

# **STRUKTUR KOMUNITAS MIKROBA PADA TEMPE MALANG**

## **TESIS**

**Karya tulis sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Magister dari  
Institut Teknologi Bandung**

**Oleh  
SONA FEBRINA  
NIM : 20615012  
(Program Studi Magister Biologi)**



**INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG  
Oktober 2018**

## ABSTRAK

### STRUKTUR KOMUNITAS MIKROBA PADA TEMPE MALANG

Oleh

**Sona Febrina**

**NIM: 20615012**

**(Program Studi Magister Biologi)**

Industri tempe tersebar di berbagai daerah di Indonesia dengan karakter dan rasa yang khas. Pada penelitian ini dilakukan isolasi mikroba pada tempe yang berasal dari Malang untuk melihat perubahan struktur komunitas mikroba. Pengambilan sampel dilakukan pada 6 waktu yang berbeda yaitu: 0 jam (T0), 12 jam (T1), 24 jam (T2), 36 jam (T3), 48 jam (T4), dan 60 jam (T5) sejak awal fermentasi. Isolasi mikroba dilakukan dengan menggunakan metode *spread plate*, uji organoleptik dilakukan dengan metode *Uji Deskriptif*, sedangkan uji asam amino dilakukan dengan metode UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*). Berdasarkan hasil penelitian Angka Lempeng Total (ALT) kelimpahan total isolat ragi dan fungi pada setiap gram tempe berturut-turut dari sampel tempe T0, T1, T2, T3, T4, dan T5 adalah sebagai berikut:  $4,0 \times 10^4$  CFU/g,  $5,0 \times 10^4$  CFU/g,  $2,0 \times 10^5$  CFU/g,  $6,2 \times 10^5$  CFU/g,  $6,5 \times 10^5$  CFU/g,  $6,1 \times 10^5$  CFU/g. Sementara angka lempeng total pada bakteri untuk setiap gram tempe pada T0, T1, T2, T3, T4, dan T5 adalah sebagai berikut:  $4,0 \times 10^5$  CFU/g,  $1,0 \times 10^6$  CFU/g,  $1,4 \times 10^6$  CFU/g,  $2,9 \times 10^6$  CFU/g,  $3,2 \times 10^6$  CFU/g,  $3,3 \times 10^6$  CFU/g. Dari hasil isolasi dan identifikasi diperoleh 20 isolat mikroba yang terdiri dari 12 isolat bakteri, 6 isolat jamur dan 2 isolat ragi selama proses fermentasi tempe Malang. Beberapa isolat tersebut berhasil diidentifikasi diantaranya adalah *Klebsiella sp*, *Janibacter sp*, *Gluconobacter sp*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sp*, *Lysinimonas sp*, *Pseudomonas*, *Cladosporium sp*, *Trichosporon asahi*, *Simplicilium sp*, *Daedaleopsis sp*. Isolat yang paling dominan pada T0 adalah *Rhizopus* dan *Trichosporon* sebanyak  $4,0 \times 10^4$  CFU/g dan  $3,0 \times 10^4$  CFU/g, pada T1 didominasi *Klebsiella* yaitu sebanyak  $1,6 \times 10^6$  CFU/g pada T2 didominasi *Rhizopus*, *Bacillus*, *Klebsiella* sebanyak  $5,0 \times 10^4$  CFU/g,  $1,2 \times 10^6$  CFU/g, pada T3 didominasi *Pseudomonas* dan *Bacillus* sebanyak  $2,2 \times 10^6$  CFU/g dan  $2,9 \times 10^6$  CFU/g, pada T4 didominasi *Klebsiella* dan *Bacillus* sebanyak  $3,3 \times 10^6$  CFU/g dan  $2,9 \times 10^6$  CFU/g sedangkan pada T5 didominasi oleh *Lysinimonas sp* sebesar  $2,8 \times 10^5$  CFU/g. Hasil uji deskriptif menunjukkan bahwa tempe Malang memiliki kualitas rasa yang baik karena parameternya memiliki nilai yang cukup tinggi dengan nilai maksimal adalah 7,00. Parameter warna bernilai 6,14, rasa manis awal bernilai 4,76, tekstur 6,89, rasa mentah 5,70 dan rasa pahit di akhir senilai 4,07. Kandungan asam amino tertinggi pada sampel Malang adalah fenilalanin dan asam aspartat sebanyak 36239.60/ppm dan 18994.91/ppm. Nilai mutu tempe Malang mulai dari kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein telah sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) yang ditetapkan, dimana kadar air tempe Malang 62.30%, kadar abu sebanyak 1.04 Lemak total 11,48% dan protein 19,43%.

*Kata kunci : Tempe, Diversitas Mikroba, Organoleptik Tempe, Angka Lempeng Total*

## **ABSTRACT**

### **MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE IN MALANG TEMPEH**

By

**Sona Febrina**

**NIM: 20615012**

**(Master's Program in Biologi)**

*Tempeh industry spreads in various regions in Indonesia with their distinct character and taste. In this research, microbial isolation is performed to tempeh originated from Malang to see changes in the structure of microbial communities. Sampling was conducted at 6 different times as follow: 0 hour (T0), 12 hours (T1), 24 hours (T2), 36 hours (T3), 48 hours (T4), and 60 hours (T5) from the beginning of fermentation. Microbial isolation is done by using spread plate method, Organoleptic test is done by using Descriptive Test, and amino acid test is done by using UPLC method (Ultra Performance Liquid Chromatography). Base on Total Place Count (TPC), the total abundance of yeast and fungi in each gram of tempeh gram in a row from the tempeh sample T0, T1, T2, T3, T4 and T5 is as follow:  $4.0 \times 10^4$  CFU/g,  $5.0 \times 10^4$  CFU/g,  $2.0 \times 10^5$ ,  $6.2 \times 10^5$  CFU/g,  $6.5 \times 10^5$  CFU/g,  $6.1 \times 10^5$  CFU/g. While, the total plate count of bacteria in each gram of tempeh at T0, T1, T2, T3, T4 and T5 is as follow:  $4.0 \times 10^5$  CFU/g,  $1.0 \times 10^6$  CFU/g,  $1.4 \times 10^6$  CFU/g,  $2.9 \times 10^6$  CFU/g,  $3.2 \times 10^6$  CFU/g,  $3.3 \times 10^6$  CFU/g. From the result of isolation and identification, 21 types of microbes was obtained which consist of 12 bacterial isolates, 6 fungi and, 2 yeast during the fermentation of Malang Tempeh. Some of the isolates has been successfully identified including *Klebsiella* sp, *Janibacter* sp, *Gluconobacter* sp, *Bacillus cereus*, *Bacillus* sp, *Lysinimonas* sp, *Pseudomonas*, *Cladosporium* sp, *Trichosporon asahi*, *Simplicilium* sp, *Daedaleopsis* sp. The most dominant isolate in T0 are *Rhizopus* and *Trichosporon* with abundance of  $4.0 \times 10^4$  CFU/g dan  $3.0 \times 10^4$  CFU/g, in T1 dominated by *Klebsiella* with abundance of  $1,6 \times 10^6$  CFU/g, T2 are *Rhizopus*, *Bacillus*, *Klebsiella* with abundance of  $5.0 \times 10^4$  CFU/g,  $1.2 \times 10^6$  CFU/g, in T4 dominated by *Klebsiella* dan *Bacillus* with abundance of  $3.3 \times 10^6$  CFU/g dan  $2.9 \times 10^6$  CFU/g, in T5 dominated by *Lysinimonas* sp with abundance of  $2.8 \times 10^5$  CFU/g. The result of descriptive test shows that Malang tempeh has a good quality of taste because the high enough parameter with 7.00 as the maximum parameter value, color parameter is 6.14, initial sweet taste is 4.76, and texture 6.89, the raw taste is 5.70 and the bitter taste at the end is 4.07. The highest amino acid content in this sample is Phenylalanine and aspartate with an amount of 36239.60/ppm and 18994.91/ppm. The quality value of tempe Malang ranging from water content, fat content, ash content, protein content has been in accordance with the Indonesian National Standard (SNI) which is set, where tempe water content of Malang Tempah 62.30%, ash content 1.04, total fat 11.48% and protein 19, 43%.*

*Keyword: Tempeh, Microbial Diversity, Organoleptic of tempe, Total Plate Number*

# **STRUKTUR KOMUNITAS MIKROBA PADA TEMPE MALANG**

Oleh  
**Sona Febrina**  
**NIM: 20615012**  
**(Program Studi Magister Biologi)**

Institut Teknologi Bandung

Menyetujui  
Pembimbing

Tanggal .....

(Dr. Pingkan Aditiawati)  
NIP. 195809101986012001

## **PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS**

Tesis S2 yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Institut Teknologi Bandung, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Institut Teknologi Bandung. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Sitasi hasil penelitian Tesis ini dapat ditulis dalam bahasa Indonesia sebagai berikut :  
Febrina, S. (2017): *Struktur Komunitas Mikroba Pada Tempe Malang*, Tesis Program Magister, Institut Teknologi Bandung.

dan dalam bahasa Inggris sebagai berikut:

Febrina, S. (2017): *Microbial Community Structure In Malang Tempe*, Master's Program Thesis, Institut Teknologi Bandung.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh tesis haruslah seizin Dekan Sekolah Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung.

*Teruntuk  
Mamah, Bapak, Suami Dan Anak tersayang, Terima Kasih atas segala doa dan  
dukungannya*



## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, *Rabb* semesta alam yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, yang telah mencurahkan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis ini yang berjudul “*Struktur Komunitas Mikroba Pada Tempe Malang*”. Salawat serta salam selalu tercurah kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW, kepada keluarganya, para sahabatnya, para tabi'in dan umatnya hingga akhir zaman yang senantiasa istiqomah dan berjuang di jalan-Nya.

Dalam penyelesaian Tesis ini, penulis menerima banyak bantuan, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak. Secara khusus, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Pingkan Aditiawati. sebagai dosen pembimbing atas segala bimbingan, kesabaran, arahan, pengetahuan, kesempatan dan kasih sayang yang diberikan selama ini.
2. Suami tercinta Thomas Alfa Edison S.Si., M.T yang telah dengan sabar membantu dan mengarahkan penulis menyelesaikan penelitian ini.
3. Kedua orang tua Mamah, Bapak dan anak tercinta, Ibu Nani Rohaeni, Bapak Samsul Bahri dan Seismika Aiza Putri yang selalu memberikan doa dan dukungan selama mengerjakan tesis ini.
4. Bi Dewi Mulyani dan Om Roni Tabroni yang mengantarkan penulis mendapatkan Beasiswa Unggulan untuk masa perkuliahan saya selama S2 di ITB.
5. Ibu dan Bapak Mertua yang telah memberikan doa kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian.
6. Rekan-rekan Power Ranger (Adinda, Billqys, Ifa dan Tiar), Faizah, dan seluruh adik adik baik hati warga lab Bioremediasi atas bantuan dan dukungannya sehingga penulis dapat melewati hari-hari yang menyenangkan di lab.
7. Seluruh rekan-rekan mahasiswa magister biologi ITB angkatan 2015 (Bang Taufiq, Mbak Eka F. Tihurua, Christina M. Hutabarat, Fauzi Akhbar, Deosari, Puti siswandari, Yohanes Yudha, Elisa N. Riana, Rasdiana diah dan Adelia). Yang selalu menjadi teman diskusi memberikan semangat,

informasi, bantuan dan doa kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

8. Seluruh Dosen dan Staf Pengajar di lingkungan Magister Biologi yang telah memberikan pengajaran dan bimbingan tentang ilmu Biologi yang luar biasa kepada penulis.
9. Staf Tata Usaha SITH, Institut Teknologi Bandung yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan masalah administrasi, akademik dan perijinan.
10. Seluruh saudara tersayang (Senny Febriani, Sonny Zein, Afaf Luthfiah, Alma Fauzal jannah) yang telah memberikan banyak bantuan dan doa agar penulis terus semangat mengerjakan tesis.
11. Semua orang yang telah menjaga Aiza (Afaf, Alma, Intan, Ayu, karyawan CV Putra Purnama Indonesia dan staff magang) saat penulis harus melaksanakan aktifitas di kampus.
12. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Semoga Allah membalas dengan balasan yang sebaik – baiknya.

Semoga semua bantuan yang diberikan mendapatkan balasan dan pahala yang berlipat ganda dari Allah SWT.

Penulisan Tesis ini masih sangat jauh dari kesempurnaan, oleh sebab itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari pembaca. Walaupun demikian penulis persembahkan tesis ini kepada semua pihak, semoga bermanfaat.

Bandung, Oktober 2018

Penulis,

Sona Febrina

## DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS.....	vi
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI .....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
Bab I Pendahuluan .....	1
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Rumusan Masalah .....	2
I.3 Tujuan.....	3
I.4 Hipotesis.....	3
I.5 Ruang Lingkup.....	3
I.6 Sistematika Penulisan.....	4
Bab II Tinjauan Pustaka .....	5
II.1 Pengertian Struktur Komunitas Mikroba.....	5
II.2 Teknik Pembuatan Tempe Malang.....	6
II.1.1 Sortasi dan pencucian.....	8
II.1.2. Perebusan .....	8
II.1.3 Pemecahan .....	8
II.1.4 Perendaman.....	9
II.1.4 Peragian (Inokulasi) .....	9
II.1.5 Inkubasi (Pemeraman) .....	10
II.3 Kandungan Gizi pada Tempe .....	10
II.2.1 Asam Lemak .....	11
II.2.2 Asam Amino .....	11
II.2.3 Vitamin.....	11
II.2.4 Mineral .....	12
II.4 Proses Fermentasi pada tempe.....	12
II.5 Rhizopus Oligosporus.....	13
Bab III Metodologi Penelitian.....	14
III.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian.....	14
III.2 Alat dan Bahan .....	14
III.3 Metode Penelitian.....	14
III.3.1 Isolasi Mikroba pada Tempe .....	14
III.3.2. Pemurnian Mikroba .....	15
III.3.3 Identifikasi Mikroba .....	15
III.3.4 Sekuensing (16 rRNA dan ITS) dan penyusunan Filogenetik.....	16
III.3.5 Identifikasi Jamur .....	17
III.3.6 Penghitungan Lempeng Total (ALT) Bakteri dan Jamur .....	17
III.3.7 Uji Asam Amino.....	18
III.3.8 Uji Organoleptik atau Uji Deskriptif .....	19
Bab IV Hasil dan Pembahasan.....	21
IV.1 Perhitungan Angka Lempeng Total Mikroba (Bakteri, Fungi dan Ragi) .	21

IV.2 Hasil Identifikasi Mikroba .....	23
IV.3 Hasil Uji Organoleptik .....	30
IV.4 Hasil Uji Asam Amino .....	31
IV.5 Komposisi Proksimat Tempe Malang .....	33
Bab V Kesimpulan dan Saran .....	36
V.1 Kesimpulan .....	36
V.2 Saran .....	37
DAFTAR PUSTAKA .....	38
LAMPIRAN .....	42

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran A. Tabel Hasil Identifikasi dan Kelimpahan Bakteri, Jamur, dan Ragi pada T0, T1, T2, T3,T4, dan T5.....	43
Lampiran B. Pohon Filogenetik Mikroba dari Tempe Malang.....	47
Lampiran C. Tabel penghitungan ALT Jamur, Ragi, dan Bakteri .....	54
Lampiran D. Isolat Hasil Isolasi Tempe Malang .....	55
Lampiran E. Hasil Uji Organoleptik dengan metode Uji Deskriptif .....	56
Lampiran F. Hasil Pengujian Asam Amino Tempe Malang.....	58

## DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar II.1 a. Tahapan Proses Pembuatan Tempe Menurut BSN (Badan Standardisasi Nasional); b. Tahapan pembuatan tempe Malang dari PRIMKOPTI Bangkit Usaha Malang. ....	7
Gambar IV.1 Grafik Pertumbuhan jumlah total fungi, ragi dan bakteri selama proses fermentasi pada tempe Malang .....	22
Gambar IV.2 Isolat Jamur dan Ragi a. Daedaleopsis; b. Trichosporon c. Simplicilium; d. Rhizopus; e. Aspergillus; f. Cladosporium; g. Pichia .....	23
Gambar IV.3 a. Isolat Bakteri Gluconobacter; b. Pseudomonas; c. Janibacter; d. Bacillus ceureus; e. Lysinimonas; f. Actinomycet; g. Citrobacter; h. Bacillus sp i. Klebsiella; j. Streptococcus; k. Stafilococcus; l. Streptococcus; m. Bacillus sp.....	23
Gambar IV.4 Penampakan bakteri pada mikroskop a. Klebsiella; b. Pseudomonas; c. Janibacter; d. Streptococcus; e. Gluconobacter; f. Bacillus cereus; g. Stafilococcus; i. Streptococcus; j. Bacillus k.; l. Citobacter .....	24
Gambar IV.5 Jumlah Jenis Mikroba pada saat Fermentasi tempe Malang.....	25
Gambar IV. 6 Dinamika Perubahan Komunitas Mikroba Selama Fermentasi Tempe Malang.....	27

## DAFTAR TABEL

Tabel IV.1 Perhitungan Angka Lempeng Total Jamur dan Bakteri , dan pH. ....	21
Tabel.IV.2 Hasil Identifikasi Mikroba pada tempe Malang.....	24
Tabel IV.3 Hasil Identifikasi dan Kelimpahan Bakteri, Jamur, dan Ragi.....	25
Tabel IV.4 Hasil uji organoleptik Malang pada umur 48 jam dibandingkan dengan uji organoleptik tempe Bandung. ....	30
Tabel IV.5 Hasil pengujian asam amino tempe Malang pada jam ke 48.....	31
Tabel IV.6 Hasil Pengujian Proksimat pada Tempe Malang dibandingkan dengan penelitian Risnawati (2015) dan standar SNI.....	33
Tabel VI. 7. Perbandingan Proksimat Kedelai dengan Tempe .....	35

# **Bab I Pendahuluan**

## **I.1 Latar Belakang**

Tempe merupakan makanan hasil fermentasi yang berasal dari Indonesia. Industri tempe di Indonesia sudah menjamur ke seluruh pelosok nusantara. Bahkan, di hampir setiap kabupaten di Pulau Jawa terdapat koperasi yang beranggotakan produsen-produsen tempe yang telah terdaftar di Koperasi Produsen Tahu Tempe Indonesia (KOPTI). Tingkat konsumsi tempe di Indonesia terbilang cukup tinggi khususnya di pulau Jawa. Kota Malang merupakan kota dengan jumlah produsen dan konsumen tempe yang cukup tinggi. Rasa dari tempe asal kota Malang ini berbeda dengan tempe yang ada di Bandung, Jakarta dan sekitarnya. Menurut penelitian Kadar dkk (2018) profil metabolomik antara tempe yang diproduksi di Jawa Barat dengan tempe yang diproduksi di Jawa Tengah dan Jawa Timur berbeda. Hal tersebut terjadi karena di Jawa Barat, terutama di Bandung terdapat produsen starter komersial (Raprima) yang menggunakan raprima sebagai starter mikroba, begitu juga Jakarta dan sekitarnya. Sedangkan para produsen di Malang membuat tempe dengan starter yang pada umumnya di buat sendiri (backslope) atau bahkan di campur dengan Raprima.

Pertumbuhan dan komposisi mikroba pada tempe selama fermentasi sangat menarik untuk dipelajari. Beberapa peneliti melaporkan ternyata bukan hanya *R. oligosporus* saja yang berperan selama proses fermentasi. Mulyowidarso (1989) mempelajari tentang ekologi mikrobial selama proses perendaman kedelai untuk pembuatan tempe yang ternyata mengandung banyak mikroba, secara signifikan selalu tumbuh dan memiliki peran yang tidak kalah penting dengan *R. oligosporus*. Sehingga informasi mengenai struktur komunitas mikroba pada saat fermentasi tempe sangat perlu diungkapkan agar mengetahui keterlibatan setiap mikroba. Beberapa penelitian melaporkan bahwa mikroba yang ada pada makanan memiliki peran penting dalam membentuk rasa pada saat fermentasi (Hagedorn and Kaphammer 1994), seperti rasa pahit yang ada pada hasil fermentasi keju biasanya disebabkan oleh aktifitas protease dari *Lactococcus lactis* (Broadbent *et al.* 2002). Telah ditemukan beberapa jenis mikroba yang ada pada tempe selain jamur *Rhizopus sp.* Salah satunya adalah “Lactic acid bacteria“ (LAB) atau sering dikenal



dengan bakteri asam laktat, jenis bakteri ini dikenal dengan aktifitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang juga memainkan peran penting dalam proses fermentasi tempe (Pisol *et al*, 2013). Nuraida et al (2008) dan Mulyowidarso *et al* (1989) menjelaskan bahwa selama proses perendaman tempe, terdapat bakteri asam laktat dan khamir di dalam air perendaman tersebut. Pada saat perendaman tersebut bakteri asam laktat ini terhitung cukup banyak dan berfungsi mengasamkan kacang selama proses fermentasi. Selain mikroba beberapa asam amino juga mampu mempengaruhi rasa pada makanan, contohnya seperti asam glutamat dapat memberikan rasa gurih, asam amino yang menghasilkan rasa pahit adalah *Phenylalanine, Tyrosine, Arginine, Leusin, Isoleucine, Valine* dan *Histidine*. Sedangkan asam amino penghasil rasa manis adalah *Glycine, Alanine, Threonine, Proline, Serine* dan *Glutamine*.

Hasil penelitian Kadar dkk (2018) dengan menggunakan metode iluminati mengatakan bahwa pada tempe Malang saat T0 (0 jam masa fermentasi) bakteri yang mendominasi berasal dari filum Firmicutes, kemudian pada T24 (24 jam masa fermentasi) bakteri dari filum *Proteobacter* terlihat mulai muncul, kedua filum ini terus muncul dan mendominasi tempe Malang sampai akhir fermentasi (T48). Untuk membuktikan hal tersebut perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai kelimpahan yang ada pada tempe Malang hingga ke tingkat spesies. Selain kelimpahan, perubahan komunitas, aktivitas antar spesies serta kandungan pada tempe Malang yang mempengaruhi rasa dan penampilan tempe Malang juga harus diteliti agar dapat menjelaskan struktur komunitas yang berperan pada tempe Malang.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah

1. Apa saja mikroba yang muncul pada saat proses fermentasi tempe Malang?
2. Bagaimana pola pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi tempe Malang?
3. Bagaimana interaksi antar mikroba pada proses fermentasi tempe Malang?

4. Bagaimana pengaruh mikroba terhadap komposisi asam amino, rasa, tekstur, dan warna pada tempe Malang?

### **1.3 Tujuan**

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui mikroba apa saja yang ada pada tempe Malang.
2. Untuk mengetahui pola pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi tempe Malang.
3. Untuk mengetahui interaksi antar mikroba pada saat fermentasi tempe Malang.
4. Untuk mengetahui pengaruh mikroba terhadap komposisi asam amino, rasa, tekstur, dan warna.

### **1.4 Hipotesis**

Berdasarkan tujuan yang telah disusun, hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Populasi mikroba yang muncul selama proses pembuatan tempe pada awal fermentasi di dominasi oleh *Rhizopus* dan bakteri dari filum *firmicutes*, sedangkan pada akhir fermentasi didominasi oleh bakteri dari filum *Proteobacter*.
2. Setiap mikroba memiliki pola pertumbuhan yang berbeda beda sesuai dengan waktu fermentasinya.
3. Terjadi interaksi antar mikroba pada saat fermentasi tempe Malang.
4. Struktur komunitas mikroba berperan terhadap rasa, tekstur, warna dan kandungan asam amino pada tempe Malang.

### **1.5 Ruang Lingkup**

Agar tidak terjadi pembahasan yang meluas atau menyimpang, maka dibatasi ruang lingkup yang dikaji, pada penelitian ini dilakukan isolasi dengan menggunakan metode *spread plate*, dengan sampel tempe dari Malang, dengan waktu pengambilan yaitu pada T0 (0 jam masa penyimpanan), T1 (12 jam masa

penyimpanan), T2 (24 jam masa penyimpanan), T3 (36 jam masa penyimpanan), T4 (48 jam masa penyimpanan) dan T5 (60 jam masa penyimpanan).

#### **I.6 Sistematika Penulisan**

Penulisan penelitian tesis dibagi menjadi beberapa bab dan subbab. Bab I berisi penjelasan terkait dengan latar belakang, tujuan penelitian, rumusan masalah penelitian, ruang lingkup penelitian, dan sistematika penulisan tesis. Pada Bab II dikemukakan penjelasan terkait teknik pembuatan tempe, kandungan gizi pada tempe, proses fermentasi pada tempe dan mengenai beberapa mikroba penting pada tempe seperti *Rhizopus Oligosporus*. Pembahasan Bab III mencakup metode penelitian dengan menggunakan metode *spread plate* untuk isolasi mikroba, penghitungan angka lempeng total, dilakukan juga pengujian asam amino dan uji organoleptik. Bab V menjabarkan hasil dan pembahasan penelitian, kemudian diakhiri dengan Bab VI yang berisi kesimpulan dan saran.

## **Bab II Tinjauan Pustaka**

### **II.1 Pengertian Struktur Komunitas Mikroba**

Struktur komunitas merupakan konsep yang mempelajari mengenai susunan atau komposisi spesies dan kelimpahan dalam suatu komunitas. Menurut Schowalter (1996) terdapat tiga pendekatan dalam struktur komunitas yang dapat di gunakan untuk mendeskripsikan struktur komunitas yaitu keanekaragaman spesies, interaksi spesies dan interaksi fungsional.

Keanekaragaman spesies mencakup seluruh spesies yang telah ditemukan, spesies sendiri dapat diartikan sebagai sekelompok individu yang menunjukkan beberapa karakteristik penting berbeda dari kelompok-kelompok yang lainnya baik secara morfologi, fisiologi ataupun biokimia. Interaksi merupakan hubungan antara makhluk hidup yang satu dengan yang lainnya, secara garis besar Dwidjoseputro (1991 ) mengelompokkan interaksi spesies ke dalam beberapa bentuk dasar hubungan yaitu sebagai berikut:

- a. Netralisme, merupakan hubungan antar individu yang tidak saling menguntungkan dan juga tidak saling merugikan.
- b. Mutualisme, merupakan hubungan antara individu yang saling menguntungkan satu sama lainnya.
- c. Parasitisme, merupakan hubungan yang hanya menguntungkan satu jenis makhluk hidup saja sementara yang lainnya di rugikan.
- d. Predatorisme, merupakan hubungan pemangsaan antara satu jenis makhluk hidup terhadap makhluk hidup lainnya
- e. Kooperasi, merupakan hubungan antara dua makhluk hidup yang bersifat saling membantu diantara keduanya
- f. Kompetisi, merupakan hubungan yang terjadi akibat adanya keterbatasan sumber daya alam suatu tempat yang membuat antar makhluk hidup saling berebut sumber daya tersebut.
- g. Komensalisme, merupakan suatu hubungan antar makhluk hidup dimana yang satu ,mendapat keuntungan sementara yang lainnya tidak merasa dirugikan.

- h. Antagonisme, merupakan hubungan antar makhluk yang bersifat bermusuhan dan bertentangan satu sama lainnya.

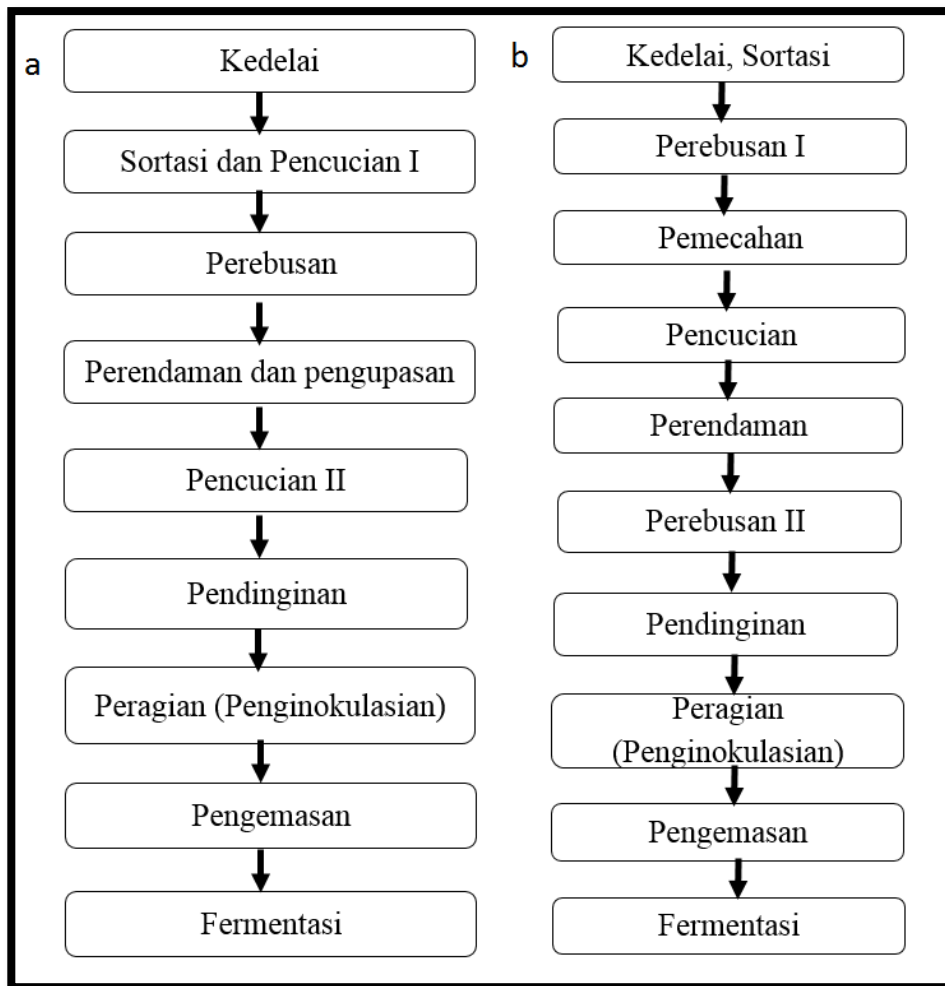
## **II.2 Teknik Pembuatan Tempe Malang**

Produksi tempe di Indonesia saat ini mayoritas dilakukan dalam skala rumah tangga sehingga proses pembuatannya cenderung masih menggunakan cara-cara yang tradisional. Meskipun begitu ciri khas daerah juga ikut menentukan bagaimana tempe tersebut dibuat, karena pembuatan tempe yang ada di beberapa daerah ternyata tidak sama. Dalam prosesnya pembuatan tempe ini melibatkan tiga faktor penting yakni bahan baku (Kedelai), Mikroorganisme (fungi dan ragi tempe) dan keadaan lingkungan seperti kelembaban, pH, dan suhu pada saat proses fermentasi. Dalam proses fermentasi tempe kedelai, substrat yang digunakan *Rhizopus sp*, dengan lingkungan suhu yang mendukung sekitar 30°C, pH awal 6,8, kelembaban nisbi 70-80% (Ferlina, 2009).

Tempe mengandung nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan oleh manusia seperti lemak, protein, karbohidrat dan mineral. Menurut Kasmidjo (1990) zat gizi yang ada di dalam tempe lebih mudah dicerna dan diserap oleh tubuh karena jamur yang tumbuh di dalam tempe tersebut dapat menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana yang mudah dicerna oleh manusia. Menurut Widianarko (2002), mengatakan bahwa secara kuantitatif nilai gizi pada tempe sedikit lebih rendah dari pada nilai gizi pada kedelai, akan tetapi secara kualitatif nilai gizi pada tempe lebih tinggi karena mempunyai nilai cerna yang lebih baik, hal tersebut terjadi karena kadar protein yang dapat larut dalam air akan meningkat karena adanya aktivitas enzim proteolitik.

Secara garis besar proses pembuatan tempe menurut FTI (Forum Tempe Indonesia) terdiri dari proses pencucian, proses perendaman, proses memasak kemudian baru dilakukan fermentasi. Adapun perbedaan yang terlihat dari proses produksi di beberapa daerah adalah dari bagaimana cara menyortir dan membersihkan kedelainya, lamanya proses perendaman, banyaknya jumlah pengulangan dalam pencucian dan perendaman dan berapa kali proses memasak dilakukan. Setelah

dilakukan survey ke Malang (PRIMKOPTI Bangkit Usaha Malang) ternyata cara pembuatan tempe Malang dapat dilihat dalam gambar II.1.b.



Gambar II.1 a. Tahapan Proses Pembuatan Tempe Menurut BSN (Badan Standardisasi Nasional); b. Tahapan pembuatan tempe Malang dari PRIMKOPTI Bangkit Usaha Malang.

Proses pembuatan tempe Malang sedikit berbeda dari tempe yang sesuai dengan standar BSN, akan tetapi pada umumnya seluruh tahapan yang dilalui hampir sama hanya waktu dan jumlah perebusan yang berbeda. Kualitas dari tempe ditentukan juga oleh kualitas kedelai yang akan digunakan untuk mendapatkan tempe yang bermutu Supriono (2003) mengatakan perlu dilakukan persiapan perlakuan bahan baku kedelai terlebih dahulu seperti:

- a. Memilih jenis kedelai (*Glycine max* (L) Merr) dengan varietas Amerika dengan biji yang berwarna kuning dan ukurannya relatif lebih besar daripada kedelai lokal;

- b. Dipilih kedelai yang sudah tua dan baru tetapi kedelai tersebut tidak terlalu lama di dalam gudang karena proses penyimpanan di dalam gudang akan menyebabkan kedelai menjadi tengik dan berjamur;
- c. Dilakukan pemilihan berdasarkan standardisasi kedelai (kedelai muda dan cacat dibuang);
- d. Dilakukan juga sortasi benda asing seperti kerikil, serangga dan beberapa bagian tubuhnya, pecahan gelas, jagung, koro, beras dan benda asing lainnya.

### **II.1.1 Sortasi dan pencucian**

Tahap sortasi merupakan tahap pemilihan kualitas bahan baku yang bertujuan untuk mendapatkan produk tempe yang berkualitas dimana biji kedelai yang dipilih merupakan biji yang padat berisi. Sampai saat ini para produsen tempe di Malang masih melakukan tahap sortasi secara manual dengan memilih kedelai yang padat berisi dan memisahkannya dengan pasir, beras, jagung, dan biji kedelai yang keropos. Sementara tahap pencucian pada tempe Malang sedikit berbeda dengan tempe yang sesuai BSN, karena dilakukan setelah proses perebusan pertama dan proses pemecahan kedelai. Tujuan dari tahap ini adalah untuk menghilangkan kotoran yang melekat maupun yang tercampur diantara biji kedelai.

### **II.1.2. Perebusan**

Pada tempe Malang perebusan kedelai dilakukan dengan dua kali tahapan, tahapan yang pertama yaitu sebelum dilakukan perendaman, perebusan pertama ini dilakukan dalam waktu 30 menit. Tujuannya adalah agar saat proses pemecahan kulit kedelai menjadi lebih mudah untuk dibersihkan. Sedangkan tahap perebusan yang kedua dilakukan setelah perendaman.

### **II.1.3 Pemecahan**

Tahapan pemecahan merupakan tahapan yang dilakukan untuk memisahkan kulit dari dengan kedelainya, prosesnya dilakukan setelah proses perebusan, dengan dilakukan perebusan proses pemecahan atau pemisahan kulit dari kedelai menjadi lebih mudah, proses ini dilakukan dengan alat pemecah. Tahapan ini merupakan

tahapan yang cukup penting, beberapa produsen membersihkan kulit arinya hingga benar-benar bersih dan tak bersisa meskipun menghabiskan waktu yang relatif lebih lama agar mendapatkan hasil yang maksimal, sebagian lainnya hanya membersihkan kulit ari sebisanya saja, sehingga hasil dari fermentasi tempe pun menjadi berbeda, hal ini ternyata sangat berpengaruh pada nilai jual tempe di pasaran. Menurut pengusaha tempe penampilan tempe yang lebih rapi, bersih dan tanpa terlihat kulit arinya memiliki nilai jual yang lebih tinggi daripada tempe yang hanya sebagian saja dibersihkannya.

#### **II.1.4 Perendaman**

Setelah dilakukan pemecahan, produsen tempe Malang melakukan perendaman, tahapan ini merupakan tahapan yang cukup penting karena selama proses perendaman, biji mengalami proses hidrasi, sehingga kadar air biji naik sebesar kira-kira dua kali kadar air semula, yaitu mencapai 62-65 %. Proses perendaman memberi kesempatan pertumbuhan bakteri-bakteri asam laktat sehingga terjadi penurunan pH dalam biji menjadi sekitar 4,5 – 5,3 (Hidayat, 2006). Penurunan pH kedelai tidak menghambat pertumbuhan jamur tempe, tetapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri kontaminan yang bersifat pembusuk (Cahyadi, 2006). Selain itu, peningkatan kualitas organoleptiknya juga terjadi dengan terbentuknya aroma dan rasa yang unik (Dwinaningsih, 2010). Hessseltine, *et.al* (1963) dalam Dwinaningsih (2010) menjelaskan bahwa dalam biji kedelai terdapat komponen yang stabil terhadap pemanasan dan larut dalam air bersifat menghambat pertumbuhan *Rhizopus oligosporus*, dan juga dapat menghambat aktivitas enzim proteolitik dari jamur tersebut. Penemuan ini menunjukkan bahwa perendaman dan pencucian sangat penting untuk menghilangkan komponen tersebut. Perendaman ini dilakukan selama 1x24 jam.

#### **II.1.4 Peragian (Inokulasi)**

Proses peragian merupakan proses penting yang harus diperhatikan, pada proses inilah jamur atau ragi diinokulasikan pada kedelai yang sudah dibersihkan. Proses peragian pada tempe Malang dilakukan pada malam hari, pada saat kacang kedelai-kering setelah perendaman, kedelai dipindahkan ke dalam wadah yang berbentuk



cekung. Kemudian dimasukkan ragi tempe dan tepung sagu ke dalam kedelai, dan diaduk hingga merata. Pemberian ragi dilakukan dengan mencampurkan ragi pada kedelai sambil diaduk hingga merata dengan perbandingan 1000 : 1 (1 kg kedelai menggunakan 1 gram ragi). Kedelai yang telah dicampurkan dengan ragi kemudian dibungkus dengan menggunakan plastik bening atau daun pisang kemudian disimpan dalam suhu ruangan. Menurut Fauzan (2005), inokulasi dilakukan dengan penambahan inokulum, yaitu ragi tempe atau laru. Inokulasi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu (1) penebaran inokulum pada permukaan kacang kedelai yang sudah dingin dan dikeringkan, lalu dicampur merata sebelum pembungkusan; atau (2) inokulum dapat dicampurkan langsung pada saat perendaman, dibiarkan beberapa lama, lalu dikeringkan. Menurut Astuti (2009), inokulum yang ditambahkan sebanyak 0,5% dari berat bahan baku.

#### **II.1.5 Inkubasi (Pemeraman)**

Proses Inkubasi atau pemeraman merupakan proses inti dari pembuatan tempe dimana terjadi proses fermentasi di dalamnya. Selama inkubasi terjadi proses fermentasi yang menyebabkan perubahan komponen-komponen dalam biji kedelai. Pada proses ini kapang tumbuh pada permukaan dan menembus biji-biji kedelai, menyatukannya menjadi tempe (Hidayat, 2006). Persyaratan tempat yang dipergunakan untuk inkubasi kedelai adalah kelembaban, kebutuhan oksigen dan suhu yang sesuai dengan pertumbuhan jamur (Hidayat, dkk. 2006). Oksigen diperlukan dalam pertumbuhan kapang, tetapi bila berlebihan dan tak seimbang dengan pembuangnya (panas yang ditimbulkan menjadi lebih besar dari pada panas yang dibuang dari bungkus). Jika hal ini terjadi maka suhu kedelai saat fermentasi menjadi tinggi dan mengakibatkan kapangnya mati (Hayati, 2009).

#### **II.3 Kandungan Gizi pada Tempe**

Kandungan dan nilai gizi yang ada pada tempe lebih baik daripada kandungan gizi yang ada pada kedelai dan produk hasil turunan kedelai lainnya. Dari banyak penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa tempe mengandung elemen yang berguna dalam tubuh diantaranya: asam lemak, vitamin, mineral dan antioksidan.

### **II.2.1 Asam Lemak**

Salah satu tujuan dari proses fermentasi pada tempe yaitu meningkatkan derajat ketidakjenuhan terhadap lemak, dalam proses fermentasi tempe, terjadi proses degradasi lemak yang dilakukan oleh mikroba, sehingga dapat dibebaskan menjadi asam lemak, komponen utama dari asam lemak trigliserida tempe adalah asam lemak tak jenuh yang merupakan asam lemak esensial (Triwibowo dan Ariviani, 2016). Dengan proses fermentasi ini asam lemak yang tidak jenuh pada tempe akan meningkat jumlahnya. Asam lemak yang tidak jenuh ini dapat menetralkan efek negatif dari sterol karena dapat menurunkan kolesterol serum dalam tubuh (Astawan, 2008).

### **II.2.2 Asam Amino**

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein. Asam amino terbagi menjadi dua kelompok besar yakni asam amino esensial dan non-esensial. Asam amino termasuk golongan senyawa yang paling banyak dipelajari karena salah satu fungsinya sangat penting dalam organisme, yaitu sebagai penyusun protein. Pada asam amino, gugus amino terikat pada atom karbon yang berdekatan dengan gugus karboksil. Penelitian Utari dkk (2011) menjelaskan bahwa asam amino arginin yang meningkat hampir dua kali lipat pada saat pembuatan tempe, memiliki manfaat yang sangat besar untuk kesehatan terutama dalam memperbaiki profil lipid dan diabetes mellitus. Setelah fermentasi, terjadi peningkatan asam amino bebas sebesar 7,3% hingga 30%. Hal tersebut karena selama fermentasi, *Rhizopus* dan bakteri akan menghasilkan enzim protease, sehingga protein diurai menjadi asam amino bebas, *R. oligosporus* akan menghidrolisis protein menjadi asam amino dan peptida (Utari, 2011).

### **II.2.3 Vitamin**

Tempe memiliki banyak kandungan vitamin yang berguna untuk tubuh manusia. Menurut Dwinaningsih (2010) vitamin yang terdapat pada tempe tergolong ke dalam dua kelompok yakni vitamin yang larut dalam air (vitamin B kompleks) dan vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E dan K). Vitamin B yang terdapat

pada tempe cukup banyak antara lain B1, B2, Asam nikotinat, asam pantotenat, vitamin B6 dan B12. Tempe merupakan satu-satunya sumber nabati yang mengandung B12, vitamin B12 ini memiliki kadar yang cukup tinggi pada tempe yakni berkisar antara 1,5 hingga 6,3 mikrogram per 100 gram tempe kering dengan jumlah tersebut kebutuhan vitamin B12 pada tubuh sudah tercukupi. Dalam proses fermentasi pada tempe terjadi peningkatan vitamin B12 hingga mencapai 33 kali lipat dibandingkan dengan kedelai yang belum difermentasi. Selain B12, Vitamin lainnya juga mengalami peningkatan adalah vitamin B2 yang meningkat sebanyak 8-47 kali, vitamin B6 meningkat 4-14 kali, biotin 2-3 kali, asam folat 4-5 kali dan asam pantotenat meningkat sebanyak 2 kali lipat dari kandungan kedelai sebelum difermentasi. Vitamin-vitamin B diatas tidak dihasilkan karena adanya *Rhizopus*, melainkan karena adanya kontaminasi *Klebsiella pneumonia* dan *Citrobacter freundii* (Keuth and Bisping, 1994 dalam Dwinaningsih, 2010).

#### **II.2.4 Mineral**

*Rhizopus* menghasilkan enzim fitase yang akan menguraikan asam fitat yang berfungsi sebagai pengikat mineral menjadi fosfor dan inositol dengan terjadinya penguraian asam fitat mineral-mineral tertentu (Besi, Kalsium, Magnesium dan Zink) menjadi lebih tersedia untuk tubuh (Sangadji, 2004).

#### **II.4 Proses Fermentasi pada tempe**

Menurut Hidayat (2006) Proses fermentasi tempe, dibedakan menjadi 3 fase yakni fase pertumbuhan cepat, transisi dan fase pembusukan, hal ini juga terjadi pada tempe Malang:

- a. Fase pertumbuhan cepat (0 – 30 jam pertama fermentasi) pada fase ini terjadi kenaikan jumlah asam lemak bebas dan kenaikan suhu. Pada fase ini pertumbuhan jamur sangat tinggi hal tersebut dibuktikan dengan tumbuhnya miselia pada permukaan biji yang semakin lama semakin berwarna putih.
- b. Fase Transisi (30 – 50 jam masa fermentasi), fase ini merupakan fase optimal fermentasi tempe, fase ini terjadi penurunan suhu dan jumlah asam lemak yang dibebaskan. pertumbuhan jamur pada fase ini relatif tetap hanya mengalami sedikit penambahan dengan tekstur tempe yang lebih kompak.

- c. Fase Pembusukan (50 – 9 jam masa fermentasi) fase ini disebut fase fermentasi lanjut dan terjadi perubahan rasa karena adanya degradasi protein lanjut yang akan membentuk amonia. Pada fase ini terjadi kenaikan jumlah bakteri dan jumlah asam lemak bebas sementara pertumbuhan jamur menurun.

## II.5 *Rhizopus Oligosporus*

Proses fermentasi tempe merupakan suatu proses yang mengubah substrat kedelai menjadi produk tempe yang kandungannya mudah dicerna oleh tubuh manusia dengan menggunakan bantuan dari mikroba. Produksi tempe dilakukan dengan beberapa teknik peragian, pada tempe tradisional digunakan peragian dengan usar menggunakan daun waru atau laru yang menjadi reservoir *Rhizopus Oryzae*, *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus microsporus*. Pada tahun 1978 RAPRIMA diperkenalkan sebagai ragi instan oleh LIPI.

Mikroba utama dalam proses fermentasi ini adalah *Rhizopus oligosporus*. Selain *R. Oligosporus* mikroba lain juga ditemukan pada saat fermentasi. Feng *et al* (2009) mengatakan bahwa bakteri dan ragi dapat tumbuh dan berkembang secara spontan sebagai bakteri pengurai serat dari kedelai, tanah dan air. *Rhizoporous oligosporus* merupakan jamur filamentous, jamur ini mampu mengubah protein kedelai menjadi asam amino yang membuat tempe menjadi mudah dicerna oleh manusia. *Rhizopus oligosporus* menghasilkan enzim-enzim protease. Perombakan senyawa kompleks protein menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana adalah penting dalam fermentasi tempe. *R. oligosporus* bersifat saprofit dan mampu memproduksi asam lemak omega 3 rantai panjang khususnya linoleat. menurut Pelezar dan Chan (1986) struktur morfologi kapang tersusun dalam dua bagian yaitu miselium dan spora.

## **Bab III Metodologi Penelitian**

### **III.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian**

Waktu yang dibutuhkan untuk menyelesaikan penelitian ini sekitar 6 bulan dari Bulan Desember 2016 sampai Bulan Mei 2017 yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung

### **III.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah *autoclave*, cawan *petridish*, labu *enlenmayer* (100, 250, 500, 1000 ml), *laminar air flow*, timbangan elektrik, *vortex stirrer*, tabung reaksi, gelas ukur, beaker glass, botol *schott*, mikro pipet 100-1000  $\mu$ l, cawan petri, mistar, jarum ose, bunsen, plastik tahan panas, gelas L, wadah plastik ukuran 16 oz kertas tisu, tabung Falcon, mikropipet 100 – 1000  $\mu$ l, gelas kimia, spatula, pemanas listrik, dan mikroskop.

Bahan yang digunakan adalah tempe yang berasal dari PRIMKOPTI “Bangkit Usaha” Malang yakni tempe dengan starter campuran *backslope* dengan *raprima*. Bahan lainnya yang harus disiapkan adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Nutrient Agar* (NA), alkohol 96%, alkohol 70 %, NaOCl 4%, NaCl Fisiologis, akuades steril, spirtus, zat warna kristal violet, safranin, larutan lugol dan minyak imersi.

### **III.3 Metode Penelitian**

#### **III.3.1 Isolasi Mikroba pada Tempe**

Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode *spread plate* (metode cawan sebar). Tempe Malang sebanyak 1 gram yang telah di dapat dilarutkan dalam 99 ml larutan Fisiologis NaCl setelah tercampur dilakukan pengenceran bertahap kemudian diinokulasikan ke dalam medium PDA untuk Jamur dan NA untuk Bakteri. Kemudian diinkubasikan selama 12 jam sampai terbentuk koloni. Sampel tempe diambil dari PRIMKOPTI Bangkit Usaha Malang dengan waktu penyimpanan yang berbeda-beda mulai dari 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam hingga 60 jam masa penyimpanan hal tersebut dilakukan untuk mengetahui apakah waktu penyimpanan

berpengaruh besar terhadap jumlah dan diversitas bakteri yang ada pada tempe selama proses fermentasi. Dalam proses pembuatan tempe, tempe dinyatakan matang pada waktu 48 jam sehingga pembagian T (Waktu) dalam pengambilan sampel dibagi menjadi 6 interval/12 jam agar lebih representatif. Berikut waktu-waktu yang digunakan untuk pengambilan sampel tempe:

- $T_0$  adalah 0 jam masa penyimpanan
- $T_1$  adalah 12 jam masa penyimpanan
- $T_2$  adalah 24 jam masa penyimpanan
- $T_3$  adalah 36 jam masa penyimpanan
- $T_4$  adalah 48 jam masa penyimpanan
- $T_5$  adalah 60 jam masa penyimpanan

### **III.3.2. Pemurnian Mikroba**

Pemurnian (*purification*) bertujuan agar diperoleh biakan murni yang diinginkan tanpa ada kontaminan dari mikroba lain. Pemilihan koloni mikroba yang dimurnikan berdasarkan perbedaan kenampakan morfologi koloni, baik dari segi warna, elevasi, tekstur permukaan, garis garis radial, lingkaran konsentris maupun tetes eksudat. Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan cara memindahkan bakteri menggunakan metode garis yang kemudian ditumbuhkan pada media NA, sedangkan pada pemurnian isolat fungi menggunakan metode titik dalam proses pemindahan ke dalam media PDA (Feng et al 2009).

### **III.3.3 Identifikasi Mikroba**

Proses identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan terhadap organisme tersebut baik secara morfologi maupun fisiologi. Pengamatan secara morfologi dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dapat dilakukan dengan mengamati bentuk koloni, tepi koloni, elevasi koloni. Sedangkan pengamatan secara mikroskopis dapat dilakukan dengan mengamati bentuk sel bakteri, ukuran bakteri, dan pewarnaan gram (Cappucino and Sherman, 1987). Pewarnaan gram terlebih dahulu, pewarnaan ini dilakukan pertama dengan membuat pulasan isolat bakteri. Dilakukan fiksasi di atas pembakaran spirtus, kemudian di teteskan zat warna kristal violet lalu diamkan selama 60 detik

kemudian dicuci dengan air mengalir, setelah itu tetesi dengan cairan Lugol selama 60 detik, cuci dengan air mengalir. Setelah itu tetesi dengan Alkohol 96% (diamkan selama 45 detik) dan cuci dengan air mengalir. Setelah ditetesi alkohol, teteskan cairan safranin dan diamkan selama 60 detik dan cuci dengan air mengalir. Setelah seluruh cairan sudah ditetesi kering anginkan selama beberapa detik dan amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Gunakan minyak imersi jika sel bakteri tersebut berwarna ungu itu artinya bakteri tersebut termasuk jenis bakteri gram positif, sedangkan jika sel bakterinya berwarna merah berarti bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif. Tujuan dari pengecatan ini adalah untuk mengetahui jenis gram bakteri (Subandi, 2012). Setelah dilakukan pewarnaan dilihat bentuk bakteri apakah berbentuk basil, coccus, atau spiral. Kemudian dilakukan sekuensing untuk melihat spesies dari bakteri tersebut

#### **III.3.4 Sekuensing (16 rRNA dan ITS) dan penyusunan Filogenetik**

Identifikasi mikroorganisme dapat dilakukan dengan berbagai cara salah satunya dengan metode sekuensing. Metode sekuensing yang dilakukan untuk bakteri salah satunya dengan sekuensing 16 rRNA sedangkan jamur dengan sekuensing ITS. Analisis sekuensing gen 16S rRNA (16S *Ribosomal Ribonucleic Acid*) sering disebut juga sebagai 16S rDNA (16S *Ribosomal Deoxyribose Nucleic Acid*). Istilah 16S rRNA dinilai lebih tepat sebagai gen pengkode RNA. Dengan metode ini setiap organisme yang memiliki jarak kekerabatan tertentu dapat disejajarkan sehingga lebih mudah untuk menentukan perbedaan dalam sekuens yang menjadi ciri khas organisme tersebut.

Identifikasi molekuler jamur dapat dilakukan menggunakan daerah ITS (*Internal Transcribed Spacer*) ribosomal DNA. Isolasi DNA dan amplifikasi PCR pada daerah ITS rDNA merupakan tahap awal yang perlu dilakukan dalam identifikasi molekuler. Sekuens DNA pada daerah ITS rDNA berevolusi lebih cepat dibandingkan daerah gen lainnya sehingga akan bervariasi pada setiap spesies (Gelfand and White, 1990). Hal tersebut dapat berpengaruh dalam identifikasi spesies dengan membandingkan homologi sekuens DNA daerah ITS yang dimiliki setiap fungi.

Tahap sekuensing dilakukan dengan cara mengirimkan isolat mikroba ke Macrogen.Inc, Seoul Korea, untuk kemudian diproses dengan bioinformatika

- a. Pembentukan *Reserve Complement* dan *Sekuens Consensus*.
- b. Melakukan BLAST pada laman (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),
- c. Setelah hasil BLAST terkumpul, dilakukan alignment dengan program ClustalX untuk mendapatkan format nexus/Philips/clustal.
- d. Proses alignment untuk pembentukan filogenetik dilakukan dengan software MEGA7 dengan program MUSCLE.
- e. Menyusun pohon filogenetik dengan menggunakan algoritma *Maximum-Likelihood*, dengan nilai *bootstrap* 1000 kali pengulangan.

### **III.3.5 Identifikasi Jamur**

Setiap isolat dibuat dalam slide culture untuk mengamati struktur jamur secara jelas. Cara pembuatannya adalah dengan menyiapkan cawan petri yang dialas dengan kertas isap, gelas objek dan batang penahan gelas objek yang telah steril. Cairkan medium agar PDA kemudian dituangkan ke dalam cawan petri sekitar 0,5 cm. Apabila agar membeku dipotong kotak dengan ukuran 1x1 cm dan dipindahkan ke tengah gelas objek dalam cawan petri dengan pisau yang sudah steril. Isolat kemudian diinokulasikan pada empat titik kemudian ditutup dengan kaca penutup. Kemudian akuades steril diteteskan secukupnya pada kertas isap dalam cawan hal tersebut dilakukan untuk menjaga kelembaban dalam cawan petri. Cawan petri kemudian ditutup dan dibungkus. Setiap slide culture diinkubasikan selama 5-7 hari kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x. Dilihat bagaimana struktur miselium, sporanya dan badan penghasil sporanya. Setelah diamati dibandingkan berdasarkan kunci determinasi Fungi (Samson *et al*, 1996).

### **III.3.6 Penghitungan Lempeng Total (ALT) Bakteri dan Jamur**

Perhitungan koloni mikroba dengan metode ALT ini dilakukan dengan menggunakan media NA untuk bakteri dan media PDA untuk fungi dan ragi. Sampel yang digunakan tempe yang berasal dari Malang sebanyak 1.5 gram sampel diambil kemudian dihaluskan dengan mortar dan alu, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan pelarutnya NaCl 0,85%, suspensi kemudian



disaring dengan kasa steril, setelah terpisah dengan endapannya, filtrat penyaringan diencerkan dengan bertingkat hingga pengenceran  $10^7$ . Hasil pengenceran digunakan sebagai sampel penghitungan ALT. Perhitungan ALT bakteri dilakukan pada hasil pengenceran  $10^5$ ,  $10^6$ , dan  $10^7$  sedangkan untuk fungi dan ragi digunakan pengenceran  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  sebanyak 100  $\mu\text{L}$  sampel diinokulasi dengan metode spread pada media *Nutrient Agar* untuk bakteri dan *Potato Dextrose Agar* untuk fungi dan ragi.

### III.3.7 Uji Asam Amino

Asam amino memiliki peran sentral baik sebagai *building blocks* (monomer) protein dan sebagai perantara dalam metabolisme. Sifat kimia dari asam amino protein menentukan aktivitas biologis protein. Dilakukan pengujian asam amino dengan mengirimkan sampel tempe ke PT Saraswanti Indo Genetech untuk dilihat apakah sampel tempe yang diambil mengandung asam amino esensial dan non esensial. Teknik analisis yang digunakan dalam uji asam amino ini menggunakan metode UPLC. UPLC (*Ultra-Performance Liquid Chromatography*) atau sering dikenal dengan “Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi” merupakan metode HPLC yang dimodifikasi yang terdiri dari tekanan tinggi dan partikel yang berukuran kecil (kurang dari 2  $\mu\text{m}$ ). Analisis asam amino ini dilakukan dengan kromatografi cair yang menggunakan resin penukar kation sebagai fase diam. Metode UPLC ditunjang oleh peralatan yang baik dan modern dan instrumentasi dari metode UPLC ini adalah sampel injeksi, kolom UPLC dan detector UPLC

1. Penggunaan sampel injektor fungsinya untuk menambah ketepatan dalam pengukuran volume kecil larutan yang mengandung sampel dalam fase gerak. Injeksi harus dilakukan secara reproduktif dan akurat. Katup injeksi konvensional dapat diprogram atau manual dan untuk menjaga kolom dari ketidakstabilan tekanan ekstrim, proses injeksi harus relatif bebas pulsa. Untuk mengurangi potensi penyebaran pita. Diperlukan waktu siklus injeksi cepat untuk sepenuhnya memanfaatkan kecepatan yang diberikan oleh UPLC. Untuk meningkatkan sensitivitas, suntikan volume rendah dengan minimal akumulasi yang diperlukan. Volume sampel dalam UPLC biasanya 2-5  $\mu\text{L}$ . Saat ini, pendekatan injeksi langsung digunakan untuk sampel biologis.

2. Kolom UPLC, Teknologi partikel Hybrid Permukaan Hibrida [CSH], Teknologi partikel Ethylene Bridged Hybrid [BEH], Teknologi partikel High Strength Silica [HSS] dan Teknologi Pemisahan Peptida (PST).

### **III.3.8 Uji Organoleptik atau Uji Deskriptif**

Uji organoleptik adalah pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra akan sifat-sifat benda karena adanya rangsangan yang diterima alat indra yang berasal dari benda tersebut. Rangsangan yang dapat diindra dapat bersifat mekanis (tekanan, tusukan), bersifat fisis (dingin, panas, sinar, warna), sifat kimia (bau, aroma, rasa) (Erungan, 2005).

Pengujian organoleptik tempe Malang ini dilakukan dengan menggunakan metode uji deskriptif. Uji deskriptif ini merupakan uji yang digunakan untuk mendapatkan gambaran utuh mengenai karakteristik suatu produk.

#### **a. Persiapan Uji Organoleptik**

##### **- Panelis**

Untuk melaksanakan penilaian organoleptik diperlukan panel. Panel ini terdiri dari orang atau kelompok yang bertugas menilai sifat atau mutu komoditi berdasarkan kesan subjektif yang bersifat agak terlatih. Panelis pada pengujian ini sebanyak 20 orang. Panelis yang digunakan merupakan Mahasiswa Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran. Mereka sudah mempelajari materi mengenai pengujian organoleptik yang akan dilakukan pada masa perkuliahan sebelumnya. Syarat panelis yang mengikuti pengujian sifat organoleptik dan daya terima yaitu: sehat, tidak dalam keadaan sakit, tidak buta warna, tidak dalam keadaan lapar dan bersedia menilai.

##### **- Persiapan Laboratorium Pengujian**

Untuk melakukan uji organoleptik dibutuhkan beberapa ruang yang terdiri dari bagian persiapan (dapur), ruang pencicip dan ruang tunggu atau ruang diskusi. Ruang pencicip mempunyai persyaratan yang lebih banyak, yaitu ruangan yang terisolasi dan kedap suara sehingga dapat

dihindarkan komunikasi antar panelis, suhu ruang yang cukup sejuk (20-25oC) dengan kelembaban 65-70% dan mempunyai sumber cahaya yang baik dan netral, karena cahaya dapat mempengaruhi warna komoditi yang diuji. Ruang isolasi dapat dibuat dengan penyekat permanen atau penyekat sementara. Fasilitas pengujian ini sebaiknya dilengkapi dengan washtafel.

- Tahap pelaksanaan

Tahap pelaksanaan ini dimulai dengan mempersilahkan panelis duduk ditempat yang telah disediakan, kemudian dibagikan seluruh tempe kepada seluruh panelis dalam jumlah yang sama, kemudian panelis memberikan penilaian mereka terhadap warna, penampilan dan rasa tempe tersebut dengan memberikan nilai pada kertas yang telah dibagikan kepada masing-masing panelis adapun prosedur pelaksanaannya adalah sebagai berikut:

- a. Diberikan penjelasan tentang cara penilaian.
- b. Dibagikan formulir yang telah disediakan.
- c. Disediakan bahan yang akan diujikan yang sudah diberi kode pada masing-masing sampel.
- d. Panelis menilai sampel yang disajikan dengan kriteria penilaian.

Hasil dari penilaian tersebut kemudian dikalkulasikan dan dibuat nilai rata-rata sehingga didapat nilai akhir.

## Bab IV Hasil dan Pembahasan

### IV.1 Perhitungan Angka Lempeng Total Mikroba (Bakteri, Fungi dan Ragi)

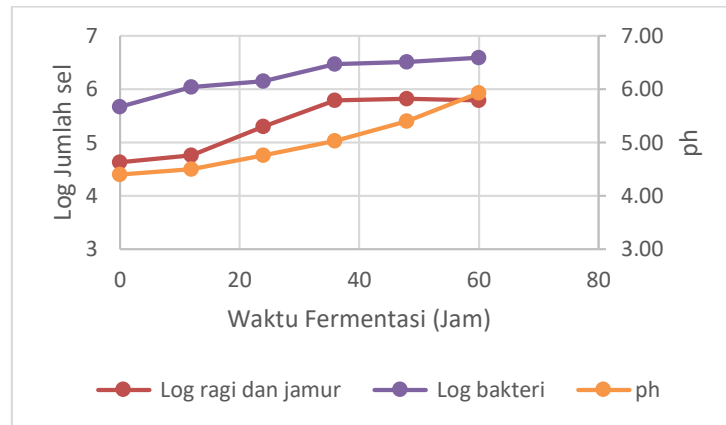
Setelah inkubasi selama 48 jam tampak koloni dan spora mikroba yang tumbuh pada media, kemudian dilakukan penghitungan. Hasil penghitungan Nilai rata-rata angka lempeng Total bakteri, ragi, dan jamur dapat dilihat pada tabel IV.1.

Tabel IV.1 Perhitungan Angka Lempeng Total Jamur dan Bakteri , dan pH.

Mikroba	Waktu Fermentasi (jam)	Angka		
		Lempeng Total (CFU/g)	jumlah log	pH
Jamur	0	$4,2 \times 10^4$	4.63	4.40
	12	$5,0 \times 10^4$	4.76	4.50
	24	$2,0 \times 10^5$	5.3	4.76
	36	$6,2 \times 10^5$	5.79	5.03
	48	$6,5 \times 10^5$	5.82	5.40
	60	$6,0 \times 10^5$	5.79	5.93
Bakteri	0	$4,6 \times 10^5$	5.67	4.40
	12	$1,0 \times 10^6$	6.04	4.50
	24	$1,4 \times 10^6$	6.15	4.76
	36	$2,9 \times 10^6$	6.47	5.03
	48	$3,2 \times 10^6$	6.51	5.40
	60	$3,9 \times 10^6$	6.59	5.93

Dari tabel IV.1 Perhitungan bakteri, jamur, dan ragi pada tempe Malang menunjukkan pada awal fermentasi (0 jam) terus mengalami peningkatan, dimana kelimpahan jamur dan ragi pada T0 adalah  $4,2 \times 10^4$  CFU/gram. Sedangkan bakteri adalah  $4,6 \times 10^5$ . Pada awal fermentasi pH kedelai rendah yaitu sekitar 4.40, pH rendah ini bertindak sebagai penghambat pertumbuhan bakteri akan tetapi membantu pertumbuhan jamur pada awal proses fermentasi. Jumlah tertinggi pada Jamur dan ragi terjadi pada jam ke- 36 yaitu mencapai  $6,2 \times 10^5$  CFU/gram, sedangkan laju pertumbuhan jamur dan ragi tercepat selama fermentasi terjadi pada T1 menuju T2 yaitu sebesar 0.10 CFU/jam dengan kelimpahan jamur dan ragi mencapai  $2,0 \times 10^5$  CFU/jam. Sedangkan perhitungan bakteri pada T0 (0 jam)

sebesar  $4,0 \times 10^5$  CFU/gram jumlah bakteri terus mengalami peningkatan hingga akhir fermentasi dimana laju pertumbuhan tertinggi terjadi pada T2 yaitu sebanyak 0,06 CFU/jam dengan kelimpahannya sebesar  $1,4 \times 10^6$  CFU/Jam .

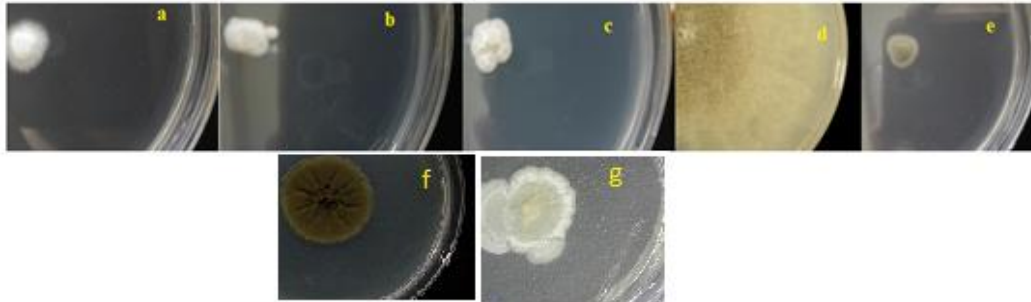


Gambar IV.1 Grafik Pertumbuhan jumlah total fungi, ragi dan bakteri selama proses fermentasi pada tempe Malang

Pada jam ke 36 menuju ke 48 laju pertumbuhan jamur dan ragi pada tempe Malang mulai mengalami penurunan dari 0,06 CFU/jam menjadi 0,01 CFU /jam, sedangkan bakteri pada T5 mulai mengalami peningkatan laju pertumbuhan dari 0,02 CFU/jam menjadi 0,25 CFU/jam, hal tersebut selaras dengan pernyataan Sarwono (2002) yang mengatakan bahwa setelah 2x24 jam kapang tempe akan mati sehingga selanjutnya yang akan tumbuh adalah bakteri atau mikroba perombak protein yang akan mengakibatkan tempe lebih cepat membusuk, sehingga waktu terbaik untuk mengkonsumsi tempe adalah pada jam ke 36-50 jam dimana pada waktu ini tempe mengalami fermentasi yang optimal, terjadi penurunan suhu, jumlah asam lemak yang dibebaskan dan pertumbuhan jamur relatif tetap dan tekstur lebih kompak. Pada tempe Malang Sama halnya dengan tempe pada umumnya waktu terbaik para produsen memasarkan tempennya adalah pada 2x24 jam. Pertumbuhan jamur dan ragi berbanding terbalik dengan pH, dimana Pada gambar IV.5 pH pada tempe Malang semakin lama mengalami peningkatan, sementara laju pertumbuhan jamur dan ragi semakin lama mengalami penurunan, hal tersebut terjadi karena semakin tinggi pH (terutama diatas 7,00) tidak sesuai dengan pertumbuhan jamur (Hesseltine, *et.al* 1983),

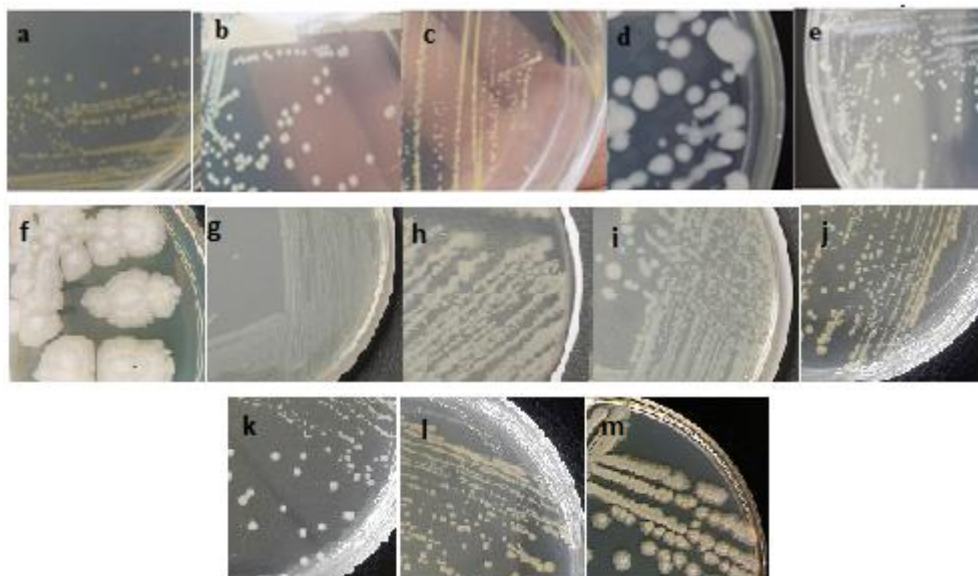
#### IV.2 Hasil Identifikasi Mikroba

Isolasi yang dilakukan pada tempe Malang yang setiap usia fermentasi 12 jam menghasilkan 20 Isolat . Jumlah jamur yang berhasil di idoslasi sebanyak 5 isolat sedangkan ragi sebanyak 2 isolat (Gambar IV.2).



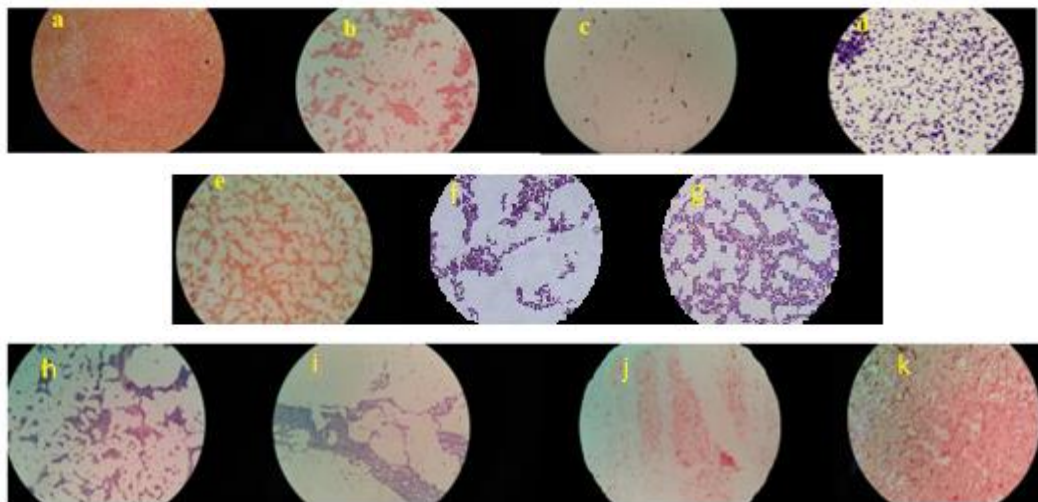
Gambar IV.2 Isolat Jamur dan Ragi a. *Daedaleopsis*; b. *Trichosporon* c. *Simplicilium*; d. *Rhizopus*; e. *Aspergillus*; f. *Cladosporium*; g. *Pichia*

Jumlah total bakteri yang berhasil di isolasi sebanyak 13 seperti yang terlihat pada Gambar IV.3 di bawah ini.



Gambar IV.3 a. Isolat Bakteri *Gluconobacter*; b. *Pseudomonas*; c. *Janibacter*; d. *Bacillus ceureus*; e. *Lysinimonas*; f. *Actinomycet*; g. *Citrobacter*; h. *Bacillus* sp i. *Klebsiella*; j. *Streptococcus*; k. *Stafilococcus*; l. *Streptococcus*; m. *Bacillus* sp

Setelah dilakukan isolasi dilakukan juga pewarnaan gram pada bakteri dan identifikasi mikroba dengan melihat morfologi dan bentuk dari mikroba secara mikroskopis seperti yang terlihat pada gambar IV.4.



Gambar IV.4 Penampakan bakteri pada mikroskop a. *Klebsiella*; b. *Pseudomonas*; c. *Janibacter*; d. *Streptococcus*; e. *Gluconobacter*; f. *Bacillus cereus*; g. *Stafilococcus*; i. *Streptococcus*; j. *Bacillus k.*; l. *Citobacter*

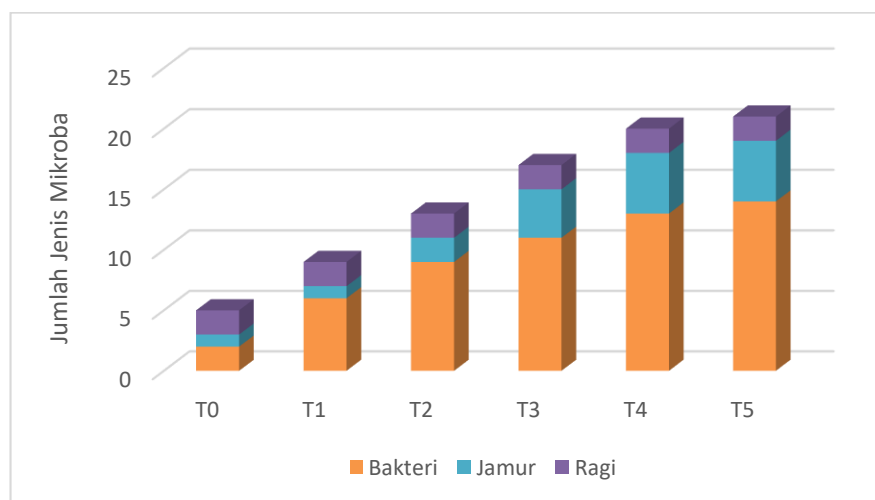
Dari 20 Isolat 8 diantaranya lebih mudah diidentifikasi hingga ke tahap genus sehingga 12 lainnya dikirim ke macrogen untuk diidentifikasi lebih lanjut. Hasil sekuensing (16 rRNA dan ITS) menunjukkan beberapa mikroba yang ada pada tempe Malang adalah *Klebsiella sp*, *Bacillus cereus*, *Janibacter sp*, *Gluconobacter sp*, *Bacillus sp*, *Lysinimonas sp*, *Pseudomonas sp*, *Cladosporium sp*, *Trichosporon asahi*, *Simplicilium sp*, *Daedaleopsis sp*. Selain mikroba diatas ditemukan juga mikroba lain yang diidentifikasi dengan melihat morfologi mikroba secara mikroskopis diantaranya adalah *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Aspergillus*, *Actinomyces*, *Bacillus*, dan *Streptococcus*.

Tabel.IV.2 Hasil Identifikasi Mikroba pada tempe Malang

No.	Isolat	Jenis	Hasil Identifikasi
1	M1	Bakteri	<i>Bacillus cereus</i>
2	M2	Bakteri	<i>Janibacter sp</i>
3	M3	Bakteri	<i>Gluconobacter</i>
4	M4	Bakteri	<i>Bacillus sp</i>
5	M5	Bakteri	<i>Lysinimonas sp</i>
6	M6	Bakteri	<i>Pseudomonas sp</i>
7	M7	Bakteri	<i>Bacillus sp</i>
8	M8	Bakteri	<i>Klebsiella sp</i>
9	M9	Jamur	<i>Cladosporium sp</i>
10	M10	Ragi	<i>Trichosporon sp</i>
11	M11	Jamur	<i>Simplicilium sp</i>
12	M12	Jamur	<i>Daedaleopsis sp</i>

1	M13	Ragi	<i>Pichia</i>
2	M14	Jamur	<i>Rhizopus</i>
3	M15	Bakteri	<i>Citrobacter</i>
4	M16	Bakteri	<i>Streptococcus</i>
5	M17	Bakteri	<i>Stafilococcus</i>
6	M18	Bakteri	<i>Actinomyces</i>
7	M19	Jamur	<i>Streptococcus</i>
8	M20	Jamur	<i>Aspergillus</i>

Setiap 12 jam tempe diisolasi untuk melihat mikroba yang muncul, sehingga setiap 12 jam terdapat perbedaan jenis mikroba pada tempe Malang. Jumlah jenis mikroba pada setiap 12 jam dapat dilihat pada Gambar IV. 5



Gambar IV.5 Jumlah Jenis Mikroba pada saat Fermentasi tempe Malang

Setiap pertambahan waktu jumlah mikroba semakin bertambah, terutama bakteri dan jamur. pada T0 bakteri dan jamur tumbuh dengan jumlah jenis yang hampir sama, sedangkan pada T1, T2, T3, T4 dan T5 bakteri muncul lebih banyak. Untuk melihat pertumbuhan setiap bakteri dapat dilihat pada kelimpahan mikroba tempe Malang pada Tabel IV.3

Tabel IV.3 Hasil Identifikasi dan Kelimpahan Bakteri, Jamur, dan Ragi

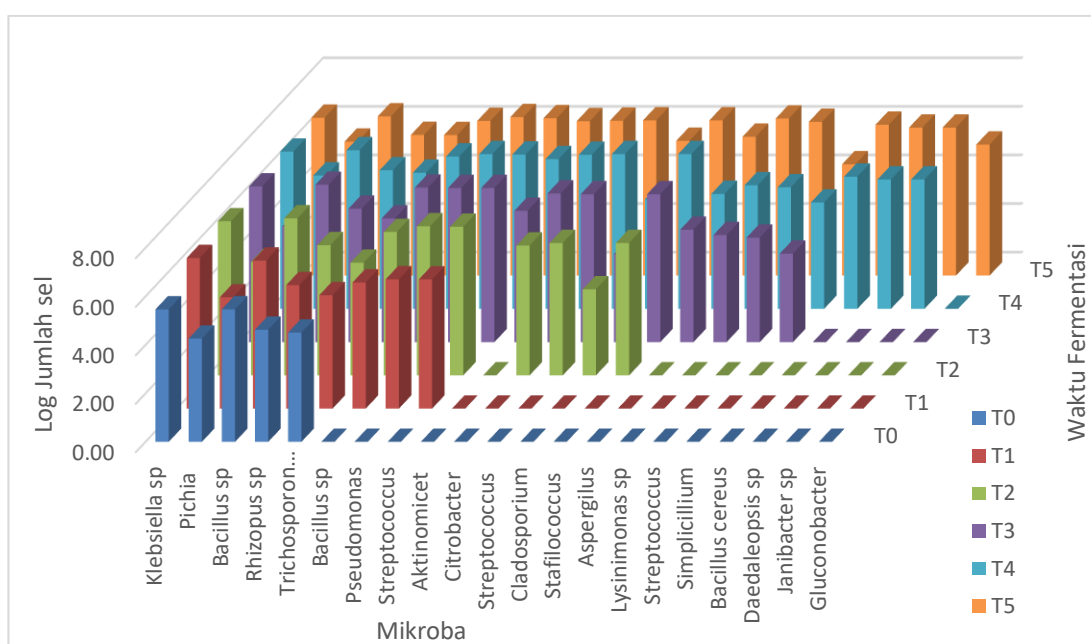
Waktu	Isolat	Mikroba	Keterangan Identifikasi	Kelimpahan pada saat T5 (cfu/g)
-------	--------	---------	-------------------------	---------------------------------



0	M2T0 2	<i>Klebsiella sp</i>	16 rRNA	2,0x10 <sup>5</sup>
	M2T0 4	<i>Pichia</i>	-	1,0x10 <sup>4</sup>
	M2T0 5	<i>Bacillus subtilis</i>	16 rRNA	2,9x10 <sup>5</sup>
	M2T0 6	<i>Rhizopus sp</i>	-	4,0x10 <sup>4</sup>
	M2T0 7	<i>Trichosporon sp</i>	ITS	3,2x10 <sup>4</sup>
12	M2T1 6	<i>Pseudomonas</i>	16 rRNA	2,1x10 <sup>5</sup>
	M2T1 4	<i>Streptococcus</i>	-	2,1x10 <sup>4</sup>
	M2T1 5	<i>Actinomicet</i>	-	2,0 x10 <sup>4</sup>
	M2T1 2	<i>Bacillus sp</i>	16 rRNA	2,0 x10 <sup>4</sup>
	M2T1 6	<i>Pseudomonas</i>	16 rRNA	2,1x10 <sup>5</sup>
24	M2T1 4	<i>Streptococcus</i>	-	1,3x10 <sup>5</sup>
	M2T1 5	<i>Actinomicet</i>	-	2,2 x10 <sup>5</sup>
	M2T1 2	<i>Bacillus sp</i>	16 rRNA	2,1 x10 <sup>5</sup>
	M2T2 1	<i>Cladosporium</i>	ITS	4,2x10 <sup>3</sup>
	M2T2 6	<i>Citrobacter</i>	-	2,2x10 <sup>4</sup>
	M2T2 3	<i>Streptococcus</i>	-	1,2 x10 <sup>4</sup>
	M2T2 7	<i>Stafilococcus</i>	-	1,5 x10 <sup>4</sup>
36	M2T3 4	<i>Aspergilus</i>	-	1,3x10 <sup>5</sup>
	M2T3 2	<i>Lysinimonas sp</i>	16 rRNA	1,3x10 <sup>5</sup>
	M2T3 3	<i>Streptococcus</i>	-	1,2x10 <sup>5</sup>
	M2T3 6	<i>Simplicilium sp</i>	ITS	4,0x10 <sup>3</sup>
48	M2T4 3	<i>Bacillus cereus</i>	16 rRNA	3,4X10 <sup>4</sup>
	M2T4 5	<i>Daedaleopsis sp</i>	ITS	1,2 X10 <sup>3</sup>
	M2T4 7	<i>Janibacter sp</i>	16 rRNA	1,2 X10 <sup>4</sup>
60	M2T5 3	<i>Gluconobacter sp</i>	16 rRNA	2,3 X10 <sup>5</sup>

Kelimpahan mikroba pada tempe Malang berbeda-beda dari mulai T0 hingga T5. *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp*, dan *Klebsiella sp* memiliki kelimpahan yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri lainnya dengan kelimpahan berturut-turut sebanyak 3,4x10<sup>6</sup> CFU/g, 3,3x10<sup>6</sup> CFU/g, 3, 0x10<sup>6</sup> CFU/g, untuk jamur *Rhizopus sp* memiliki kelimpahan yang lebih tinggi dibanding jamur lainnya yaitu sebanyak 6,0x10<sup>5</sup> SFU/g , sementara untuk Ragi *Trichosporon sp* memiliki kelimpahan yang

tertinggi yaitu sebanyak  $5 \times 10^5$  cfu/g. Pada T0, T1 hingga T2 filum *Firmicutes* (*Bacillus sp*, *Bacillus sp*, *Streptococcus*) mendominasi mikroba tempe Malang, sedangkan pada T3, dan T4 Filum *proteobater* (*Actinomycetes*, *Pseudomonas sp*) mulai muncul pada tempe Malang. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kadar dkk (2018) bahwa pada T0 bakteri yang mendominasi adalah dari Firmicutes, dan pada T24 dan 48 bakteri yang mendominasi adalah firmicutes dan Proteobacter. Pada proses fermentasi tempe Malang terjadi perubahan komunitas hal tersebut dapat dilihat pada gambar IV.6.



Gambar IV. 6 Dinamika Perubahan Komunitas Mikroba Selama Fermentasi Tempe Malang

Pada Gambar IV.4 yang ditunjukkan pada waktu T0 bahwa *Rhizopus sp* dan ragi sudah muncul di awal fermentasi meskipun belum menunjukkan nilai yang tinggi yaitu sebanyak  $4 \times 10^4$  CFU/g. Penelitian terdahulu menjelaskan bahwa *Rhizopus* tidak berpengaruh terhadap tumbuhnya bakteri asam laktat dan ragi (Feng et al., 2007), akan tetapi penelitian lain mengatakan bahwa adanya bakteri LAB dapat menghasilkan efek penghambatan tergantung kombinasi spesiesnya. (Alvarez-Martin, 2007), hal tersebut juga selaras dengan penelitian ini bahwa pada T1 *Rhizopus sp* tumbuh secara signifikan sementara bakteri tumbuh belum terlalu cepat, sebaliknya pada T2 dan T3 bakteri tumbuh dengan signifikan sementara *Rhizopus sp* tumbuh tidak terlalu cepat.

Menurut Fleet, (1990) dan Welthagen and Vilijoen, (1999) ragi berkontribusi dalam interaksi antar mikroorganisme, perubahan tekstur dan juga biosintesis komponen rasa. *Rhizopus* mampu mensekresi enzim amilase yang dapat mendegradasi senyawa-senyawa karbohidrat dan senyawa-senyawa penyebab flatulen pada tempe (Trizibowo, 2016). Gula utama pada kedelai adalah oligosakarida (Sukrosa, Stakhiosa, dan rafinosa) Menurut Winarno (1980) dalam Triwibowo (2011), selama proses fermentasi jenis senyawa karbohidrat, termasuk oligosakarida mengalami degradasi (hidrolisa) oleh sistem enzimatik mikroorganisme, yaitu oleh enzim  $\alpha$ -galaktosidase karena adanya aktivitas *Rhizopus*. Setelah dilakukan perebusan Komponen gula yang terdapat dalam biji kedelai mengalami penurunan dan beberapa jenis gula tersebut larut dalam air rebusan (Winarno (1980) dalam Triwibowo (2011)). Sedangkan pada saat fermentasi tempe terjadi pencernaan enzimatik pada protein, lemak dan karbohidrat hal ini terjadi karena *Rhizopus* memerlukan energi yang diperoleh dari proses pemecahan protein, lemak dan karbohidrat. Enzim-enzim yang bekerja tersebut diantaranya enzim protease, amilase, lipase, fitase dan  $\alpha$ -galaktosidase. Pada 12 jam pertama enzim dengan aktifitas yang tinggi adalah enzim  $\alpha$ -galaktosidase oleh *Rhizopus* yang mendegradasi oligosakarida pada kedelai kemudian menguraikan karbohidrat menjadi gula sederhana (Hermana dkk, 1996 dalam Sapuan dan Soetrisno, 1996). Ragi juga memiliki peran pada proses pembuatan tempe karena memiliki aktivitas proteolitik dan lipolitik yang sangat tinggi sehingga mampu menghidrolisa protein maupun lemak untuk menghasilkan asam amino, asam lemak, etanol yang merupakan komponen penyusun rasa (Villijoen dan Greyling, 1995).

Pada awal fermentasi mikroba yang tumbuh selain *Rhizopus* dan ragi adalah adalah *Bacillus sp*, *Klebsiella sp*, dari sekian banyak isolat ditemukan banyak isolat dengan bakteri berbentuk basil yang kemudian diidentifikasi merupakan *Bacillus sp*. *Bacillus sp* mampu memproduksi enzim protease yang diperlukan untuk mencerna protein yang ada ada kedelai agar mudah dicerna oleh tubuh manusia (Barus *et al* 2017). Beberapa genus *Bacillus* seperti *B.Amyloliquefaciens* dari berbagai pangan

fermentasi ditemukan mampu menghasilkan enzim fibrinolitik yang kuat dari douchi yaitu pangan fermentasi kedelai dari Cina (Peng & Zhang 2003). Afifah (2014) juga menjelaskan dalam penelitiannya bahwa *Bacillus pumilus* yang diisolasi dari Tempe Gembus, olahan kedelai fermentasi yang berasal dari Indonesia, mampu mengeluarkan beberapa protease yang memiliki aktivitas fibrinolitik yang kuat. Pada grafik perubahan komunitas mikroba tempe Malang (Gambar IV.4) dapat dilihat bahwa *Bacillus* sudah nampak pada mulai di awal fermentasi karena bakteri ini sebenarnya sudah mulai tumbuh dari mulai proses perendaman kedelai hal ini selaras dengan hasil penelitian Nurdini (2015) yang menunjukkan bahwa LAB dan *Bacillus* telah terlibat sejak proses perendaman dan terus terbawa hingga tahap penyimpanan dimana jumlah mikroba yang tinggi pada awal fermentasi ini juga berkorelasi dengan jumlah pH rendah (4-6) yang terjadi pada awal.

Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa bakteri memiliki peran pada tempe salah satunya dalam pembentukan vitamin B<sub>12</sub> yang dilakukan oleh *Citrobacter freundii* dan *Klebsiella sp* (Keuth and Bisping 1994). *Klebsiella* merupakan salah satu mikroba yang sering ditemukan pada fermentasi tempe. Bakteri gram negatif ini dapat menguraikan laktosa, bakteri *Klebsiella* yang ada di Indonesia yang berasal dari tempe memiliki profil genom yang unik yang tidak sama dengan *Klebsiella* penyebab penyakit *pneumoniae*. Bakteri ini dapat membentuk proses pembentukan B<sub>12</sub> dan mengurangi enterotoksin yang dihasilkan oleh bakteri pencemar yang ada pada tempe (Wirakusumah, 2004).

Pada T1 populasi mikroba semakin bertambah dengan tumbuhnya, *Pseudomonas sp*, dan *Streptococcus*. Barus *et al* (2008) mengatakan bahwa *Klebsiella sp* dan *Pseudomonas sp* merupakan bakteri yang dominan ditemukan pada tempe WJB (Bogor). *Pseudomonas* merupakan oksidator karbohidrat sehingga mampu menghasilkan asam dan glukosa pada lingkungan yang aerobik (Liu, 1952 dalam Liu, 1961). Sedangkan pada T2 tumbuh *Citrobacter*, *Stafilococcus*, *Streptococcus* pada T3 tumbuh *Aspergillus*, *Lysinimonas sp*, *Simplicillium sp*, dan *Streptococcus*. Sementara pada T4 tumbuh *Janibacter*, *Bacillus cereus* dan *Daedaleopsis* pada T5

tumbuh *Gluconobacter sp.* Semakin lama waktu fermentasi jenis bakteri yang tumbuh semakin bervariasi, saat pertumbuhan bakteri dan ragi terus berlanjut warna putih bersih pada tempe akan berangsur-angsur menjadi cokelat, dengan permukaan tempe menjadi basah dan berlendir.

#### IV.3 Hasil Uji Organoleptik

Hasil pengujian Organoleptik dapat dilihat pada Tabel IV.4. parameter pengujian yang dinilai dalam uji organoleptik ini adalah warna, tekstur, manis awal, rasa mentah dan rasa pahit (*after taste*).

Tabel IV.4 Hasil uji organoleptik Malang pada umur 48 jam dibandingkan dengan uji organoleptik tempe Bandung.

Parameter Analisis	Hasil Uji Deskriptif	Hasil Uji Deskriptif
	Tempe Malang	Tempe Bandung
Warna	6.14	4.70
Tekstur	6.89	5.99
Manis Awal	4.70	4.76
Rasa Mentah	5.70	3.67
Rasa Pahit ( after taste)	4.07	2.99

Nilai tertinggi parameter organoleptik ini adalah 7.00

Warna dapat secara langsung mempengaruhi persepsi dari panelis. Menurut Rahayu (2001) warna dari bahan pangan dipengaruhi oleh cahaya yang diserap dan dipantulkan dari bahan tersebut yang juga ditentukan oleh faktor dimensi dari warna produk, kejelasan dan kecerahan warna dari produk. Tingkat kesukaan panelis terhadap warna dari tempe Malang sangat tinggi yakni mencapai 6,1. Semakin tinggi nilainya akan semakin tegas warnanya. Semakin putih warnanya maka hifa yang mengelilingi kedelai ini semakin banyak seperti yang dikatakan oleh Kumalasari (2012) warna putih pada tempe disebabkan oleh hifa yang menyelimuti tempe. Dengan nilai yang cukup tinggi ini menunjukkan bahwa tempe Malang memiliki penampilan yang baik dibandingkan dengan tempe Bandung. Preferensi panelis terhadap tekstur, dan rasa mentah terhadap tempe Malang juga cukup tinggi dengan tekstur sebesar 6.89 dan rasa mentah di awal sebesar 5.70. Rasa mentah

pada tempe ini terjadi karena pada saat dilakukan pengujian sampel tempe dalam keadaan mentah.

Dibandingkan dengan tempe Bandung rasa pahit di bagian akhir tempe Malang ini jauh lebih tinggi dengan rasa pahit sebesar 4.07. Rasa pahit (*after taste*) yang terdapat pada tempe Malang ini terjadi karena adanya hidrolisis asam amino. Terdapat asam amino yang dapat menimbulkan rasa pahit yaitu *Fenilalanin*, *lisin*, *arginin*, *prolin*, *isoleusin*, *valin*, *methionin* dan *histidin* (Uneyama *et al*, 2012). Setelah dilakukan uji asam amino ternyata kandungan fenilalanin dan lisin pada tempe Malang ini terbilang sangat tinggi mencapai 36239.60 ppm sedangkan lisin sebanyak 14402.03 ppm. Asam amino *Fenilalanin* dan *lisin* inilah yang kemudian berperan dalam terciptanya *bitter taste* pada tempe. Peran komunitas bakteri tertentu juga dapat mempengaruhi rasa dari makanan. Barus dkk. (2008) menyatakan bahwa bakteri dari kelompok *Bacillus sp.* Dapat menghasilkan rasa pahit pada makanan, hal tersebut terjadi karena adanya hidrolisis lebih lanjut dari protein-protein yang ada pada kedelai.

#### IV.4 Hasil Uji Asam Amino

Hasil pengujian asam amino dan nilai gizi tempe Malang dapat dilihat pada tabel IV.5.

Tabel IV.5 Hasil pengujian asam amino tempe Malang pada jam ke 48

Asam Amino	Unit	Hasil tempe Malang	Hasil tempe Bandung
L-Fenilalanin	Ppm	36239.60	9033.69
L-Asam Aspartat	Ppm	18994.91	13680.86
L-Leusin	Ppm	16417.10	12814. 98
L-Lisin HCl	Ppm	14402.03	8432.07
L-Arginin	Ppm	12653.78	7416.28
L-Isoleusin	Ppm	12067.07	8159.26
L-Asam Glutamat	Ppm	11050.08	26154.23
L-Prolin	Ppm	9773.41	7200. 70

L-Valin	Ppm	9770.42	8277. 58
Glisin	Ppm	9160.00	6077.66
L-Alanin	Ppm	9063.50	5744.32
L-Threonin	Ppm	8673.11	5011.21
L-Tirosin	Ppm	7742.93	4844. 93
L-Histidin	Ppm	5747.74	4243.21
L-Serin	Ppm	204.04	6018.29

Ket: Tanda kuning memiliki nilai asam amino yang tinggi.

Asam amino merupakan komponen penyusun utama dari protein. Asam amino esensial terdiri dari Histidin, Threonin, Valin, Fenilalanin, Isoleusin, Leusin, Lisin, Methionin, Arginin dan Triptofan, sedangkan asam amino non esensial terdiri dari Asam Glutamat, Alanin, Tirosin, Sistin, Glisin, Serin, Prolin, Hidroksilin, Glutamin, Asam Aspartat dan Hidroksiprolin (Abun, 2006). Secara umum protein nabati yang dihasilkan banyak mengandung asam amino seperti arginin, glisin dan alanin, sedangkan protein hewani mengandung lebih banyak metionin dan lisin (Utari dkk, 2011). Dari hasil pengujian asam amino di atas dapat dilihat bahwa tempe Malang memiliki semua jenis asam amino yang dibutuhkan baik esensial seperti dari Histidin, Threonin, Valin, Fenilalanin, Isoleusin, Leusin, Lisin, dan Arginin maupun non esensial seperti Asam Glutamat, Alanin, Tirosin, Glisin, Serin, Prolin, dan Asam Aspartat.

Kandungan asam amino tertinggi pada sampel Malang ini adalah Fenilalanin dan aspartat. Jumlah fenilalanin pada tempe Malang ini adalah 36239.60/ppm. Fenilalanin merupakan salah satu asam amino esensial yang membantu tubuh memproduksi DNA dan molekul otak, fenilalanin ini juga berpengaruh terhadap rasa pahit pada makanan. Hal tersebut sebanding dengan hasil uji organoleptik yang menunjukkan bahwa adanya nilai rasa pahit (*after taste*) yang cukup tinggi pada sampel tempe Malang. Pada pengujian ini asam aspartat yang dihasilkan bernilai 18994.91/ppm. Aspartat dibentuk oleh transminasi siklus krebs diantara oksaloasetat, dan berfungsi sebagai prekursor untuk sintesis protein, oligopeptida,

purin, pirimidin, asam nukleat dan L-arginin (wilionsky *and* driskell, 2004). Nilai glutamat pada tempe Malang ini tidak berbeda jauh dengan aspartat yaitu sebesar 11050.08/ppm. Asam amino dikarboksilat, aspartat dan glutamat memiliki peran penting dalam memproduksi energi, sintesis urea, dan sebagai *neotransmitter*. Menurut Brand (2000) lidah manusia dapat merasakan glutamat dan aspartat dalam makanannya melalui reseptor rasa sebagai rasa umami, hal tersebut terjadi karena makanan tersebut mengandung bentuk lain dari glutamat dan aspartat sebagai bagian dari protein.

#### IV.5 Komposisi Proksimat Tempe Malang

Penghitungan nilai gizi pada tempe Malang juga telah dilakukan untuk menentukan layak tidaknya tempe ini dikonsumsi harus sesuai dengan standar mutu nasional yang sudah ditentukan sebelumnya, hasil pengujian proksimat dapat dilihat pada tabel IV.6. pada tabel IV.6 ini dibandingkan dengan Standar nasional Indonesia yang telah mengatur syarat mutu tempe kedelai tertuang dalam SNI 3144;2009 (Frenky *dkk*, 2015).

Tabel IV.6 Hasil Pengujian Proksimat pada Tempe Malang dibandingkan dengan penelitian Risnawati (2015) dan standar SNI.

<b>Parameter Gizi</b>	<b>Unit</b>	<b>Hasil Tempe Malang</b>	<b>Nilai mutu standar SNI (Frenky <i>et al</i>, 2009)</b>	<b>Risnawati (2015)</b>
<b>Energi dari Lemak</b>	kkal/100 g	103.32	-	-
<b>Energi total</b>	kkal/100 g	204.04	-	-
<b>Kadar air</b>	%	62.30	Maks 65	62,88
<b>Kadar abu</b>	%	1.04	Maks 1.5	1,435
<b>Lemak Total</b>	%	11.48	Min 10	8,31
<b>Protein</b>	%	19.43	Min 16	17,61
<b>Karbohidrat total</b>	%	5.75	-	-



Pada proses pembuatan tempe, *Rhizopus* memiliki peran paling penting. Menurut Sorenson dan Hesseltine (1983) *Rhizopus* sp akan tumbuh dengan baik pada pH kisaran 3,4 – 6. Semakin lama waktu fermentasi pH tempe semakin meningkat, apabila terjadi peningkatan pH yang terus menerus akan membuat pertumbuhan jamur semakin menurun, karena pH yang tinggi kurang sesuai dengan pertumbuhan jamur (Seswati, 2013). *Rhizopus* spp menghasilkan berbagai karbohidrat, lipase, protease, fitase dan enzim lain yang menghidrolisis kedelai dan berkontribusi dalam pengembangan tekstur, rasa dan aroma tempe (Johan et al, 1995 dalam Bazilev 2013).

Selama fermentasi tempe terjadi proses degradasi lemak oleh *Rhizopus*, sehingga akhirnya dapat dibebaskan menjadi asam lemak, komponen utama asam lemak dari trigliserida tempe kedelai adalah asam lemak tak jenuh yang merupakan asam lemak esensial, yaitu didominasi oleh asam linoleat, asam linolenat dan asam oleat. Asam linoleat berperan dalam pertumbuhan, pemeliharaan membran sel, pengaturan metabolisme kolesterol, menurunkan tekanan darah, menghambat lipogenesis hepatic, transport lipid, precursor dalam sintesis prostaglandin, membentuk arakhidonat dan dalam proses reproduksi (Pudjiadi 1997 dalam Deliani 2008)), sedangkan asam lemak jenuh komponen trigliserida kedelai ialah asam palmitat dan asam stearat. Menurut Suteja dan Djakamiharja (1978) lebih dari sepertiga lemak netral yang ada pada kedelai terhidrolisis oleh enzim lipase yang dihasilkan oleh aktivitas *Rhizopus* pada saat fermentasi tempe. Kadar lemak berkurang selama proses fermentasi karena hidrolisis lipida menjadi asam lemak-asam lemak bebas dan gliserol oleh aktivitas enzim lipase yang disekresikan oleh mikrobia (*Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus*) (Muchtadi 1978 dalam Deliani 2008).

Sementara kadar abu berhubungan dengan kadar air yang ada pada tempe. Apabila nilai kadar abu tinggi pada kedelai akan menunjukkan mineral yang rendah pada kedelai, sebaliknya dalam proses pembuatan tempe mineral yang terkandung pada kedelai terlarut dalam air selama proses perendaman. Perendaman juga dapat mengakibatkan lunaknya struktur biji kedelai karena air menjadi lebih mudah

masuk ke dalam struktur selnya sehingga kadar air tempe menjadi lebih tinggi daripada kedelai seperti yang terlihat pada Tabel IV.7.

Tabel VI. 7. Perbandingan Proksimat Kedelai dengan Tempe

<b>Parameter</b>	<b>Kedelai</b>	<b>Tempe</b>
<b>Kadar air</b>	16,02	62,875
<b>Kadar abu</b>	5,415	1,435
<b>Kadar Lemak</b>	19,375	8,31
<b>Kadar Protein</b>	28,62	17,605
<b>Karbohidrat</b>	8,45	3,48

Kadar protein pada kedelai menurut kuantitas memang lebih tinggi dibandingkan dengan protein di dalam tempe. Akan tetapi kualitas protein yang mudah dicerna oleh manusia jauh lebih tinggi tempe dibandingkan dengan kedelai (Widianarko, 2002). Hal ini disebabkan karena kadar protein yang larut dalam air akan meningkat akibat aktivitas enzim Proteolitik.

Apabila dibandingkan nilai mutu tempe Malang mulai dari kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein sudah sesuai dengan standar yang ditetapkan, kadar air tempe Malang 62.30% dengan standar SNI maksimal sebanyak 65% tidak melampaui batas maksimal sama halnya dengan kadar abu tempe Malang sebanyak 1.04 dengan standar SNI maksimal 1.5. sementara Lemak total dan protein Malang Juga sudah diatas batas minimal dimana lemak tempe Malang 11.48% dengan standarnya minimal 10% dan Protein tempe Malang sebanyak 19.43% dengan standar SNI Seharusnya diatas 16%. Dari nilai gizi, uji asam amino, uji organoleptik dapat disimpulkan bahwa tempe Malang ini memiliki kualitas yang baik meskipun cemaran, dan logam belum dilakukan pengujian.

## Bab V Kesimpulan dan Saran

### V.1 Kesimpulan

Berikut ini beberapa kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan antara lain:

1. Diperoleh 20 Isolat mikroba dengan 12 isolat Bakteri, 6 isolat Jamur dan 2 isolat ragi dari tempe Malang. Beberapa isolat tersebut berhasil diidentifikasi diantaranya adalah *Klebsiella sp*, *Bacillus cereus*, *Janibacter sp*, *Gluconobacter sp*, *Bacillus sp*, *Lysinimonas sp*, *Pseudomonas sp*, *Cladosporium sp*, *Trichosporon asahi*, *Simplicilium sp*, *Daedaleopsis sp*
2. Pertumbuhan bakteri semakin lama mengalami peningkatan, sementara jamur meskipun mengalami peningkatan pada T4 mulai mengalami penurunan. Jumlah total fungi dan ragi pada awal fermentasi T0 mencapai  $4,0 \times 10^4$  CFU/g dan terus meningkat hingga  $6,5 \times 10^5$  CFU/g pada T4 dan mengalami sedikit penurunan pada T5 pada jumlah  $6,1 \times 10^5$  CFU/g. Sementara jumlah total bakteri pada T0 mencapai  $4,0 \times 10^5$  CFU/g dan terus meningkat hingga mencapai  $3,3 \times 10^6$  CFU/g pada akhir fermentasi.
3. Pada tempe Malang terjadi perubahan struktur komunitas mikroba dari awal hingga akhir. Pada T0 hanya terdapat beberapa jamur ragi, dan bakteri seperti *Rhizopus*, *Trichosporon Asahi*, *Klebsiella* dan *Bacillus*, T1 komunitas bakterinya bertambah dengan adanya *Pseudomonas*, *Cladosporium*, *Daedaleopsis* dan beberapa bakteri lainnya, pada T2 *Streptococcus*, *Bacillus sp*, *Stafilococcus*, *Gluconobacter*, *Aspergillus*, pada T3 terdapat *Actinomicet*, *Streptococcus*, *Simplicillium sp*, pada T4 bertambah dengan adanya *Bacillus ceureus*, *Janibacter sp* sedangkan pada T5 muncul *Lysinomonas sp*.
4. Mikroba yang tumbuh pada tempe Malang yang didominasi oleh *Bacillus sp* mempengaruhi rasa pada tempe Malang yang cenderung pahit di awal, hal tersebut dapat terlihat dari hasil uji organoleptik yang menunjukkan parameter warna bernilai 6,14, rasa manis awal bernilai 4,76, tekstur 6,89, rasa mentah 5,70 dan rasa pahit di akhir senilai 4,07.
5. Tempe Malang memiliki semua jenis asam amino yang dibutuhkan baik esensial maupun non esensial. Kandungan asam amino tertinggi pada sampel Malang ini adalah *Fenilalanin* dan asam aspartat, kedua asam amino

ini asam amino yang dapat menghasilkan rasa umami pada makanan. Jumlah fenilalanin pada tempe Malang ini adalah 36239.60/ppm dan aspartat adalah 18994.91/ppm.

6. Nilai mutu tempe Malang mulai dari kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein telah sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) yang ditetapkan, dimana kadar air tempe Malang 62.30%, kadar abu sebanyak 1.04 Lemak total 11,48% dan protein 19,43%.

## **V.2 Saran**

Berikut ini beberapa saran yang dapat dipertimbangkan untuk penelitian selanjutnya antara lain:

1. Perlu adanya penelitian lanjutan untuk karakterisasi fermentasi tempe Malang secara menyeluruh.
2. Perlu dilakukan pengujian lanjutan untuk mengetahui kapan dan bagaimana setiap mikroba saling berinteraksi satu sama lain.
3. Diperlukan sumber sampel tempe Malang yang lebih beragam baik dari jenis tempenya maupun dari tempat produksi tempe agar dapat mewakili seluruh jenis tempe Malang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abun. (2006): Protein dan asam amino pada unggas, Bahan Ajar Mata Kuliah Nutrisi Ternak Unggas dan Monogastrik, Bandung (ID): Universitas Padjadjaran, 14-19.
- Afifah D. N. (2014): Purification and Characterization of a Fibrinolytic Enzyme from *Bacillus pumilus* 2.g Isolated from Gembus, an Indonesian Fermented Food. Universitas Dipenogoro, Semarang, 4-6.
- Astawan, M. (2008): Sehat dengan hidangan hewani. Penebar Swadaya: Jakarta, Hal 27-28.
- Astuti, N.P. (2009): Sifat organoleptik tempe kedelai yang dibungkus plastik, daun pisang dan daun jati. Karya Tulis Ilmiah Program Studi Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta, 5-9.
- Barus, T., Suwanto A., Wahyudi A. T., dan Wijaya H. (2008). Role of bacteria in tempe bitter taste formation: microbiological and molecular biological analysis based on 16s rna gene, Microbiology Indonesia. Vol 2, No. 1 Hal 17-22.
- Barus, T., Wati, L., Melani., Suwanto, A., Yogiara. (2017) : Diversity of Protease-Producing *Bacillus* spp. From Fresh Indonesian Tempeh Based on 16S rRNA Gene Sequence. Hal 1-6.
- Brand, JG. (2000): Basic Characteristics of Glutamates and Umami Sensing in the Oral Cavity and the Gut: Receptor and transduction processes for umami taste. US National Library of Medicine National Institutes of Health. Hal 942S - 945S.
- Broadbent, J. R., C. Brotherson., C. J. Oberg., and M. E. Johnson. (2002): Cheese micro-ecology and the influence of adjunct/wash techniques. Australian Journal of Dairy Technology, Vol 57 No. 2. Hal 137-142.
- Cahyadi, W. (2006): Kedelai khasiat dan teknologi. Bumi Aksara: Bandung. Hal 11-14, 16-18.
- Dajanta K, Chukeatirote E, Apichartsrangkoon A. (2001): Analysis and characterisation of amino acid contents of thua nao, a traditionally fermented. Int. Food Res. J 18: 595-9.
- Deliani. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap kadar protein, lemak, komposisi asam lemak dan asam fitat pada pembuatan tempe. Tesis Paska Sarjana, Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Dutkiewicz, A., O'Callaghan, S., Muller, R. (2016): Controls on the distribution of deep-sea sediments. Geochemistry, Geophysics. AGU Publication. Doi 10.1002/2016GC006428. Hal 3079-3082.
- Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek M.g., Milanowski, J. (2016): *Pantoea* agglomerans: a mysterious bacterium of evil and good. Reveiw Article: Annals agriculture and environmental medicine, 1-7.
- 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. 36-41.
- Erungan, C., A., Ibrahim, B., Yudistira, N. (2005). Analisis Pengambilan Keputusan Uji Organoleptik dengan Metode Multi Kriteria. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan, Vol. 8. No. 1.

- Fauzan, F. (2005): Formulasi Flakes Komposit dari Tepung Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott), Tepung Tempe, dan Tapioka. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 9-12.
- Feng X. M., Passoth V., Eklund-Jonsson C., Alminger M. L., dan Schnu J. (2009): *Rhizopus oligosporus* and yeast co-cultivation during barley tempeh fermentation—Nutritional impact and real-time PCR quantification of fungal growth dynamics. *Food Microbiology*, 24, 393-402.
- Ferlina, F. (2009): Tempe. <http://www.adln.lib.unair.ac.id/go.php>. Diakses pada 12 februari 2017.
- Fleet, G.H. (1990): Yeasts in dairy products. *International Journal of Applied Bacteriology*. 68,199-211.
- Frenky. A.P., Dewi. L., Hastuti. S.P (2009): The content of water, ash, protein, and karbohidrate in the processing of tempe production. *Salatiga*. 52-60.
- Gandjar, I. dkk. (2006): Mikologi dasar dan terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia. Jakarta Pusat.
- Gelfand, D.H. dan White, T.J. 1990. Thermostable DNA Polymerase. Cetus Corporation, California, USA. 25-33.
- Hayati, S. (2009): Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kualitas Tempe Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus*). Skripsi Departemen Kimia FMIPA. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Hagedorn, S., Kaphammer, B. (1994): Microbial biocatalysis in the generation of flavour and fragrance chemicals. *Annual Review of Microbiology*. Union Camp Technology Center, Princeton, New Jersey. 48:773—80.
- Hesseltine, C.W. (1983): The future of fermented foods. *Nutrition Reviews*/vol.41, No.10 October 1983.
- Hidayat, N., M. C. Padaga dan S. Suhartini (2006): Mikrobiologi industri. Andi, Yogyakarta. Hal 12-25.
- Kadar A, Darwati, (2018): Studi Dinamika Komunitas Mikroba pada Fermentasi Tempe Bandung, Intitut Teknologi Bandung. Bandung.
- Kasmidjo. (1990) :Tempe, mikrobiologi dan biokimia pengolahan serta pemanfaatannya. Pau Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Hal 10-18.
- Kemala, S. (2006): Upaya memperpanjang umur simpan tempe dengan metode pengeringan dan sterilisasi. Departemen Teknologi Pangan Dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 5.
- Keuth S.,and B Bisping (1994): Vitamin B12 production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumoniae* during tempeh fermentation and proof of enterotoxin absence by PCR.. available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC201508>. Diakses pada tanggal 26 Februari 2018.
- Kumalasari, R. (2012): Pengaruh konsentrasi inokulum terhadap kualitas tempe kedelai (*Glycine max* (L). Universitas Kristen Satya Wacana: Salatiga.
- Liener I. E. (1994): Implications of antinutritional components in soybean foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34, 31-67.
- Lim et al. (2012): Effect of lime based waste materials on immobilization and phytoactivailability of cadmium and lead in contaminated soil. Kangwon National University: Chuncheon, South Korea.

- Margiono, S., Rahayu, Sutriswati Endang. (1992): Molekuler Genetika Mikroba. UGM Press. Yogyakarta
- Mulyowidarso, R.K., Fleet, G.H. dan Buckle, K.A. (1989): The microbial ecology of soybean soaking for Tempe production. *International Journal of Food Microbiology* 8: 35-46
- Nuraida, L., Suliantari, Andarwulan, N., Adawiyah D. R., Noviar, R. and Agustin D. (2008): Evaluation of soybean varieties on production and quality of tempe. In: Hardiansyah, Astawan, M., Kusumaningrum, Amelia, L., Briawan, D. and Aries, M. (Eds). *Proceedings of Recent Developments On Tempe: Technology, Standards, and Its Potency in Health and Nutrition Improvement*, p. 1. Bogor.
- Nurdini, A. L., Nuraida, L., Suwanto, A., .and Suliantari (2015): Microbial growth dynamics during tempe fermentation in two different home industries. *Institut Pertanian Bogor, International Food Research Journal* 22(4): 1668-1674 (2015).
- Pelczar, M.J., and E.C.S. Chan (1986)., Penerjemah , Ratna Siri Hadioetomo dkk: *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*, Universitas Indonesia Press. Jakarta. 36-73.
- Peng Y, Huang Q, Zhang RH, Zhang YZ.(2003): Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus emyloliquefaciens* DC-4 screened from Douchi, a traditional Chinese soybean food. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 45-52.
- Pisol Baqis. (2013): Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Indonesian Soybean Tempe. *International Conference on Biology, Environment and Chemistry IPCBEE .IACSIT Press, Singapore. Vol.58.*
- Pitt, J.I. and A.D Hocking. (1985): *Fungi and Food Spoilage*. Academic Press, Australia.
- Rahayu, W.P. 2001. *Penuntun Praktikum Penilaian Organoleptik*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pangan. IPB. Bogor
- Risnawati. Y(2015): Komposisi proksimat tempe yang dibuat dari kedelai lokal dan kedelai impor. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Artikel Publikasi Ilmiah. Surakarta.
- Ruxton, Carrie H.S and Brian McMillan. (2010): The impact of mycoprotein on blood cholesterol levels: a pilot study, *British Food Journal* Vol 112 No.10.2010. Institute of Psychological Sciences, University of Leeds, Leeds, United Kingdom.
- R. K. Mulyowidarso, G. H. Fleet and K. A. Buckle.(1989): Changes in the concentration of organic acids during the soaking of soybeans for tempe production. *International Journal of Food Science and Technology*. 26, 607-614.
- Samson R. A., Van Koou J.A., De Boer E. (1996): microbiological quality of commercial tempeh in the Netherlands. *Journal of Food Protection*, 50,56-59, 92-94.
- Samsudin US., dan Djakamihardja DS.(1958): *Budidaya kedelai*. Bandung. CV. Pustaka Buana Bandung. 46-62
- Sangadji, Insun. (2004): Enzim Fitase dan Peranannya dalam Memecah Ikatan Asam Fitat pada Pakan. Makalah Pengantar Falsafah Sains, Program Pasca Sarjana ITB.

- Sarwono, B. (2002): Membuat Tempe dan Oncom. Penebar Swadaya: Jakarta. 39-42
- Sasirekha C et al.(2012): / Journal of Pharmacy Research 2012,5(12),5457-5463  
5457-5463 Research Article ISSN: 0974-6943 Available online through <http://jpr solutions.info>.
- Seswati, R. (2013): Pengaruh Pengaturan Keasaman Media Serbuk Gergaji Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Jamur Tiram Cokelat (*Pleurotus cystidiosus* O.K. Miller.). Jurnal Biologi Universitas Andalas. Vol 2. No. 1. Hal 31-36 (ISSN : 2303-2162).
- Sorenson., dan Hesseltine. (1986): Validation of an in development toxicity screen in the mouse. Teratol Mutagen. 6: 361-374
- Subandi. (2012): Mikrobiologi. PT Rmaja Rosdakarya: Bandung.
- Supriono. (2003): Memproduksi tempe. Proyek Pengembangan Sistem dan Standar Pengelolaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan: Jakarta
- Sutedja US, Djakamihardja DS. 1978. Budidaya Kedelai. C.V. Pustaka Buana, Bandung.
- Triwibowo, Rully dan Ariviani Andriani Setyaningsih. (2016): Perubahan biokimiawi stakiosa dan asam lemak esensial pada tempe kedelai (*Glycine Max*) Selama Proses Fermentasi. Fakultas Pertanian Universitas sebelas Maret. Surakarta.
- Utari, Diah M., Rimbawan, Hadi Riyadi, Muhilal, Purwastyastuti. (2011): Potensi asam amino pada tempe untuk memperbaiki profil lipid dan diabetes melitus: Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional.
- Villijoen, B.C. dan Greyling, T. (1995): Yeast associated with cheddar and gouda making. International Journal of Food Microbiology. Vol. 5, No. 4. 166-170.
- Welthagen, J.J. dan Vilijoen, B.C. (1999): The isolation and identification of yeasts obtained during the manufacture and ripening of cheddar cheese. Food Microbiology. 16, 63-73
- Widianarko . 2002. Tips Pangan "Teknologi, Nutrisi, dan Keamanan Pangan". Grasindo. Jakarta.
- Wilonsky Ira., Driskell Judi A. (2004): Nutritional ergogenic aids. CRC Press: New York.
- Wirakusumah, Emma. (2004): Tips dan solusi gizi untuk tetap sehat, cantik dan bahagia di masa menopause dengan terapi estrogen alami. Gramedia Pustaka utama. Jakarta.
- Wipradnyadewi. (2005): Isolasi Dan Identifikasi Rhizopus Oligosporus Pada Beberapa Inokulum Tempe. Fakultas Teknologi Pertanian, UGM. Yogyakarta.
- Yuli, A.H, Harlia dkk. (2010): Isolasi Dan Identifikasi Jamur Dan Bakteri Yang Berperan Pada Proses Pengomposan Campuran Feses Ayam Buras Dan Sampah Organik. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.



## **LAMPIRAN**

**Lampiran A. Tabel Hasil Identifikasi dan Kelimpahan Bakteri, Jamur, dan Ragi pada T0, T1, T2, T3, T4, dan T5.**

**1. T0**

<b>Waktu (Jam)</b>	<b>Isolat</b>	<b>Hasil Identifikasi</b>	<b>Keterangan Identifikasi</b>	<b>Kelimpahan pada saat (cfu/g)</b>
<b>0</b>	M2T0 2	<i>Klebsiella sp</i>	16 rRNA	2,0x10 <sup>5</sup>
	M2T0 4	<i>Pichia</i>	-	1,0x10 <sup>4</sup>
	M2T0 5	<i>Bacillus substilis</i>	16 rRNA	2,9x10 <sup>5</sup>
	M2T0 6	<i>Rhizopus sp</i>	-	4,0x10 <sup>4</sup>
	M2T0 7	<i>Trichosporon asahii</i>	ITS	3,2x10 <sup>4</sup>

**2. T1**

<b>Waktu (Jam)</b>	<b>Isolat</b>	<b>Hasil Identifikasi</b>	<b>Keterangan Identifikasi</b>	<b>Kelimpahan pada saat (cfu/g)</b>
<b>12</b>	M2T0 2	<i>Klebsiella sp</i>	16 rRNA	1,6x10 <sup>6</sup>
	M2T0 4	<i>Pichia</i>	-	3,8x10 <sup>4</sup>
	M2T0 5	<i>Bacillus substilis</i>	16 rRNA	1,2x10 <sup>6</sup>
	M2T0 6	<i>Rhizopus sp</i>	-	5,0x10 <sup>4</sup>
	M2T0 7	<i>Trichosporon asahii</i>	ITS	4,0x10 <sup>4</sup>
	M2T1 6	<i>Pseudomonas</i>	16 rRNA	2,1x10 <sup>5</sup>
	M2T1 4	<i>Streptococcus</i>	-	2,1x10 <sup>4</sup>
	M2T1 5	<i>Actinomicet</i>	-	2,0 x10 <sup>4</sup>
	M2T1 2	<i>Bacillus sp</i>	16 rRNA	2,0 x10 <sup>4</sup>

**3. T2**

Waktu (Jam)	Isolat	Hasil Identifikasi	Keterangan Identifikasi	Kelimpahan pada saat (cfu/g)
24	M2T0 2	<i>Klebsiella sp</i>	16 rRNA	2,0x10 <sup>6</sup>
	M2T0 4	<i>Pichia</i>	-	4,0x10 <sup>4</sup>
	M2T0 5	<i>Bacillus substilis</i>	16 rRNA	2,0x10 <sup>6</sup>
	M2T0 6	<i>Rhizopus sp</i>	-	7,0x10 <sup>4</sup>
	M2T0 7	<i>Trichosporon asahii</i>	ITS	4,2x10 <sup>5</sup>
	M2T1 6	<i>Pseudomonas</i>	16 rRNA	1,3x10 <sup>6</sup>
	M2T1 4	<i>Streptococcus</i>	-	1,3x10 <sup>5</sup>
	M2T1 5	<i>Actinomicet</i>	-	2,2 x10 <sup>5</sup>
	M2T1 2	<i>Bacillus sp</i>	16 rRNA	2,1 x10 <sup>5</sup>
	M2T2 1	<i>Cladosporium</i>	ITS	4,2x10 <sup>3</sup>
	M2T2 6	<i>Citrobacter</i>	-	2,2x10 <sup>4</sup>
	M2T2 3	<i>Streptococcus</i>	-	1,2 x10 <sup>4</sup>
	M2T2 7	<i>Stafilococcus</i>	-	1,5 x10 <sup>4</sup>

#### 4. T3

Waktu (Jam)	Isolat	Hasil Identifikasi	Keterangan Identifikasi	Kelimpahan pada saat (cfu/g)
36	M2T0 2	<i>Klebsiella sp</i>	16 rRNA	3,5x10 <sup>6</sup>
	M2T0 4	<i>Pichia</i>	-	5,8x10 <sup>4</sup>
	M2T0 5	<i>Bacillus substilis</i>	16 rRNA	2,9x10 <sup>6</sup>
	M2T0 6	<i>Rhizopus sp</i>	-	2,1x10 <sup>5</sup>
	M2T0 7	<i>Trichosporon asahii</i>	ITS	1,2x10 <sup>5</sup>
	M2T1 6	<i>Pseudomonas</i>	16 rRNA	2,2x10 <sup>6</sup>
	M2T1 4	<i>Streptococcus</i>	-	1,3x10 <sup>6</sup>
	M2T1 5	<i>Actinomicet</i>	-	1,2 x10 <sup>5</sup>

M2T1 2	<i>Bacillus sp</i>	16 rRNA	1,1 x10 <sup>6</sup>
M2T2 1	<i>Cladosporium</i>	ITS	3,2x10 <sup>4</sup>
M2T2 6	<i>Citrobacter</i>	-	1,3x10 <sup>5</sup>
M2T2 3	<i>Streptococcus</i>	-	1,4 x10 <sup>5</sup>
M2T2 7	<i>Stafilococcus</i>	-	1,2
M2T3 4	<i>Aspergillus</i>	-	1,3x10 <sup>5</sup>
M2T3 2	<i>Lysinimonas sp</i>	16 rRNA	1,3x10 <sup>5</sup>
M2T3 3	<i>Streptococcus</i>	-	1,2x10 <sup>5</sup>
M2T3 6	<i>Simplicilium sp</i>	ITS	4,0x10 <sup>3</sup>

## 5. T4

Waktu (Jam)	Isolat	Hasil Identifikasi	Keterangan Identifikasi	Kelimpahan pada saat (cfu/g)
48	M2T0 2	<i>Klebsiella sp</i>	16 rRNA	2,9x10 <sup>6</sup>
	M2T0 4	<i>Pichia</i>	-	3,0x10 <sup>5</sup>
	M2T0 5	<i>Bacillus substilis</i>	16 rRNA	3,3x10 <sup>6</sup>
	M2T0 6	<i>Rhizopus sp</i>	-	5,0x10 <sup>5</sup>
	M2T0 7	<i>Trichosporon asahii</i>	ITS	3,9x10 <sup>5</sup>
	M2T1 6	<i>Pseudomonas</i>	16 rRNA	2,3x10 <sup>6</sup>
	M2T1 4	<i>Streptococcus</i>	-	2,1x10 <sup>6</sup>
	M2T1 5	<i>Actinomicet</i>	-	1,4x10 <sup>6</sup>
	M2T1 2	<i>Bacillus sp</i>	16 rRNA	2,3 x10 <sup>6</sup>
	M2T2 1	<i>Cladosporium</i>	ITS	3,4x10 <sup>5</sup>
	M2T2 6	<i>Citrobacter</i>	-	1,5x10 <sup>6</sup>
	M2T2 3	<i>Streptococcus</i>	-	2,1x10 <sup>6</sup>
	M2T2 7	<i>Stafilococcus</i>	-	2,3x10 <sup>6</sup>
	M2T3 4	<i>Aspergillus</i>	-	5,5x10 <sup>4</sup>
	M2T3 2	<i>Lysinimonas sp</i>	16 rRNA	1,0x10 <sup>6</sup>
	M2T3 3	<i>Streptococcus</i>	-	1,2x10 <sup>6</sup>

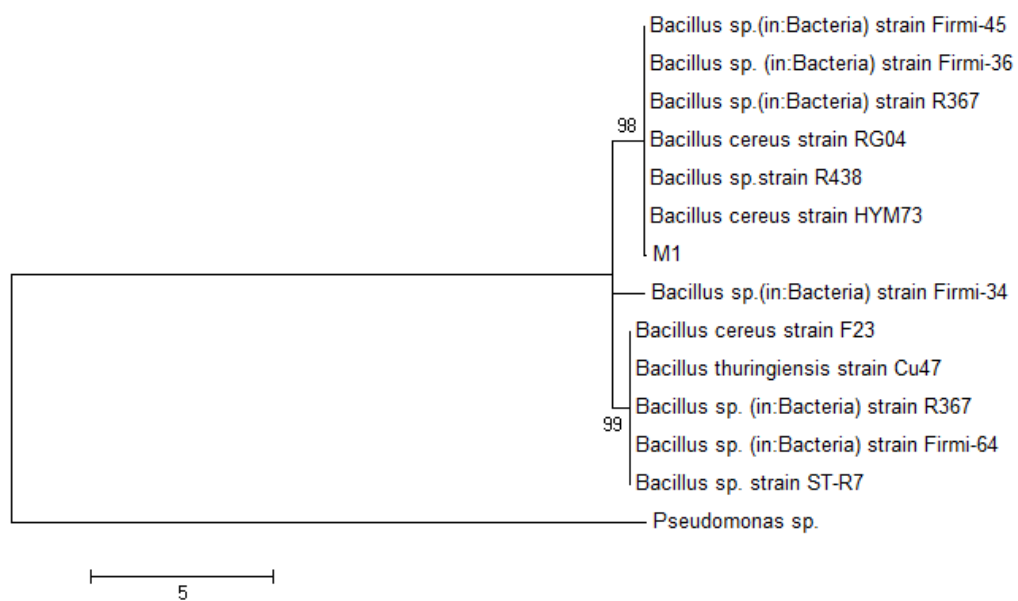
M2T3 6	<i>Simplicilium sp</i>	ITS	2,3x10 <sup>4</sup>
M2T4 3	<i>Bacillus cereus</i>	16 rRNA	3,4X10 <sup>4</sup>
M2T4 5	<i>Daedaleopsis sp</i>	ITS	1,2 X10 <sup>3</sup>
M2T4 7	<i>Janibacter sp</i>	16 rRNA	1,2 X10 <sup>4</sup>

## 6. T5

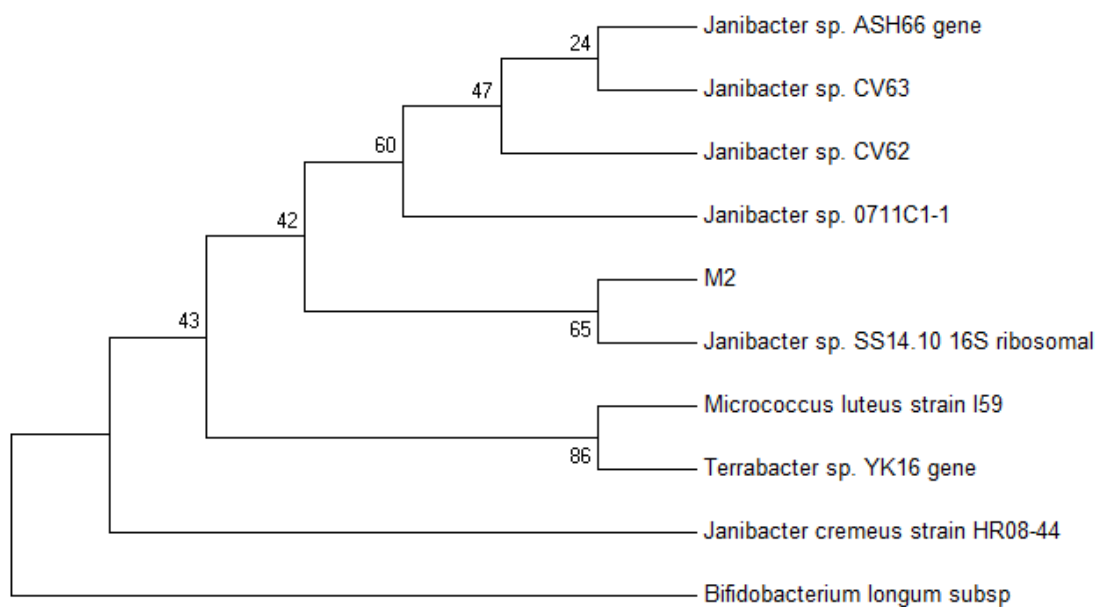
Waktu (Jam)	Isolat	Hasil Identifikasi	Keterangan Identifikasi	Kelimpahan pada saat (cfu/g)
60	M2T0 2	<i>Klebsiella sp</i>	16 rRNA	3,0 x 10 <sup>6</sup>
	M2T0 4	<i>Pichia</i>	-	3,2 x 10 <sup>5</sup>
	M2T0 5	<i>Bacillus substilis</i>	16 rRNA	3,4 x 10 <sup>6</sup>
	M2T0 6	<i>Rhizopus sp</i>	-	6,0 x 10 <sup>5</sup>
	M2T0 7	<i>Trichosporon asahii</i>	ITS	5,0 x10 <sup>5</sup>
	M2T1 6	<i>Pseudomonas</i>	16 rRNA	3,3 x 10 <sup>6</sup>
	M2T1 4	<i>Streptococcus</i>	-	3,1x10 <sup>6</sup>
	M2T1 5	<i>Actinomicet</i>	-	2,2 x 10 <sup>6</sup>
	M2T1 2	<i>Bacillus sp</i>	16 rRNA	2,8 X 10 <sup>6</sup>
	M2T2 1	<i>Cladosporium</i>	ITS	4,0 x 10 <sup>5</sup>
	M2T2 6	<i>Citrobacter</i>	-	2,4x10 <sup>6</sup>
	M2T2 3	<i>Streptococcus</i>	-	3,0x10 <sup>6</sup>
	M2T2 7	<i>Stafilococcus</i>	-	3,0x10 <sup>6</sup>
	M2T3 4	<i>Aspergillus</i>	-	6,0x 10 <sup>5</sup>
	M2T3 2	<i>Lysinimonas sp</i>	16 rRNA	2,4x10 <sup>6</sup>
	M2T3 3	<i>Streptococcus</i>	-	2,1x10 <sup>6</sup>
	M2T3 6	<i>Simplicilium sp</i>	ITS	1,0x10 <sup>5</sup>
	M2T4 3	<i>Bacillus cereus</i>	16 rRNA	2,3X10 <sup>5</sup>
	M2T4 5	<i>Daedaleopsis sp</i>	ITS	1,6 X10 <sup>4</sup>
	M2T4 7	<i>Janibacter sp</i>	16 rRNA	1,1 X10 <sup>5</sup>
	M2T5 3	<i>Gluconobacter sp</i>	16 rRNA	2,3 X10 <sup>5</sup>

**Lampiran B. Pohon Filogenetik Mikroba dari Tempe Malang**

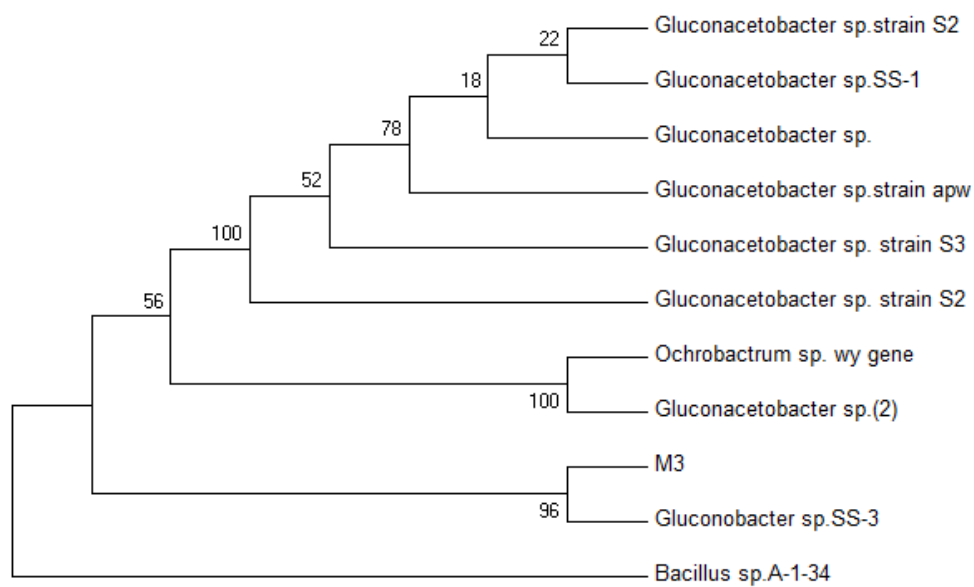
a. M1 (*Bacillus ceureus*)



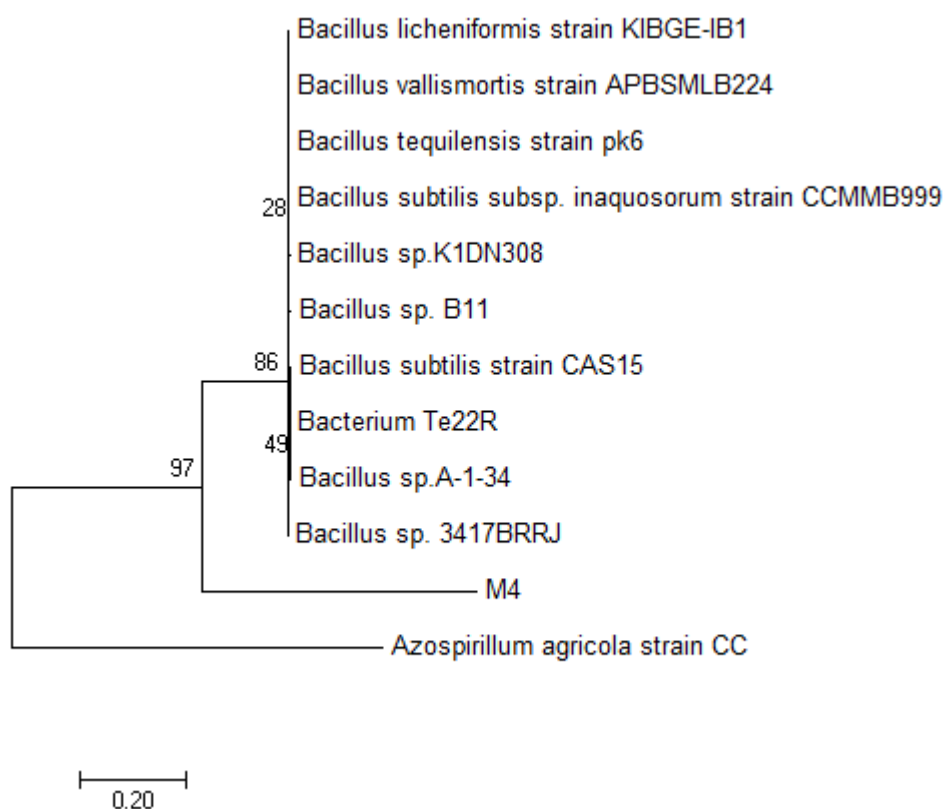
b. M2 (Janibacter)



c. M3 (*Gluconobacter* sp)

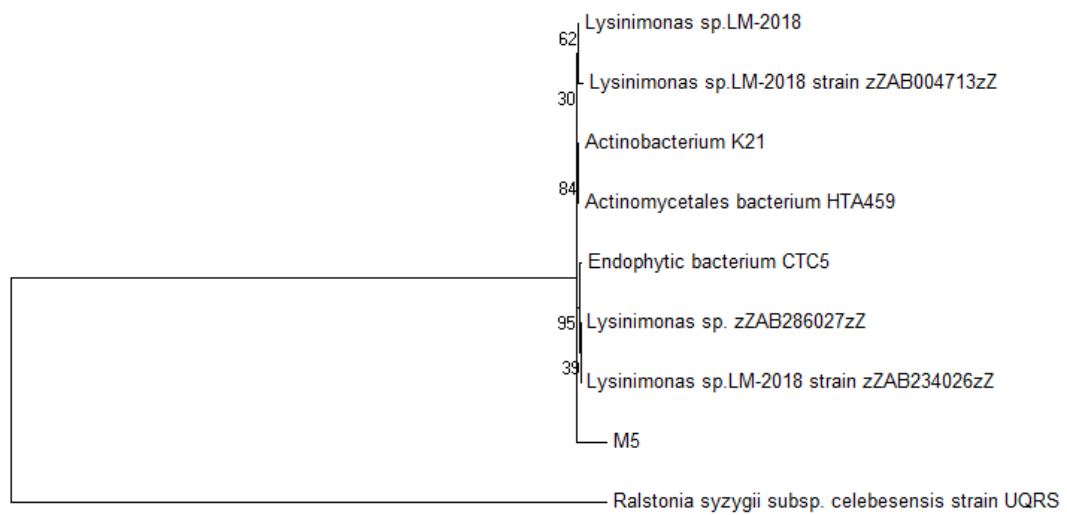


d. M4 (*Bacillus* sp)

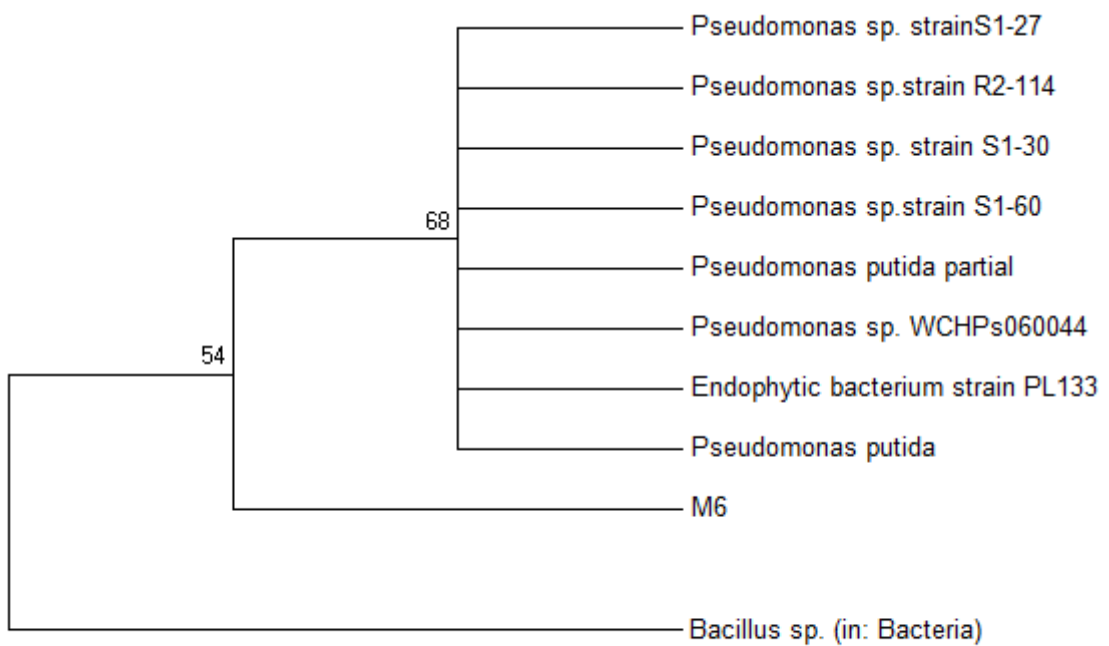


e. M5 (*Lysinimonas*)

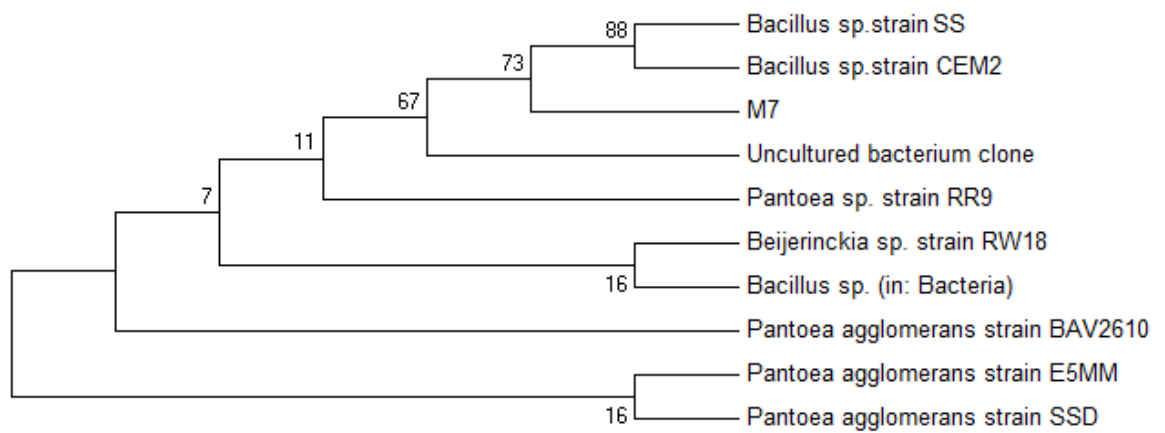




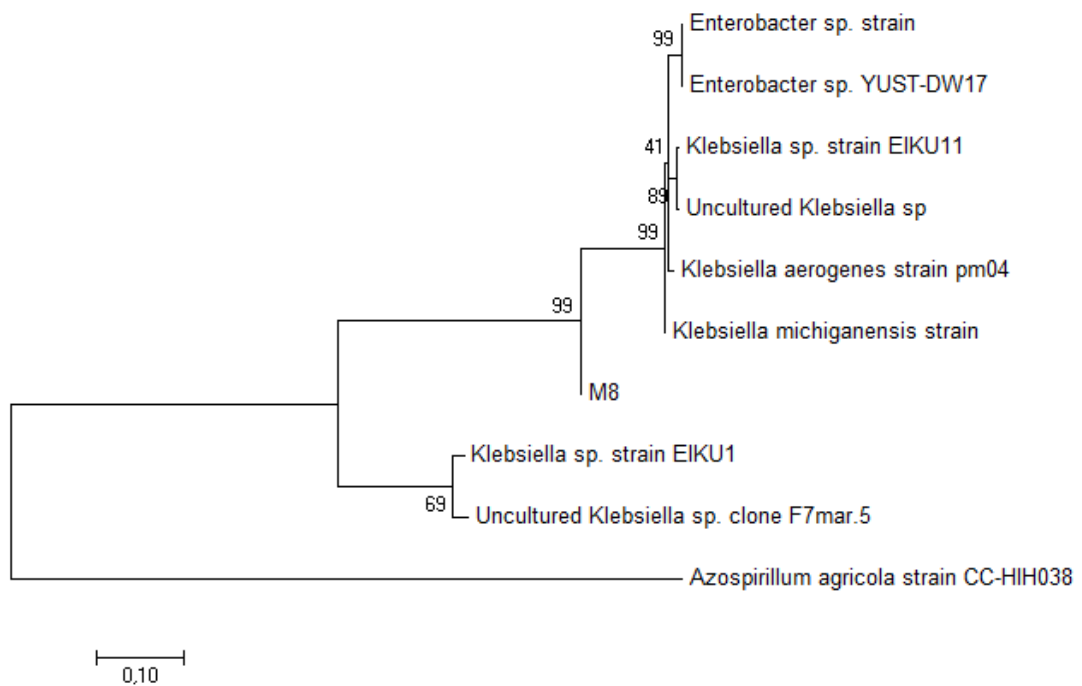
f. M6 (*Pseudomonas*)



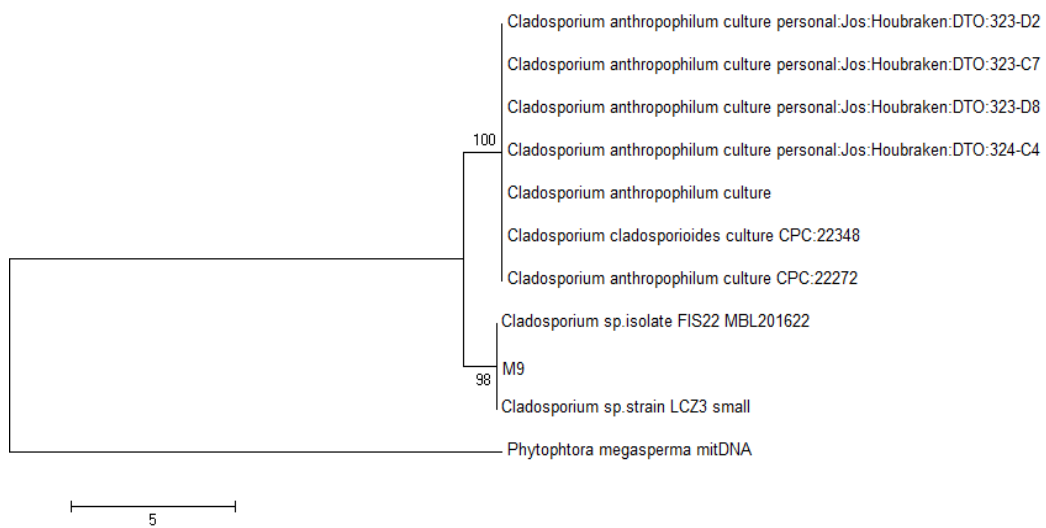
g. M7 (*Bacillus* sp)



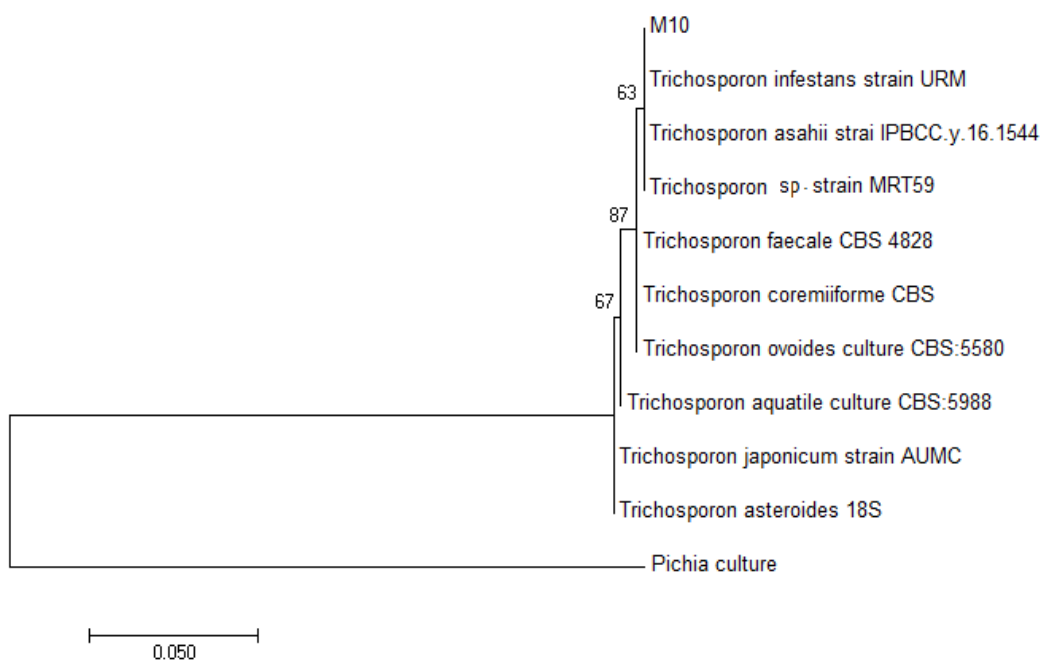
h. M8 (*Klebsiella*)



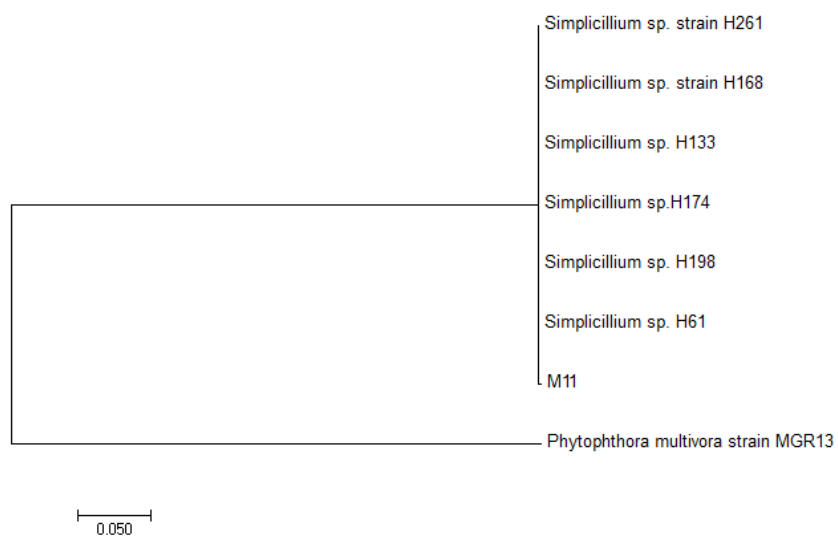
i. M9 (*Cladosporium* sp)



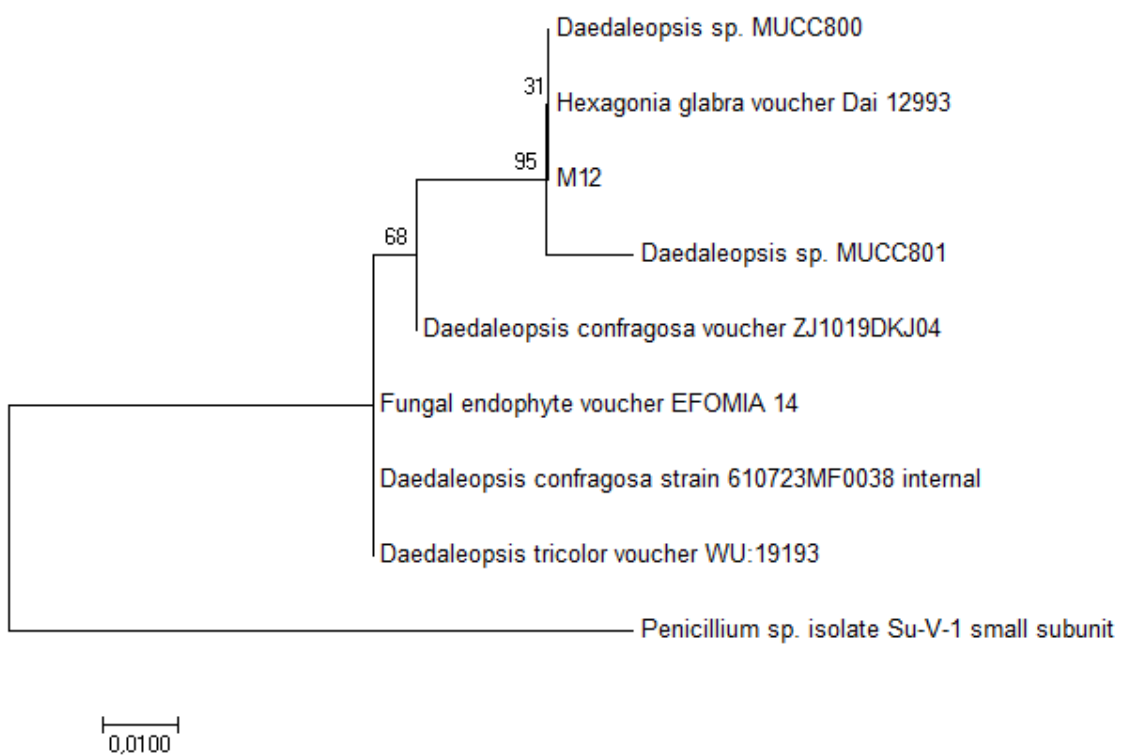
j. M10 (*Trichosporon sp*)



k. M11 (*Simplicillium sp*)



# 1. M12 (*Daedaleopsis* sp.)



**Lampiran C. Tabel penghitungan ALT Jamur, Ragi, dan Bakteri**

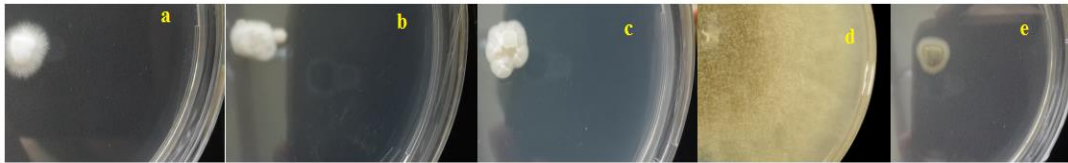
Waktu Fermentasi (jam)	Log ragi dan jamur	Angka Lempeng Total (CFU/MI)	Laju Pertumbuhan Spesifik	Log bakteri	ALT (CFU/g)	Laju Pertumbuhan Spesifik	ph
0	4.63	42500	0.03	5.67	467500	0.07	4.21
12	4.76	58000	0.10	6.04	1087500	0.02	4.37
24	5.3	200500	0.09	6.15	1405000	0.06	4.68
36	5.79	620500	0.01	6.47	2947500	0.01	4.85
48	5.82	659500	-0.01	6.51	3245000	0.02	4.92
60	5.79	618000	0.22	6.59	3907500	0.25	4.90

\*Dihitung dengan persamaan:

$$k \text{ (Laju pertumbuhan spesifik)} = \frac{\text{Log Jumlah Sel T2} - \text{Log Jumlah Sel T1}}{(T2 - T1) / 2.303}$$

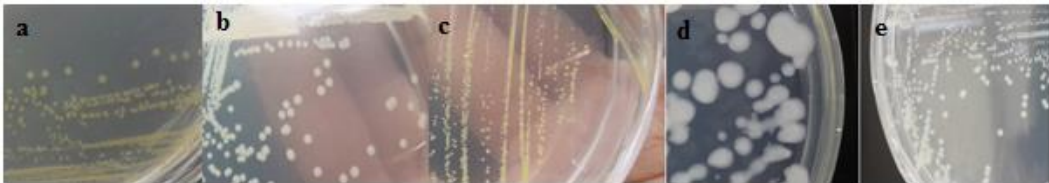
## Lampiran D. Isolat Hasil Isolasi Tempe Malang

### Isolat Jamur



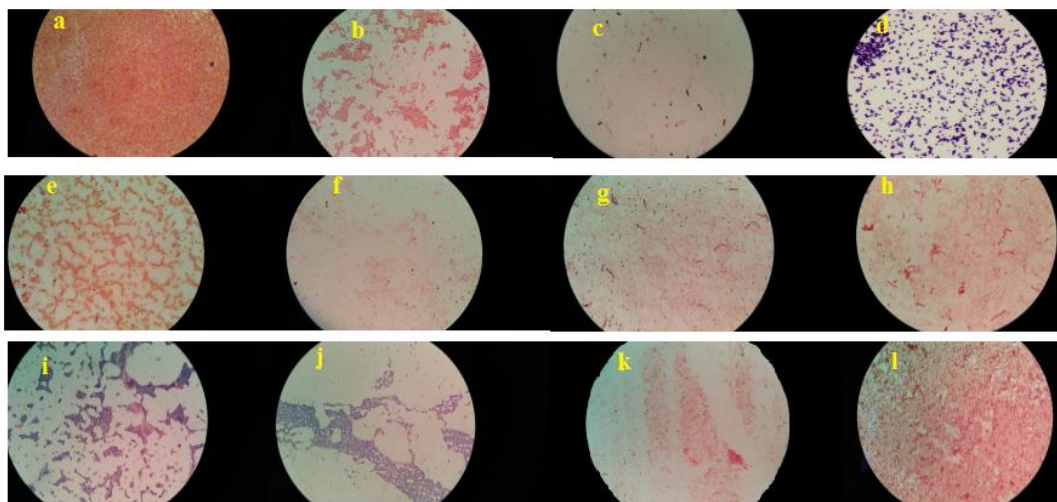
a. *Daedaleopsis* b. *Trichosporon* c. *Simplicilium* d. *Rhizopus* e. *Aspergillus*

### Isolat Bakteri



a. *Bacillus* 5 b. *Pseudomonas* c. *Actinobacterium* d. *Bacillus* e. *Pantoea Aglomerans*



### Gambar Morfologi bakteri



a. *Bacillus* , b. *Pseudomonas*, c. *Klebsiella*, d. *Streptococcus*, e. *Lysinomonas sp.*, f. *Actinobacterium.5*, g. *Bacillus* , h. M19 6, i. M20 2, j. *Stafilococcus*, k. *Streprococcus*, l. *Janibacter* 1. *Citobacter*

## Lampiran E. Hasil Uji Organoleptik dengan metode Uji Deskriptif

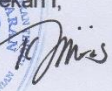
Malang

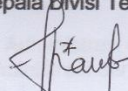
	<b>LABORATORIUM JASA UJI</b> <b>FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN</b> <b>UNIVERSITAS PADJADJARAN</b> <small>Jl. Raya Bandung – Sumedang Km. 21, Jatinangor, Bandung 40600  Telp. (022) 7798844, 7795780, 082126147010 Fax (022) 7795780  e-mail : labjasauji.ftip@unpad.ac.id</small>	
---	--	---

**LAPORAN HASIL PENGUJIAN**  
 No. 279 /lab.uji-DT/FTIP/SF/IV/2017

No.	Nama Sampel	Parameter Analisis	Hasil Analisis	Satuan Hasil	Metode Pengujian
1	Malang 1	Warna Putih-Cokelat	5,93	-	Uji Deskriptif
		Tekstur	5,38	-	
		Manis Awal	3,18	-	
		Rasa Mentah	4,89	-	
		Rasa Pahit ( <i>after taste</i> )	4,53	-	
2	Malang 2	Warna Putih-Cokelat	6,14	-	Uji Deskriptif
		Tekstur	6,89	-	
		Manis Awal	4,70	-	
		Rasa Mentah	5,70	-	
		Rasa Pahit ( <i>after taste</i> )	4,07	-	

Jatinangor, 05 April 2017

Mengetahui :  
Wakil Dekan I,  
  
**Robi Andoyo, STP., M.Sc., Ph.D**  
NIP. 19780302 200312 1 002

Ditetapkan oleh :  
Kepala Divisi Teknis,  
  
**Tia Amina Setiawati, S.Si.**  
NIP. 19770402 199903 2 001



Bandung

	<b>LABORATORIUM JASA UJI</b> <b>FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN</b> <b>UNIVERSITAS PADJADJARAN</b>	
	Jl. Raya Bandung – Sumedang Km. 21, Jatinangor, Bandung 40600 Telp. (022) 7798844, 7795780, 082126147010 Fax (022) 7795780	
	e-mail : labjasauji.ftip@unpad.ac.id	

**LAPORAN HASIL PENGUJIAN**  
No. 644 /lab.uji-DT/FTIP/SF/IX/2017

No.	Nama Sampel	Parameter Analisis	Hasil Analisis	Satuan Hasil	Metode Pengujian
Organoleptik					
1	Tempe Bandung 1	Warna	4,70	-	Uji Deskriptif
		Tekstur	5,99	-	
		Manis Awal	4,76	-	
		Rasa Mentah	3,67	-	
		Rasa Pahit	2,99	-	
2	Tempe Bandung 2	Warna	5,56	-	Uji Deskriptif
		Tekstur	5,02	-	
		Manis Awal	2,96	-	
		Rasa Mentah	4,38	-	
		Rasa Pahit	2,85	-	

Jatinangor, 19 September 2017



Mengetahui :  
Wakil Dekan I,  
Robi Andoyo, STP., M.Sc., Ph.D  
NIP. 19780302 200312 1 002


Ditetapkan oleh :  
Kepala Divisi Teknis,

Tia Amina Setiawati, S.Si.  
NIP. 19770402 199903 2 001

Hasil Pengujian ini hanya berhubungan dengan sampel yang diajukan. Laporan ini tidak boleh diperbanyak tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Jasa Uji – FTIP Unpad; The result of these tests is related only to the sample(s) that is submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of Laboratorium Jasa Uji – FTIP Unpad



## Lampiran F. Hasil Pengujian Asam Amino Tempe Malang




**PT. SARASWANTI INDO GENETECH**  
*The First Indonesian Molecular Biotechnology Company*  
GRANA SIG 1, Hasanielle No. 20 Taman Tasan Bogor 16113, INDONESIA  
 Phone: +62-251-7532348 (hunting) - 082 111 516 516, Fax: +62-251-7546 927, <http://www.sig-indo.com>

No. 28/TP/SMM-SIG  
 Revisi 3

**Result of Analysis**  
No: SIG.LHP.IX.2017.57437

No.	Parameter	Unit	Result	Limit of Detection	Method
1.	Asam amino :				
	L-Histidin	ppm	5747.74	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Threonin	ppm	8673.11	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Prolin	ppm	9773.41	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Tirosein	ppm	7742.93	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Leusin	ppm	16417.10	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Asam Aspartat	ppm	18994.91	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Lisin HCl	ppm	14402.03	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	Glisin	ppm	9160.00	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Arginin	ppm	12653.78	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Alanin	ppm	9063.50	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Valin	ppm	9770.42	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Isoleusin	ppm	9828.40	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Fenilalanin	ppm	12067.07	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Asam glutamat	ppm	36239.60	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
	L-Serin	ppm	11050.08	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
2.	Energi total	kcal / 100 g	204.04	-	Calculation
3.	Energi dari lemak	kcal / 100 g	103.32	-	Calculation
4.	Kadar air	%	62.30	-	SNI 01-2891-1992 butir 5.1
5.	Kadar abu	%	1.04	-	SNI 01-2891-1992 butir 6.1
6.	Lemak total	%	11.48	-	18-8-5/MU/SMM-SIG, Weibull
7.	Protein	%	19.43	-	18-8-31/MU/SMM-SIG, Kjeltac
8.	Karbohidrat total	%	5.75	-	18-8-9/MU/SMM-SIG

Bogor, September 26, 2017  
PT Saraswanti Indo Genetech



**Dwi Yulianto Laksono, S.Si**  
Manager Laboratorium