kali dari kadar air awal. Proses perendaman dapat dilakukan pada suhu kamar (sekitar 30 °C) selama 12-15 jam (Fung dan Cozier-Dodson 2008). Fung dan Cozier-Dodson (2008), menyebutkan untuk memberikan kondisi asam, beberapa peneliti menambahkan asam laktat (<0.5%) atau asam asetat (<0.25%). Kondisi asam pada proses ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan memberikan kondisi awal yang baik untuk pertumbuhan kapang tempe.

4. Perebusan

Perebusan dilakukan setelah perendaman. Tujuan perebusan ini selain melunakkan kedelai adalah untuk memusnahkan mikroorganisme kontaminan, menginaktifkan tripsin-inhibitor, menyebabkan protein terdenaturasi yang akan lebih mudah digunakan oleh kapang, dan membebaskan beberapa nutrisi yang diperlukan untuk fermentasi kapang. Perebusan harus dilakukan dengan jumlah air yang cukup agar kematangan biji kedelai merata. Bergantung pada jumlah kedelai yang direbus, perebusan dapat berlangsung 2 hingga 4 jam.

5. Penirisan, Pendinginan, dan Pengeringan

Tahap penirisan, pendinginan, dan pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air, menurunkan suhu, dan mengeringkan permukaan biji kedelai. Secara tradisional setelah proses perebusan biasanya kedelai ditiriskan dan disebar pada wadah (nampan) bambu. Winarno dan Reddy (1986), menyarankan menggunakan wadah berlubang untuk meniriskan kedelai setelah proses perebusan. Penirisan yang tidak sempurna akan memicu pertumbuhan bakteri sehingga dapat menyebabkan fermentasi gagal. Selanjutnya Winarno dan Reddy (1986), juga menyarankan bahwa kedelai sebaiknya didinginkan sampai mencapai suhu 38°C sebelum dilakukan inokulasi kapang.

6. Inokulasi

Penggunaan inokulum spora kapang (laru tempe) pada saat inokulasi memegang peranan penting pada keberhasilan produksi tempe. Penggunaan jenis dan jumlah laru berperan terhadap tempe yang dihasilkan. Penambahan laru tempe yang berlebihan akan mengakibatkan fermentasi tidak sempurna. Sebaliknya jika penambahan laru tempe kurang dapat mengakibatkan bakteri perusak tumbuh. Kondisi optimal pemberian laru tempe saat inokulasi adalah bila laru yang ditambahkan mengandung spora kapang sebanyak 6 log spora/100 gram kedelai yang telah direbus (Wang *et al.* 1975). Studi yang dilakukan oleh Steinkraus *et*

al. (1960) menyebutkan bahwa *R. oryzae* merupakan satu-satunya spesies kapang yang digunakan sebagai laru tempe, tetapi laporan berikutnya (Steinkraus *et al.* 1983) menyebutkan bahwa *R. oligosporus* juga merupakan spesies kapang lainnya sebagai laru tempe. Shurtleff dan Aoyagi (1979), melaporkan bahwa *R. oligosporus* adalah spesies kapang utama yang terdapat pada pengolahan tempe di Indonesia dan Amerika Utara. *Rhizopus oligosporus* memiliki aktivitas protease dan lipase yang baik untuk fermentasi tempe. Selain *R. oligosporus*, spesies kapang lain yang berperan dalam pengolahan tempe adalah *R. oryzae*, *R. chinensis*, dan *R. arrhizus*.

Steinkraus *et al.* (1983) menyarankan strain *Rhizopus* yang digunakan untuk pengolahan tempe harus memiliki karakteristik sebagai berikut ini.

- a. Tumbuh cepat pada suhu 37°C
- b. Memiliki aktivitas proteolitik yang tinggi
- c. Memiliki aktivitas lipolitik
- d. Dapat menghasilkan antioksidan yang tinggi
- e. Berkemampuan untuk menghasilkan tempe dengan flavor, aroma, dan tekstur yang khas

7. Pengemasan

Kedelai yang sudah diinokulasi dan bercampur dengan laru tempe kemudian dikemas. Jenis pengemas yang digunakan pada pengolahan tempe dapat berupa daun pisang atau kantong plastik. Beberapa persyaratan bahan kemasan untuk fermentasi tempe adalah sebagai berikut ini (Fung dan Cozier-Dodson, 2008).

- a. Permeabilitas terhadap oksigen cukup untuk pertumbuhan dan pembentukan miselium
- b. Suhu di dalam kemasan dapat dikontrol
- c. Kadar air kedelai dapat dijaga selama masa inkubasi
- d. Tidak ada kontak air bebas dengan kedelai
- e. Menjamin fermentasi tempe berlangsung dalam kondisi bersih dan baik

8. Inkubasi

Suhu, waktu, dan kelembaban relatif (RH) saat inkubasi adalah tiga faktor penting yang dapat mempengaruhi proses fermentasi tempe. Faktor lainnya yang juga dapat mempengaruhi proses fermentasi tempe adalah ketersediaan oksigen yang diperlukan oleh laru tempe untuk tumbuh. Selama proses inkubasi terjadi proses fermentasi yang menyebabkan terjadinya perubahan komponen kimia pada biji kedelai. Fung dan Cozier-Dodson (2008), menyebutkan beberapa contoh penggunaan kombinasi suhu dan waktu inkubasi untuk proses fermentasi tempe yang diberi penambahan laru tempe sebanyak 6 log spora/100 gram substrat. Kondisi suhu dan waktu tersebut adalah sebagai berikut:

- a. 25°C; selama 80 jam
- b. 25-37°C; selama 20-50 jam
- c. 32°C; selama 20-22 jam
- d. 35-38°C; selama 15-18 jam

Pada skala *pilot plant*, proses fermentasi tempe dapat dilakukan dengan pengaturan kelembaban relatif sebesar 75-78% pada kondisi suhu 35-38°C selama 18 jam (Steinkraus *et al.* 1965).

III. LARU DAN DINAMIKA MIKROORGANISME SELAMA FERMENTASI TEMPE

Proses fermentasi kedelai menjadi tempe melibatkan berbagai mikroorganisme. Komposisi mikroorganisme pada tempe yang difermentasi secara tradisional ditentukan oleh faktor ekologi seperti proses pengasaman oleh bakteri asam laktat (BAL) selama perendaman, efek letal dari perebusan, kontaminasi selama penanganan dan pendinginan, komposisi inokulum, panas yang dihasilkan selama proses fermentasi, kondisi inkubasi dan kondisi dimana tempe disimpan (Nout dan Kiers 2005). Mikroorganisme yang terpenting dalam fermentasi tempe adalah *Rhizopus*, namun demikian, banyak penelitian-penelitian terbaru menunjukkan adanya peranan bakteri dan khamir dalam proses fermentasi tempe. Spesies kapang *Rhizopus* yang berada dalam tempe antara lain *R. oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, dan *R. stolonifer*, namun *R. oligosporus* diketahui sebagai kapang yang paling sesuai untuk pembuatan tempe.

Keberadaan berbagai jenis mikroorganisme pada tempe yang sebagian besar merupakan mikroorganisme yang secara alami terdapat pada bahan baku, laru atau lingkungan, akan mempengaruhi mutu dan cita rasa tempe. Tempe segar mengandung sejumlah besar mikroorganisme mesofilik seperti *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* dan khamir (Ashenafi 1994). Keberadaan mikroorganisme yang tidak diinginkan pada tempe dapat menurunkan mutu mikrobiologisnya. *Bacillus* tumbuh selama fermentasi tempe dan diduga menyebabkan rasa pahit yang kurang disukai (Barus *et al.* 2008). Seumahu (2012) juga melaporkan dominasi *Enterobacteriaceae* pada tempe yang berpotensi sebagai bakteri patogen. Di sisi lain, keberadaan *Klebsiella pneumoniae* sebagai kontaminan menghasilkan vitamin B12 selama fermentasi tempe. Selain itu *Acetobacter* juga ditemukan pada tempe (Barus *et al.* 2008 dan Seumahu *et al.* 2013).

1. Laru

Kultur starter tempe atau ragi tempe atau laru merupakan salah satu faktor yang penting untuk keberhasilan pembuatan tempe yang bermutu baik. Pada industri tempe terdapat dua jenis kultur starter yang digunakan, yaitu laru dan usar. Laru dibuat dari nasi atau tepung beras atau dari onggok yang ditumbuhi kapang tempe atau *Rhizopus sp.*, lalu dikeringkan dan digiling. Usar merupakan daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) yang permukaan belakang daun telah ditumbuhi oleh kapang. Laru merupakan kultur starter yang paling umum digunakan, sementara usar hanya digunakan di daerah tertentu saja seperti daerah Yogyakarta dan sekitarnya. Untuk membuat tempe, dapat juga digunakan kapang tempe yang sudah bersporulasi pada tempe, dikeringkan dan ditumbuk.

Nout dan Rombouts (1990) mengklasifikasikan laru tempe menjadi empat kategori, yaitu starter alami, starter murni, starter semi murni dan starter campuran. Tempe yang dikeringkan dan ditumbuk, laru dan usar termasuk ke dalam starter alami. Starter murni merupakan kultur *Rhizopus sp.* yang ditumbuhkan pada media steril, sedangkan starter semi murni dibuat dengan cara menumbuhkan kapang *Rhizopus sp.* pada nasi atau kedelai yang sudah dimasak namun tidak disterilisasi. Kapang yang digunakan untuk membuat laru harus memenuhi beberapa persyaratan (Shurtleff dan Aogayi 1979), yaitu; (1) produktivitas spora tinggi, (2) viabilitas spora yang dihasilkan seragam dan memiliki stabilitas genetik dalam waktu beberapa bulan, (3) spora cepat terdispersi pada substrat, (4) spora mampu bergerminasi dalam waktu singkat, dan (5) bebas dari organisme kontaminan.

Secara tradisional laru dibuat dengan menggunakan onggok sebagai substrat. Onggok dibasahi lalu dikukus, setelah dingin diinokulasi dengan laru dari *batch* sebelumnya atau laru komersial dan diletakkan pada rak bambu dengan ketebalan 2-3 cm dan panjang 15-20 cm, lalu ditutup dengan daun pisang. Rak diinkubasikan pada suhu kamar (25-30°C) selama 3 hari sampai miselium dan spora menutup permukaan.

Onggok yang telah ditumbuhi kapang lalu diiris dengan ketebalan 5-10 cm dan dikeringkan dengan dijemur (Nuraida dan Krusong 2014). Pada metode pembuatan laru yang lebih modern, sebagai substrat digunakan nasi atau tepung beras dan pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven sehingga suhu lebih terkontrol. Beberapa industri rumah tangga tempe memperbanyak laru dengan menggunakan onggok yang dibasahi dengan air hangat (50–60°C) dan tidak dikukus. Laru yang dihasilkan dapat mengandung mikroorganisme yang lebih beragam karena tidak ada proses pemanasan pada substrat (Nuraida dan Krusong 2014). Shambuyi *et al.* (1992) membandingkan penggunaan berbagai substrat untuk pembuatan laru. Singkong dan beras merupakan substrat yang paling baik untuk mendukung pertumbuhan dan sporulasi kapang tempe. Setelah inkubasi selama 3-4 hari pada suhu 37°C diikuti dengan pengeringan pada suhu 40°C selama 16–18 jam dan digiling, diperoleh konsentrasi spora 1.6×10^7 cfu/g pada substrat singkong dan 3.4×10^6 cfu/g pada substrat beras. Azizah (2007) menggunakan campuran substrat beras dan onggok dengan perbandingan yang sama untuk pembuatan laru tempe dan diperoleh total kapang pada laru sebesar 4.9×10^6 cfu/g.

Usar dibuat dengan meletakkan kedelai yang sudah direbus dan diinokulasi dengan kapang tempe di bagian bawah daun waru, lalu ditutup dengan bagian bawah daun laru. Bagian bawah daun waru memiliki rambut atau bulu dimana spora atau miselium menempel. Daun diinkubasikan pada suhu kamar (25–30°C) selama 2-4 hari. Kedelai yang sudah menjadi tempe dipisahkan dan daun waru yang telah ditemeli miselium kapang dijemur. Untuk membuat usar, daun harus dapat memberikan aerasi yang cukup untuk mendukung sporulasi kapang dan tidak menjadi rapuh setelah kering (Nuraida dan Krusong, 2014). Usar mengandung mikroorganisme lain seperti bakteri aerobik, spora, laktobasili, *Enterobacteriaceae* dan khamir, selain kapang tempe (Nout and Rombouts 1990).

2. Perendaman kedelai

Keterlibatan mikroorganisme pada proses fermentasi kedelai menjadi tempe dimulai sejak proses perendaman kedelai. Air rendaman kedelai kaya akan gula-gula sederhana yaitu glukosa, fruktosa dan galaktosa. Gula-gula sederhana tersebut, terutama glukosa merupakan substrat utama bagi mikroorganisme untuk tumbuh. Mikroorganisme yang ada dapat berupa bakteri atau khamir dan dapat ditemukan kapang dalam jumlah sedikit. Kinetika dan ekologi mikroorganisme ditentukan oleh suhu perendaman dan metode pembuatan tempe (Mulyowidarso *et al.* 1991a). Pada akhir perendaman mikroorganisme mesofil yang ada dalam air rendaman dapat mencapai 10^9 cfu/mL (Moreno *et al.* 2002). Bakteri asam laktat tumbuh dengan baik dan mendominasi selama perendaman kedelai. Bakteri asam laktat sudah ada pada kedelai mentah, tapi jumlah yang terdeteksi sedikit (kurang dari 10^2 cfu/g). Jumlah BAL meningkat dari 10^2 cfu/g menjadi $10^{7.9-9.3}$ cfu/mL pada air perendaman serta $10^{7.8-10^{9.2}}$ cfu/g pada kedelai yang telah direndam. Nuraida *et al.* (2008) melaporkan pada perendaman jumlah mikroorganisme yang ada pada kedelai yang telah direndam selama satu hari adalah sebesar 4.4×10^9 cfu/g sedangkan pada hari kedua jumlahnya turun menjadi 8.4×10^6 cfu/g. Nuraida *et al.* (2008) mendeteksi BAL pada proses perendaman hari pertama sebesar 4.3×10^9 cfu/g dan menurun pada hari kedua yaitu sebesar 2.6×10^6 cfu/g. Efriwati *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa total BAL meningkat tajam setelah 18 jam perendaman, dari sekitar 4 log cfu/g mencapai lebih dari 6 log cfu/g. Sementara jumlah khamir hanya meningkat kurang dari 1 log cfu/g.

Bakteri Asam Laktat yang terdapat pada proses perendaman kedelai adalah *Streptococcus dysgalactiae*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecium* subsp. *casseliflavus* (Mulyowidarso *et al.* 1989), *Lactobacillus plantarum* (Barus 2008). Khamir yang terdapat selama perendaman kedelai adalah *Pichia burtonii*, *Candida diddensiae*, *Rhodotorula rubra* (Mulyowidarso *et al.* 1989), sedangkan bakteri lainnya yang terdapat pada proses perendaman adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus brevis*, *Klebsiella pneumoniae*,

Klebsiella ozaenae, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans* (Mulyowidarso *et al.* 1989). Barus *et al.* (2008) juga mendeteksi *Acetobacter indonesiensis*, *Bacillus subtilis* dan *Klebsiella pneumoniae* pada proses perendaman kedelai. Kehadiran spesies BAL dipengaruhi oleh suhu. Kedelai yang direndam pada suhu 20°C didominasi oleh *L. casei*, sedangkan pada suhu 30°C didominasi oleh *L. casei*, *Streptococcus faecium*, *S. dysgalactiae* dan *S. epidermidis* (Mulyowidarso *et al.* 1989). Pada proses perendaman pada suhu 20°C juga ditemukan *Staphylococcus epidermidis*.

Selama proses perendaman, BAL akan menghasilkan asam-asam organik seperti asam malat, laktat dan asam asetat (Mulyowidarso *et al.* 1991b). Pengasaman ini dapat menghambat dan menyeleksi mikroorganisme yang berada pada proses perendaman dan proses fermentasi tempe. Aktivitas mikroorganisme akan menurunkan pH air perendaman hingga pH 5.0 yang masuk ke dalam kisaran pH kerja enzim invertase dan α -galaktosidase (Mulyowidarso *et al.* 1991a). Produksi asam laktat selama proses fermentasi dapat menurunkan jumlah mikroorganisme pembusuk dan patogen pada tempe (Nout dan Kiers 2005). Proses asidifikasi dan adanya senyawa inhibitor lainnya yang dihasilkan BAL menghambat pertumbuhan mikroorganisme alami seperti koliform, *Klebsiella pneumoniae* dan khamir (Nout dan Kiers 2005).

Mulyowidarso *et al.* (1989) melaporkan beberapa bakteri dari famili *Enterobacteriaceae* seperti *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Klebsiella ozaenae* terhambat pertumbuhannya selama perendaman kedelai. Proses pengasaman pada fermentasi tempe penting untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan patogen pada tahap fermentasi kapang. Penurunan pH sampai <4.4 penting untuk mencegah pertumbuhan *B. cereus* pada tempe (Nout *et al.* 1987). *Listeria monocytogenes* juga terhambat pada fermentasi tempe dari kedelai yang diasamkan dan adanya *L. plantarum*, namun *S. aureus* masih dapat tumbuh walaupun tidak memproduksi toksin (Nout dan Kiers 2005).

3. Fermentasi kapang

Setelah proses perendaman, kedelai diinokulasi dengan laru dan diinkubasi. Selama inkubasi terjadi pertumbuhan kapang dan mikroorganisme lain yang berada pada kedelai. Kebutuhan utama untuk pertumbuhan cepat kapang *Rhizopus* sebagai kultur starter pada fermentasi tempe adalah germinasi spora. Proses pembengkakan spora untuk bergerminasi berkorelasi dengan *uptake* glukosa dan peningkatan pH internal dari 5.2 ke 6.2 (Nout dan Kiers 2005). Tahap selanjutnya, pembentukan tuba, memerlukan sumber oksigen dan nitrogen. Miselium yang baru terbentuk sensitif terhadap asam lemak rantai pendek seperti asam asetat yang menurunkan pH internal sel. Penambahan BAL homofermentatif pada tahap perendaman memperpendek fase lag *R. oligosporus* dibandingkan dengan pengasaman yang dipercepat atau fermentasi heterofermentatif selama perendaman (Nout dan Kiers 2005).

Komposisi dan perkembangan mikroorganisme selama fermentasi tempe dipengaruhi oleh metode persiapan kedelai. Pada beberapa metode pembuatan tempe, setelah proses perendaman dilakukan perebusan kembali, sebelum diinokulasi dengan laru. Setelah proses perebusan, BAL menurun drastis jumlahnya dan akan naik kembali selama fermentasi kapang (Moreno *et al.* 2002). Perebusan mereduksi bakteri dari 9 log cfu/g menjadi 1.8 log cfu/g pada awal fermentasi kapang (Mulyowidarso *et al.* 1989; Mulyowidarso *et al.* 1990). Setelah mengalami perebusan, jumlah BAL juga menurun drastis menjadi kurang dari 10⁴ cfu/g bahkan ada sampel yang tidak terdeteksi keberadaannya (Moreno *et al.* 2002). Efriwati *et al.* (2013) melaporkan setelah perebusan jumlah BAL menurun dari sekitar 10⁶ cfu/g menjadi sekitar 10⁴ cfu/g.

Setelah ditambahkan laru dan fermentasi tempe selesai jumlah BAL naik drastis sampai sekitar 9 log cfu/g pada tempe Malaysia (Moreno *et al.* 2002). Pada proses fermentasi kapang, bakteri juga ditemukan dalam jumlah cukup tinggi, yaitu mencapai 10¹⁰ cfu/g tempe setelah dua hari fermentasi, sementara total BAL relatif stabil sekitar 6 cfu/g tempe

(Nuraida *et al.* 2008). Kenaikan jumlah bakteri asam dan khamir selama proses fermentasi kapang juga diamati oleh Efriwati *et al.* (2013). Pada akhir fermentasi, jumlah BAL dan khamir pada tempe yang dibuat dengan perebusan kembali sebelum inokulasi dengan laru, lebih rendah dari pada tempe yang dibuat dari kedelai yang tidak direbus kembali setelah perendaman. Hal ini karena proses perebusan sebelum inokulasi dengan laru menyebabkan penurunan jumlah BAL dan khamir. Barus *et al.* (2008) juga mendeteksi bakteri yang berbeda pada tempe yang diproduksi dari dua industri rumah tangga yang berbeda. Pada tempe dari kedelai dengan sekali perebusan ditemukan *Flavobacterium* sp. dan *Klebsiella pneumoniae*, sementara pada tempe yang dibuat dari kedelai yang direbus dua kali pada industri yang berbeda terdapat *Pseudomonas putida* dan *Acinetobacter* sp.

Bakteri asam laktat yang dominan pada fermentasi tempe dipengaruhi oleh metode pembuatan dan lingkungan pembuatan tempe. Setelah kedelai direbus, *S. dysgalactiae* yang tadinya dideteksi pada saat perendaman, tidak ditemukan ketika fermentasi tempe yang dibuat pada skala laboratorium (Mulyowidarso *et al.* 1989; Mulyowidarso *et al.* 1990). Bakteri asam laktat yang ditemukan selama fermentasi tempe yang dibuat dari kedelai yang direbus sebelum diinokulasi dengan laru lebih bervariasi, dibandingkan dengan BAL yang ditemukan selama fermentasi tempe yang dibuat dengan kedelai tanpa perebusan setelah perendaman (Touw 2014). Bakteri asam laktat yang dominan pada tempe dari kedelai yang tidak mengalami perebusan sebelum inokulasi adalah *Lactobacillus fermentum* (Touw 2014). Bakteri asam laktat lainnya seperti *L. plantarum* juga dideteksi selama fermentasi tempe. Keberadaan BAL selama fermentasi tempe mungkin dapat berkontribusi terhadap keamanan tempe. Keberadaan *L. plantarum* pada tempe yang dibuat dari kedelai yang diasamkan dapat menghambat pertumbuhan *B. cereus* dan *L. monocytogenes* (Nout dan Kiers 2005).

IV. PERUBAHAN KIMIA DAN BIOKIMIA PADA PENGOLAHAN TEMPE

Pada tahapan proses pengolahan tempe terjadi perubahan biokimia yang dapat meningkatkan nilai gizi dan sifat sensori tempe. Penerapan teknologi pangan yang tepat pada proses pengolahan tempe diharapkan dapat menyebabkan perubahan kimia dan biokimia sesuai tujuan tahap proses sehingga dapat dihasilkan tempe dengan kualitas yang diinginkan. Pada produksi tempe terdapat beberapa variasi proses, namun demikian pada dasarnya secara umum perbedaannya hanya pada tahap-tahap persiapan sebelum tahap inkubasi yang merupakan tahap inti proses produksi tempe. Berikut ini diuraikan perubahan kimia dan biokimia yang terjadi pada tahap-tahap proses pengolahan tempe kedelai.

1. Perendaman

Pada tahap perendaman terjadi fermentasi asam laktat sehingga pH menjadi turun. Pada saat perendaman terdapat aktivitas bakteri yang mengakibatkan pengasaman kedelai. Pada tahap ini, *Enterobacteriaceae* termasuk *Klebsiela pneumoniae* tumbuh dan mensintesis Vitamin B12, selanjutnya BAL yang mendominasi, sehingga pH mengalami penurunan menjadi 4.6-5.2 (Bamforth 2006). Fermentasi bakteri selama perendaman ini penting karena kemungkinan asam yang dihasilkan tersebut berasal dari fermentasi stakiosa dan rafinosa, yaitu senyawa-senyawa karbohidrat tidak terhidrolisis yang menyebabkan flatulensi. Setelah fermentasi bakteri, senyawa-senyawa yang tidak diinginkan tersebut hilang atau berkurang.

2. Perebusan I

Setelah perendaman tahap berikutnya adalah perebusan I atau pra-perebusan. Proses perebusan ini kemungkinan menyebabkan terjadinya kerusakan vitamin dan kehilangan total padatan. Perebusan harus dilakukan pada suhu dan waktu yang tepat. Jika waktu perebusan terlalu

lama, selain proses tidak efisien, beberapa vitamin terutama yang larut dalam air dapat mengalami penurunan atau hilang.

3. Pendinginan

Kedelai harus segera didinginkan setelah tahap perebusan untuk persiapan pengupasan kulit. Pada tahap pendinginan tidak terdapat perubahan kimia dan biokimia yang signifikan. Namun, pengupasan dengan tangan dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi mikroorganisme, apabila kondisi di sekitarnya tidak higienis atau saniter.

4. Pengupasan Kulit dan Pencucian

Pengupasan kulit merupakan tahap yang penting karena kapang tempe tidak dapat tumbuh pada kedelai utuh. Secara manual, pengupasan dilakukan dengan tangan di bawah air mengalir yang sekaligus berupa pencucian. Pada tahap ini kemungkinan tidak terjadi perubahan kimia dan biokimia tetapi kemungkinan terjadi kehilangan sebagian vitamin dan mineral karena proses *leaching*.

5. Perendaman II

Perendaman kedua, yaitu perendaman kedelai yang telah dikuliti ditujukan untuk melunakkan kedelai dan menyiapkan kondisi yang baik untuk fermentasi kapang seperti pada tahap perendaman pertama. Perubahan kimia dan biokimia yang terjadi pada tahap ini kemungkinan sama dengan yang terjadi pada tahap perendaman pertama.

6. Perebusan II

Tahap perebusan kedua memungkinkan terjadi kerusakan vitamin, kehilangan total padatan, dan inaktivasi tripsin inhibitor sebagaimana perebusan pertama. Selama perebusan terjadi pengurangan kandungan karbohidrat sederhana yaitu sukrosa, stakiosa, dan rafinosa.

7. Tahap Fermentasi

Keuntungan utama fermentasi kedelai adalah meningkatnya nilai gizi dan sifat organoleptik lebih dari pada sifat pengawetannya. Tahap-tahap proses pembuatan tempe mengakibatkan hilangnya bau langu (*beany flavor*) (Nout dan Rombouts 1990) dan pengurangan rasa pahit yang ada pada kedelai mentah. Selama periode fermentasi terjadi transformasi total kedelai, timbul aroma dan rasa baru yang enak dan khas, perubahan tekstur menjadi tekstur yang unik dan perubahan kenampakan, dan terjadi peningkatan nilai gizi dan daya cerna (Ang *et al.* 1989). Selama fermentasi dihasilkan berbagai macam enzim seperti protease, lipase, berbagai karbohidrase dan fitase. Selama fermentasi terjadi degradasi enzimatik makromolekul menjadi molekul-molekul dengan berat molekul lebih rendah serta pelarutan sebagian dinding sel dan bahan-bahan intra seluler, yang menyebabkan tekstur dan flavor yang dikehendaki (Hachmeister dan Fung 1993). Di samping itu terjadi penurunan zat anti gizi sehingga nilai gizi tempe lebih baik dari pada kedelai.

Sejalan kapang mulai tumbuh dengan cepat selama fermentasi, suhu massa kedelai umumnya meningkat 5-7°C di atas suhu inkubator. Total padatan larut (*total soluble solid, TSS*) meningkat dari sekitar 13 menjadi sekitar 20% selama 72 jam fermentasi. Nitrogen larut (*soluble nitrogen*) meningkat dari 0.5% menjadi 2.5%, sementara total nitrogen relatif tetap. Setelah perendaman, pH kedelai sekitar 5 namun setelah perebusan pH meningkat tajam sampai di atas 7 dan pada tahap fermentasi terdeteksi amonia bebas (Steinkraus *et al.* 2004).

Perubahan Senyawa Makro Selama Fermentasi

Selama proses fermentasi, terjadi perubahan kimia dan biokimia senyawa makro (protein, karbohidrat, lipida) dan senyawa mikro (vitamin dan mineral). Perubahan tersebut umumnya menyebabkan peningkatan bioavailabilitas. Protein terhidrolisis oleh protease menjadi peptida dan asam amino. Beberapa karbohidrat tidak larut juga mengalami perubahan menjadi komponen sederhana, seperti stakiosa dan rafinosa. Lipida

sebagian mengalami hidrolisis menghasilkan asam lemak bebas. Perubahan-perubahan tersebut juga memberikan kontribusi pada peningkatan total padatan terlarut. Secara garis besar, perubahan komposisi kimia yang terjadi selama fermentasi kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.

1. Perubahan Protein

Wang dan Hesseltine (1965) melaporkan bahwa *R. oligosporus* memproduksi dua sistem enzim proteolitik, yang pertama dengan aktivitas optimum pada pH 3.0 dan yang kedua dengan aktivitas optimum pada pH 5.5. Keduanya mempunyai aktivitas maksimum pada suhu antara 50-55°C. Aktivitas maksimum dicapai pada 72 dan 96 jam pada suhu 32°C. Produksi protease asam oleh *R. oligosporus* yang ditambahkan pada bekatul gandum tertinggi adalah setelah 4 hari pada suhu 25°C pada substrat dengan kadar air 50%.

Selama fase pertumbuhan miselia (1-32 jam) total bahan kering menurun kurang lebih 10% (w/w), kehilangan: lemak kasar (3% dari berat kering awal), protein/asam amino (0-5%) dan komponen tidak teridentifikasi (6.5%) (Ruiz-Teran dan Owens 1996). Selama fase senescensi miselia (60-180 jam), terjadi pengurangan bahan kering (12% dari bahan kering awal), yang hampir sama dengan kehilangan lemak kasar (Ruiz-Teran dan Owens 1996). Oksidasi protein (diestimasi dari produksi amonia) sebesar 5 g selama 28 jam, 10 g selama 46 jam dan 20 g (per-kg biji kering awal) selama 72 jam. Jumlah total protein kedelai yang terhidrolisis termasuk yang masuk (terinkorporasi) ke dalam biomassa kapang diestimasi sebesar 80 g/kg kotiledon kering awal selama 28 jam, 95 g selama 46 jam dan 100 g selama 72 jam inkubasi. Protein utama kedelai, *conglycinin* terhidrolisis lebih cepat dari pada *glycinin*, *conglycinin* lebih sensitif terhadap serangan protease yang kemungkinan berkaitan dengan struktur kimianya (De Reu *et al.* 1995). Protein yang terhidrolisis selama 46 jam sebanyak 25% dari protein awal. Sebesar 65% protein yang terhidrolisis diindikasikan tetap berada dalam tempe sebagai asam amino dan peptida, 25% terasimilasi ke dalam biomassa kapang, dan 10% teroksidasi

(Higasa *et al.* 1996; Ruiz-Teran dan Owens 1996). Derajat hidrolisis bergantung dari strain kapang (Baumann dan Bisping 1995) dan kondisi proses (Ikasari dan Mitchell 1998).

Tabel 2. Komposisi kimia kedelai dan tempe

Komponen	Kedelai tidak difermentasi	Tempe Segar	Tempe dikeringkan
Air (%)	2	64	2
Protein (%)	47.5	18.3	48.75
Nitrogen (%)	7.6	2.9	7.8
Lemak (%)	30.5	4.0	29.5
Asam lemak bebas(%)	0.5	-	21.0
Karbohidrat (%)	-	127	-
Abu	-	-	-
Serat kasar	-	-	-
Ammonia, % total nitrogen	0.1	-	1.7
Nitrogen larut air (%)	6.5	-	39.0
Nitrogen larut dlm TCA (%)	5.9	-	28.0
Nitrogen larut dlm etanol	3.3	-	24.0
Padatan larut air (%)	14.0	28	34.0
Kalsium (%)	-	0.13	-
Fosfor (%)	-	0.15	-
Zat besi (%)	-	0.01	-
Vitamin B-1 (%)	0.001	-	0.0004
Vitamin A (IU)	-	5	-
Pantotenat (%)	0.00046	-	0.00033
Riboflavin (%)	0.0003	-	0.0007
Niasin (%)	0.0009	-	0.0060
Vitamin B-12 (%)	15×10^{-8}	-	5×10^{-6}
pH	5.0	6.5-6.9	-

Sumber : Steinkraus *et al.* 2004

Selama fermentasi terjadi penurunan lisin dan metionin yang diuji secara mikrobiologi (Tabel 3). Lisin menurun 10 dan lebih dari 25% setelah fermentasi 36 dan 60 jam. Sementara metionin berkurang 3 dan

10% setelah fermentasi 36 dan 60 jam. Triptofan dan alanin meningkat sekitar 20%, fenilalanin menurun sekitar 20% (Murata *et al.* 1967).

Tabel 3. Perubahan lisin dan metionin selama fermentasi tempe

Asam Amino	mg asam amino/ 16 mg nitrogen		
	Awal	36 jam	60 jam
Lisin	510	4.60	3.87
Metionin	1.40	1.36	1.25

Sumber: Steinkraus *et al.* (2004)

2. Perubahan Karbohidrat

Karbohidrat sederhana dan oligosakarida dalam kedelai adalah sukrosa, stakiosa dan rafinosa. Selama tahap fermentasi terjadi penurunan kadar gula tersebut. Perubahan utama adalah kehilangan heksosa dan stakiosa yang mengalami hidrolisis secara lambat. Di dalam kedelai terdapat α -galaktosida sukrosa berupa stakiosa dan rafinosa dengan kadar relatif tinggi. Senyawa ini mungkin merupakan prebiotik tetapi senyawa ini menyebabkan flatulensi (produksi gas dalam usus). Oligosakarida ini hilang terutama pada perendaman dan pemasakan kedelai (Mulyowidarso *et al.* 1991b; Ruiz-Teran dan Owens 1996). Jenis-jenis kapang *Rhizopus* (*R. oligosporus*, *R. microsporus* varietas *Chinensis*, *R. oryzae* dan *R. stolonifer*) mampu menggunakan rafinosa sebagai sumber karbon dan energi (Rehms dan Barz, 1995). Walaupun demikian, Graffham *et al.* (1995) yang meneliti persyaratan nutrisi mengamati bahwa *Rhizopus* sp. tidak dapat menggunakan stakiosa dan rafinosa sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi.

Selama fermentasi tempe terjadi hidrolisis polisakarida menjadi oligosakarida berberat molekul rendah yang larut. Enzim-enzim karbohidrase dari *R. oligosporus* pada tempe antara lain poligalakturonase, endosellulase, xylanase dan arabinase (Sarette *et al.* 1992). Selama mase-rasi, fraksi-fraksi arabinogalaktan dan pektin dari kedelai terlarutkan (De Reu *et al.* 1997). Enzim-enzim glikohidrolase terikat kuat pada dinding-

dinding sel (Hermana, *et al.* 1990). Kandungan senyawa pereduksi turun, sementara serat pangan naik 3.7–5.8% karena pertumbuhan miselia kapang (Ang *et al.* 1989). Kenyataan bahwa komponen-komponen tersebut terdegradasi selama fermentasi tempe, menunjukkan pentingnya “*mixed culture*” fungi dan spesies bakteri selama fermentasi.

3. Perubahan Lipida

Kapang mempunyai aktivitas lipolitik kuat, menghidrolisis hampir sepertiga dari lemak netral selama 72 jam fermentasi pada suhu 37°C. Lemak netral kedelai tersusun dari asam lemak palmitat, stearat, oleat, linoleat, dan linolenat yang merupakan asam lemak terbanyak. Asam lemak tersebut dibebaskan selama fermentasi yang banyaknya kira-kira sama dengan yang ada dalam kedelai yang dimasak. Kecuali pengurangan sekitar 40%, asam linolenat selama fermentasi, tidak ada preferensi tentang penggunaan asam-asam lemak khusus. Perubahan asam lemak dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi asam lemak selama fermentasi tempe

Sampel	mg/ 100 g tempe					Rotal g/100g tempe	% total ekstrak eter
	Palmitat	Stearat	Oleat	Linoleat	Linolenat		
Kedelai dimasak, asam lemak bebas	41	31	127	0	0	0.26	1.09
Tempe 24-jam	420	175	713	2510	293	2.59	13.87
Tempe 30-jam	771	202	802	2543	204	4.77	18.93
Tempe 48-jam	565	202	1359	4138	304	6.93	30.00
Tempe 69-jam	863	367	1671	5032	302	8.09	35.11

Sumber : Steinkraus *et al.* (2004)

Angka asam kedelai yang dimasak ringan (*partially cooked*) adalah 1.7. Pada akhir 48 jam, angka asam meningkat menjadi 55.6 (Tabel 5). Penelitian lain menunjukkan perubahan angka asam berubah dari 1.02 menjadi 50.95 setelah fermentasi 48 jam (Murata *et al.* 1967). Di samping

pembebasan asam lemak, pH meningkat tajam menjadi 7.1 sebagai akibat proteolisis dan deaminasi asam-asam amino oleh kapang.

Tabel 5. Perubahan lemak dan aktivitas lipase selama fermentasi tempe

Jam pada 37°C	% db	Angka asam	pH	Lipase QCO ₂
0	24.57	1.7	5.95	0
20.5	25.90	16.3	6.22	1.54
24	26.20	19.7	6.00	2.66
30	25.72	29.3	6.20	2.90
48	24.37	55.6	7.10	0.96
69	22.33	78.3	7.30	2.00

Sumber : Wagenknecht *et al.* (1961) dalam Steinkraus *et al.* (2004)

QCO₂: mL CO₂ yang dibebaskan per-mg berat kering per-jam.

Asam-asam lemak dalam gliserida menurun selama fermentasi, dan pola distribusi asam lemak dan gliserida menunjukkan peningkatan asam oleat dan linoleat dan pengurangan asam linolenat. Asam lemak yang dibebaskan akibat hidrolisis mencapai 30% lemak netral dengan preferensi penggunaan asam α -linolenat dan tingkat total asam lemak bebas meningkat di dalam produk akhir (Agranof 1999). Aktivitas lipase dan produksi asam-asam lemak terjadi dari mulai tahap awal fermentasi. Produksi gliserol bebas yang hanya sedikit menunjukkan bahwa trigliserida merupakan fraksi utama yang dihidrolisis menjadi gliserida-glisericida parsial (mono-, di-gliserida) (Ruiz-Teran dan Owens 1996)

Perubahan Senyawa Mikro Selama Fermentasi

1. Asam Fitat dan Faktor Antigizi

Kedelai mentah mengandung zat anti gizi (*anti nutritional factor, ANF*) dalam kadar yang cukup signifikan, seperti penghambat tripsin dan asam fitat. Sebagian zat-zat tersebut hilang pada waktu perendaman dan pemasakan dan juga selama fermentasi (Tawali *et. al.* 1998). Perendaman dan pemasakan mengurangi aktivitas tripsin inhibitor. Asam fitat merupakan zat anti mineral atau zat anti gizi yang terdapat dalam kedelai

karena dapat mengganggu absorpsi mineral dalam tubuh. Selama fermentasi, asam fitat mengalami penurunan sebesar 22% karena aktivitas enzim fitase yang dihasilkan oleh *R. oligosporus*. Pengurangan asam fitat penting karena senyawa ini dapat menghambat ketersediaan mineral. Sementara *Rhizopus* sp. tidak dapat menggunakan asam fitat sebagai satu-satunya sumber energi (Graffham *et al.* 1995).

Fermentasi tempe dapat mengurangi kadar asam fitat secara signifikan, sehingga dapat meningkatkan ketersediaan kalsium, zat besi dan seng (Astuti dalam Agrinoff 1999). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tikus defisiensi besi yang mengonsumsi tempe mempunyai kadar zat besi lebih tinggi dari pada yang diberi pakan kedelai masak yang tidak difermentasi (Kasaoka *et al.* 1997). Selain efek anti gizinya tripsin inhibitor dan asam fitat juga dapat memberikan efek kesehatan yang baik karena dapat menekan karsinogenesis (Anderson dan Wolf 1995, Kennedy 1995).

2. Vitamin

Kandungan beberapa vitamin B kompleks yang meningkat selama fermentasi disebabkan karena adanya aktivitas metabolik bakteri dan kapang (Bisping *et al.* 1993). Salah satunya adalah produksi vitamin B-12. Kadar vitamin B-12 dalam tempe berkisar antara 2–40 ng/g (Bisping *et al.* 1993). Vitamin B-12 ini berasal dari produksi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *K. freundii* (Keuth dan Bisping 1994). Karotenoid terbentuk relatif sedikit selama fermentasi tempe dan β -karoten sama sekali tidak diproduksi. Kedelai tidak mengandung ergosterol yang dapat terdeteksi, tetapi ergosterol diproduksi sampai konsentrasi 750 μ g/g tempe (berat kering) selama fermentasi 34 jam oleh *R. oligosporus* (Denter *et al.* 1998). Selama fermentasi kadar total vitamin E relatif konstan, tetapi kadar tokoferol bebas (tidak teresterifikasi) menurun. Kandungan vitamin K dalam kedelai relatif tidak terpengaruh selama fermentasi dengan kultur murni *Rhizopus* sp. (Denter *et al.* 1998). Perendaman *cowpeas* menurunkan kandungan asam folat tetapi tidak berpengaruh pada thiamin, niasin dan riboflavin. Perebusan kedelai dapat secara tajam menurunkan kandungan

vitamin-vitamin B tersebut, namun kehilangan tersebut dapat diperoleh kembali (*recovery*) selama fermentasi kecuali thiamin

Pengujian secara mikrobiologi membuktikan bahwa selama proses fermentasi terjadi perubahan kandungan vitamin pada tempe (Tabel 6). Riboflavin meningkat dua kali, niasin 7 kali, dan B-12 meningkat 33 kali. Tiamin turun sedangkan asam pantotenat konstan. Penelitian lain menunjukkan bahwa biotin dan senyawa-senyawa folat total masing-masing 2.3 dan 4-5 kali lebih tinggi pada tempe dari pada kedelai.

Table 6. Perbandingan vitamin tertentu dalam kedelai dan tempe

Vitamin	Konsentrasi	
	Kedelai per-gram	Tempe per-gram
Riboflavin (μg)	3.0	7.0
Pantotenat(μg)	4.6	3.3
Thiamin (μg)	10.0	4.0
Niasin (μg)	9.0	60.0
B-12(μg)	0.15	5.0

Sumber : Steinkraus *et al.* (2004)

3. Senyawa Aktif Antioksidan

Kedelai mengandung antioksidan alami seperti tokoferol dan flavonoid (isoflavin), dan selama fermentasi terbentuk senyawa bioaktif lain. Tempe yang disimpan tidak timbul bau tengik karena kandungan 6,7,4-trihidroksi isoflavin, antioksidan yang dihasilkan pada saat fermentasi kapang. Kemungkinan antioksidan alami dalam kedelai berada dalam bentuk terikat dengan senyawa lain misalnya karbohidrat sederhana, dan selama fermentasi terjadi pelepasan karbohidrat sederhana sehingga terbentuk aglikon yang aktivitas antioksidannya lebih tinggi.

Hal yang sangat menarik adalah modifikasi isoflavin kedelai, suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat meningkatkan kesehatan (Cassidy *et al.* 2000). Polihidroksi isoflavin dan biochanin A dan genistein dapat terbentuk oleh *Micrococcus* dan *Arthrobacter spp* yang diisolasi dari tempe dan 3-Hidroxyantranilic Acid (HAA) yang

terbentuk dari flavonoid kedelai oleh transformasi kapang. Spesies-spesies *Rhizopus* mampu memetabolisme *5-hidroxyisoflavan* (genestein, biochanin A) dan *5-deoxyisoflavan* (daidzein, formononetin) (Hermana *et al.* 1990).

V. KEAMANAN TEMPE

Mikroorganisme yang tumbuh selama proses fermentasi tempe memiliki kondisi yang sangat spesifik, mulai dari perendaman, saat mana bakteri yang dominan adalah BAL yang dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen. Penekanan mikroorganisme patogen oleh BAL karena adanya metabolit yang dihasilkan dan penurunan pH. Selama pertumbuhannya, BAL menurunkan pH hingga 4.6-5.2 (Bamforth 2006). Kondisi tersebut dapat merepresi pertumbuhan mikroorganisme patogen untuk ikut tumbuh dan berkembang selama proses perendaman, karena pertumbuhan optimal mikroorganisme patogen pada umumnya pada kisaran pH 6.0-7.0. Selain itu, metabolit seperti asam organik, bakteriosin, karbondioksida, hidrogen peroksida, etanol, dan reuterin juga memberikan kondisi tidak kondusif bagi mikroorganisme patogen (Adams dan Nouts 2001).

Beberapa mikroorganisme patogen yang dapat dihambat selama proses perendaman kedelai adalah *Salmonella*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas cocovenenas*, dan *Clostridium botulinum* (Kuswanto 2004). Pada fermentasi kapang, pertama didominasi oleh *Rhizopus oryzae* yang menghasilkan amilase, protease, dan pektinase kuat diikuti oleh *R. arrhizuz* dengan sifat mirip. Pertumbuhan kedua *Rhizopus* ini memicu peningkatan suhu sehingga cocok untuk pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* sehingga membuat fermentasi tempe berlangsung sempurna, dengan menutup dan mengikat butiran kedelai dengan miseliumnya. Pertumbuhan kapang *R. oligosporus* selama fermentasi menghasilkan senyawa menyerupai rennin yang dapat menghambat mikroorganisme patogen. Selain itu, kapang ini juga menghasilkan fraksi penghambat bakteri yang terdiri dari empat sampai lima jenis senyawa antibakteri selama fermentasi tempe (Nowak dan Steinkraus 1988 dalam Feng 2006), yang mampu menghentikan pertumbuhan patogen termasuk bakteri Gram-positif (*Streptococcus cremoris*, *Staphylo-coccus aureus*, *Bacillus*

subtilis, *Clostridium prefringens*, dan *Clostridium sporo-genes*). Bakteri Gram-negatif yang dihambat adalah *Klebsiella pneumonia*, penghasil Vitamin B-12 yang tumbuh selama perendaman kedelai. Dari uraian ini, tempe aman secara mikrobiologis. Secara kimiawi dan fisik sangat bergantung pada kondisi higienitas dan sanitasi, termasuk sanitasi air yang digunakan sebagai bahan bantu pengolahan.

Praktik yang baik untuk pengolahan tempe harus dilakukan mulai dari penyiapan sarana prasarana, pemilihan bahan baku, penanganan selama proses produksi dan distribusi hingga ke tangan konsumen. Produsen tempe hendaknya memproduksi tempe dengan cara yang higienis dan dengan memperhatikan hal-hal lain selama proses produksi sebagaimana diatur dalam Peraturan Menteri Perindustrian No 75/M-IND/PER/7/2010 tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik dan Peraturan Kepala Badan POM No. HK 03.1.23.04.12.2206 tahun 2012 tentang Cara Produksi Pangan yang Baik untuk Industri Rumah Tangga.

VI. KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

Tempe adalah makanan yang memiliki beberapa sifat penting, yakni bergizi, *palatable* (enak dimakan) dengan flavor spesifik, aman, dan menyehatkan karena mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti isoflavon yang berperan sebagai antioksidan. Variasi nilai-nilai parameter tersebut sangat ditentukan oleh kualitas bahan baku, cara proses atau teknologi yang diaplikasikan, kondisi higienitas dan sanitasi selama proses pengolahan, serta cara pemanenan dan penanganan pasca fermentasi. Proses pengolahan kedelai menjadi tempe direkomendasikan untuk menggunakan bahan baku yang baik, dengan penerapan teknologi proses VII (perendaman dua tahap) dan memenuhi cara produksi pangan yang baik. Pada akhirnya tempe yang telah diolah dengan menerapkan prinsip-prinsip praktik pengolahan yang baik dan dengan aplikasi teknologi yang tepat sebagaimana telah diuraikan di bab-bab sebelumnya, maka tempe dapat dimanfaatkan untuk diolah menjadi berbagai jenis pangan olahan, termasuk menjadi bahan baku pangan/makanan pendamping ASI (MP-ASI).

DAFTAR PUSTAKA

- Adams MR and Nouts MJR. 2001. *Fermentation and Food Safety*. An Aspen Publication. Maryland. pp 42-45.
- Agranoff J. 1999. *The Complete Handbook of Tempe: The Unique Fermented Soyfood of Indonesia*.
- Anderson RL, and Wolf WJ. 1995. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponin and isoflavons related to soybean processing. *J. Nutr.* 125: 5815-5885
- Ang HG, Nga BH and Lim KK. 1989. Eds., *Trends in Food Biotechnology*. 7th World Congress of Food Science and Technology. Singapore: Singapore Institute of Food Science and Technology.
- Ashenafi M. 1994. Microbiological evaluation of tofu and tempeh during processing and storage. *Plant Foods for Human Nutrition* 45: 183-189.
- Astuti M. 1996. The history of the development of tempe. In: Bunga Rampai Tempe Indonesia. Indonesia Tempe Foundation (20-41).
- Astuti M, Meliala A, Dalais FS, and Wahlqvist ML. 2000. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pacific J Clin Nutr.* 9(4) : 322-325
- Azizah AB. 2007. *Formulasi Laru Tempe Terstandar dari Isolat Usar Daun Waru (Hibiscus tiliaceus) [skripsi]*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2012. *Cara Produksi Pangan yang Baik untuk Industri Rumah Tangga*. Jakarta: Badan POM RI.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2009. *Tempe Kedelai (SNI 3144 : 2009)*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional
- Bamforth CW. 2006. *Food, Fermentation, and Microorganisms*. Blackwell Publishing, Oxford, Iowa. pp 211.
- Barus T. 2008. *Peran Komunitas Bakteri dalam Pembentukan Rasa Pahit pada Tempe: Analisis Mikrobiologi dan Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) [disertasi]* Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Barus T, Suwanto A, Wahyudi AT, and Wijaya H. 2008. Role of bacteria in tempe bitter taste formation; microbiological and molecular biological analysis based on 16s rRNA gene. *Microbiology Indonesia* 2: 17-21.

- Baumann U and Bisping B. 1995. Proteolysis during tempe fermentation. *Food Microbiology*. 12: 39-47
- Bisping B, Hering L, Baumann U, Denter J, Keuth S and Rehm HJ. 1993. Tempe fermentation-some aspects of formation of gamma-linoleic acid, proteases and vitamins. *Biotechnology Advances* 11: 481-493
- Cassidy A, Hanley B, and Lamuela-Raventos RM. 2000. Isoflavones, lignans and stilbenes-origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1044-1062
- De Reu JC, Ten Wolde RM, De Groot J, Nout MJR, Roumbots FM and Gruppen H. 1995. Protein hydrolysis during soybean fermentation *Rhizopus oligosporus*. *J. Agricultural and Food Chemistry*. 43: 2235-2239.
- De Reu JC, Linssen VAJM, Rombouts FM and Nout MJR. 1997. Consistency, polysaccharidase activities and non-starch polysaccharides content of soya beans during tempe fermentation *Rhizopus oligosporus*. *J. Agricultural* 73: 357-363.
- Denter J, Rehm HJ and Bisping B. 1998. Changes in the contents of fat-soluble vitamins and provitamins during tempe fermentation. *Food Microbiol* 45: 129-134.
- Dinesh P, Bhakyaraj R, and Vidhyalakshmi R. 2009. A low cost nutritious food "tempeh"-a review. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 4(1) : 22-27
- Efriwati, Suwanto A, Rahayu G, and Nuraida L. 2013. Population dynamics of yeast and lactic acid bacteria (LAB) during tempeh fermentation. *Hayati J Biosci*. 20(2): 57-64.
- Fung DYC, and Crozier-Dodson A. 2008. Tempeh, A mold-Modified Indigenous Fermented Food, Farnworth, ED., Eds., CRC Press, Boca Raton, London, pp 475-494.
- Ginting E. 2010. Petunjuk Teknis Produk Olahan Kedelai. Pelatihan Agribisnis bagi KMPH. Balai Penelitian Kacang Kacangan dan Umbi Umbian Malang.
- Graffham AJ, Gordon MH, Westby A, and Owens JD. 1995. Nutrition of tempe moulds. *Letters in Applied Microbiology* 21: 223-227
- Hachmeister KA and Fung DYC. 1993. Tempeh : a mold-modified indigenous fermented food made from soybeans and/or cereal-grains. *Critical Reviews in Microbiology* 19: 137-188

- Hedger JN. 1982. Production of Tempe, an Indonesian Fermented Food. Wales : Department of Botany and Microbiology, University College of Wales.
- Hermana H, Mahmud MKMS and Karyadi D. 1990. The use of tempe in medical practice. Second Asian Symposium on Non-Salted Soybean Fermentation, Feb. 13-15, Jakarta, Indonesia. Nutrition Research and Development Centre, Bogor, Indonesia.
- Hermana, M. Karmini, and D. Karyadi. 1996. *Komposisi Gizi Tempe Serta Manfaatnya dalam Peningkatan Gizi Pangan*. Dalam *Bunga Rampai Tempe Indonesia*, Yayasan Tempe Indonesia.
- Hidayat N, Sukardi, and Insani N. 2004. Analisis Perbandingan Teknologi Pembuatan Tempe. Malang. Laporan penelitian. Universitas Brawijaya.
- Higasa, S. Negishi Y, and Sugahara T. 1996. Changes in free amino acids of tempe during preparation with velvet beans (*Mucuna pruriens*). *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 43: 188-193.
- Ikasari L and Mitchell D. 1998. Mimicking gas and temperature changes during enzyme production by *Rhizopus oligosporus* in solid-state fermentation. *Biotechnology Letters* 20: 349-353
- [Kemenperind RI] Kementerian Perindustrian Republik Indonesia. 2010. Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik. Jakarta: Kemenperind.
- Kasmidjo RB. 1990. *Tempe: Mikrobiologi dan Kimia Pengolahan serta Pemanfaatannya*. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Kasaoka S, Astuti M, Uehara M, Suzuki K, and Goto S. 1997. Effect of Indonesian fermented soybean tempeh on iron bioavailability and lipid peroxidation in anemic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 195-198
- Kennedy AR. 1995. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. *Journal of Nutrition* 125: 733S-743S.
- Keuth S and Bisping B. 1994. Vitamin B₁₂ production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumoniae* during tempeh fermentation and proof of enterotoxin absence by PCR. *Environ. Microbiol.* 60: 1495-1499

- Keuth S and Bisping B. 1993. Formation of vitamins by pure culture of tempe moulds and bacteria during the tempe solid substrate fermentation. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 427-434
- Kuswanto KR. In : Steinkraus KH. 2004. Industrialization of Indigenous Fermented Foods, Marcel Dekke, Inc. New York.
- Moreno MRF, Leisner JJ, Tee LK, Ley C, Radu S, Rusul G, Vancanneyt M and de Vuyst. 2002. Microbial analysis of Malaysia tempeh, and characterization of two bacteriocins produced by isolates of *Enterococcus faecium*. *J. Appl. Microbio.* 92: 147-157.
- Mulyowidarso RK, Fleet GH, and Buckle KA. 1989. The microbial ecology of soybean soaking for tempe production. *Int. J. Food Microbiol.* 8: 35-46.
- Mulyowidarso RK, Fleet GH, and Buckle KA. 1990. Association of bacteria with the fungal fermentation of soy bean Temp. *J. Appl. Bacteriol.* 68: 43-47
- Mulyowidarso RK, Fleet GH, and Buckle KA. 1991a. Changes in the concentration of carbohydrates during soaking soybeans for tempe production. *Int J Sc Food Technol.* 26(6): 595-606.doi: 10.1111/j.1365-2621.1991.tb02005.x.
- Mulyowidarso RK, Fleet GH, and Buckle KA. 1991b. Changes in the concentration of organic acids during the soaking of soybeans for tempe production. *Int J Food Sc and Technol.* 26(6):607-614.doi:10.1111/j.1365-2621.1991.tb02006.x.
- Murata K, Ikehata H, and Miyatomo T. 1967. Studies on the nutritional value of tempeh. *J.Food Sci.* 32: 580
- Nout MJR, Beernink G, and Laarhoven TMGB. 1987. Growth of *Bacillus cereus* in soyabean tempeh. *Int. J. Food Microbiol.* 4: 293-301
- Nout MJR, and Kiers JL. 2005. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millenium. *J Appl Microbiol.* 98(4):789-805.
- Nout MJR and Rombouts FM. 1990. A review : Recent developments in tempe research. *Journal of Applied Bacteriology* 69: 609-633
- Nowak and Steinkraus. 1988. In : Feng, X-M, 2006. Microbial dynamics during barley tempeh fermentation. Doctor-Thesis. Acta Universitatis Agriculturae Sueciae.
- Nuraida L, Suliantari, Andarwulan N, Adawiyah DR, Noviar R, and Agustin D. 2008. Evaluation of soybean varieties on production and quality of

- tempe. Di dalam: Hardiansyah, Astawan M, Kusumaningrum, Amelia L, Briawan D, Aries M, Ed.. *Perkembangan Terkini Tentang Tempe: Teknologi, Standardisasi, dan Potensinya dalam Perbaikan Gizi serta Kesehatan*; 2008 Agustus 28-29; Bogor, Indonesia. Bogor (ID): Forum Tempe Indonesia, Yayasan Tempe Indonesia, dan Pergizi Pangan Indonesia. hlm 1-16.
- Nuraida L, and Krusong. 2014. Starter cultures. In: Owens J.D. (ed). *Indigenous Fermented Foods of Southeast Asia*, CRC Press, , pp. 109-136.
- Oktavia N. 2012. *Studi Pembuatan Tepung Formula Tempe [skripsi]*. Makassar: Universitas Hasanudin.
- Rehms H and Barz W. 1995. Degradation of stachyose, raffinose melibiose and sucrose by different tempe-producing *Rhizopus* fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 44: 47-52.
- Roubos PJ. 2010. *Bioactive Components of Fermented Soya Beans Effective Against Diarrhoea-associated Bacteria [thesis]*. Netherlands: Wageningen University.
- Ruiz-Teran F. and Owens JD. 1996. Chemical and enzymic changes during fermentation of bacteria-free soya bean tempeh. *J. Sci. Food Agric.* 71(4): 525-530
- Saono S, Hull RR, and Dhamcharee B. 1986 *A Concise Handbook of Indigenous Fermented Foods in the Asia Countries*. Indonesian Institute of Sciences, Jakarta, Indonesia.
- Sarette M, Nout MJR, Gervais P and Rombouts FM. 1992. Effect of water activity on production and activity of *Rhizopus oligosporus polysaccharidases*. *App. Microbiol and Biotechnol.* 37: 420-425.
- Seumahu C. 2012. *Analisis Metagenom untuk Pencirian Komunitas Bakteri dan Fungi pada Tempe. [disertasi]*, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Seumahu C, Suwanto A, Rusmana A, and Solihin D. 2013. Bacterial and fungal communities in tempeh as reveal by amplified ribosomal intergenic sequence analysis. *Hayati Biosci* 20 (2): 65-71.
- Shambuyi M, Beuchat LR, Hung Y-C, and Nakayama T. 1992. Evaluation of substrates and storage conditions for preparing and maintaining starter cultures for tempeh fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 15:77-85.

- Shurtleff W, and Aoyagi A. 1979. *The Book of Tempeh*, Harper and Row, New York.
- Shurtleff W, and Aoyagi, A. 2007. *History of Soybeans and Soyfoods*. Soyinfo center. Lafayette, CA, USA.
- Shurtleff W, and Aoyagi A. 2011. *History of Tempeh and Tempeh Products (1915 - 2011)*. Extensively annotated bibliography and sourcebook. California: Sayinto Center Lafayette.
- Steinkraus KH, Cullen RE, Pederson CS, Nellis LF, and Gavitt BK. 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker Inc., New York and Basel.
- Steinkraus KH. 2004. Traditional fermentations as industrial resources, *Acta Biotechnol.* 3: 1-12.
- Steinkraus KH, Hwa YB, Van Buren JP, Providential MI, and Hand DB. 1960. Studies on tempeh-An Indonesian fermented soybean food. *Food Res.* 25: 777-788.
- Steinkraus KH, Van Buren JP, Hackler LR and Hand DB. 1965. A pilotplan process for the production of dehydrated tempeh. *Food tech.* 19(1) : 63
- Tawali AB, Hain JU and Schwedt G. 1998. Determination of phytic acid content of soybeans during tempeh production using capillary electrophoresis. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 94: 28-30
- Touw KS. 2014. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dominan Selama Fermentasi Tempe dan Evaluasi Potensinya Sebagai Probiotik. [skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Winarno FG, and Reddy NR. 1986. *Tempe, Legume-Based Fermented Food*, Reddy NR, Pierson MD, and DK Salunkhe, Eds. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 95-117.
- Wang HL, Swain EW, and Hesseltine CW. 1975. Mass production of *Rhizopus oligosporus* spores and their application in tempeh fermentation. *J. Food Sci.*, 40: 168-170.
- Wang HL and Hesseltine CW. 1965. Studies on the extracellular proteolytic enzymes of *Rhizopus oligosporus*, *Can. J. Microbiol.*

Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) merupakan himpunan keprofesian di Indonesia yang beranggotakan akademisi dan peneliti di perguruan tinggi dan lembaga penelitian, pelaku usaha di perusahaan swasta, instansi pemerintah dan mahasiswa yang terkait dengan bidang ilmu dan teknologi pangan/teknologi hasil pertanian serta bidang ilmu lain yang terkait.



Informasi Lebih Lanjut:

Sekretariat Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)

E-mail: sekretariat@patpi.or.id; Website: <http://patpi.or.id>

Telp. (0711)580664 / (021)8312813 ext Psw 205

Fax. (0711)580276 / (021)8354763