

Karakterisasi kandungan vitamin B₁₂, folat dan isoflavon tempe kedelai dengan isolat murni *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, dan *Rhizopus stolonifer* sebagai bahan pangan fungsional

Characterization of vitamin B₁₂, folate and isoflavones of soybean tempeh with the pure isolate Rhizopus oryzae, Rhizopus oligosporus, and Rhizopus stolonifer as functional food

Vira Putri Yarlina^{1)*}, Dea Indriani Astuti²⁾

¹Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran

²Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung

*Email korespondensi: vira.putri.yarlina@unpad.ac.id

Informasi Artikel:

Dikirim: 14/08/2020; diterima: 21/12/2020; diterbitkan: 30/03/2021

ABSTRACT

Tempeh is a fermented food ingredient from soybeans that uses various Rhizopus sp, such as Rhizopus oligosporus, Rhizopus oryzae, and Rhizopus stolonifer. Each of Rhizopus sp has enzymes that can produce secondary metabolites so that Tempeh contains Vitamin B₁₂, Folate, and Isoflavones. The aims of research were to determine the content of Vitamin B₁₂, Folate, and Isoflavones produced by pure isolates Rhizopus sp. The method of research used was a descriptive analysis with mixed culture ratio of Rhizopus oryzae, Rhizopus oligosporus, Rhizopus stolonifer inoculums (v/v), namely 1: 1: 1; 1: 2: 1; 2: 1: 2; 1: 1: 2; 2: 1: 1; market molds "Raprima". The analysis of the research were characteristics of tempeh, formation of vitamin B₁₂, folate, isoflavones and total microorganism and organoleptic analysis. All of the products tempeh has characteristics according to SNI 01-3144-2009, the content of vitamin B₁₂ was obtained in yeast "raprima" of 0.013 g / 50g of tempeh while tempeh made with pure inoculums of Rhizopus sp did not contain vitamin B₁₂ or folic acid, pH value of 4.2 and total microorganism Rhizopus sp are R. oryzae 40,5 x 10⁷ CFU/ml, R. oligosporus 13,5 x 10⁷ CFU/ml and R. stolonifer 19 x 10⁷ CFU/ml. Tempe 1: 2: 1 has the characteristics of color, aroma, taste, and texture acceptable to the panelists.

Keywords: Tempeh, Vitamin B₁₂, Folate, Genestein

ABSTRAK

Tempe merupakan bahan makanan hasil fermentasi dari kedelai yang menggunakan berbagai kapang *Rhizopus*, seperti *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus stolonifer*. Masing-masing isolate *Rhizopus* memiliki enzim yang dapat menghasilkan metabolit sekunder yaitu Vitamin B₁₂, Folat dan Isoflavon. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan Vitamin B₁₂, Folat dan isoflavone yang dihasilkan oleh isolate murni *Rhizopus* sp. Pada penelitian ini, metode yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan menggunakan kultur campuran murni inokulum *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus stolonifer* (v/v) yaitu 1:1:1; 1:2:1; 2:1:2; 1:1:2; 2:1:1; ragi pasar "Raprima". Analisis yang diujikan adalah karakteristik tempe, pembentukan Vitamin B₁₂, Folat, dan Isoflavon, Total mikroorganisme dan penerimaan organoleptik. Tempe pada penelitian ini memiliki karakteristik sesuai dengan sesuai SNI 01-3144-2009, kandungan vitamin B₁₂ diperoleh pada ragi "raprima" sebesar 0,013 µg/50g tempe sementara tempe yang dibuat dengan inokulum murni *Rhizopus* sp tidak mengandung

vitamin B₁₂ maupun asam folat, total mikroorganisme *R. oryzae* 40,5 x 10⁷ cfu/ml, *R. oligosporus* 13,5 x 10⁷ cfu/ml dan *R. stolonifer* 19 x 10⁷ cfu/ml serta penerimaan organoleptik tempe 1:2:1 memiliki karakteristik warna, aroma, rasa, dan tekstur dapat diterima oleh panelis.

Kata kunci: Tempe, Vitamin B₁₂, Folat, Genestein

PENDAHULUAN

Tempe merupakan bahan makanan hasil fermentasi dari kedelai yang menggunakan berbagai kapang *Rhizopus* sp, seperti *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus stolonifer* (Jenessen *et al.*, 2008). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2010), konsumsi kedelai di Indonesia mencapai 2,2 juta ton/tahun, di mana sebanyak 50% dari konsumsi pengolahan kedelai berupa tempe, 40% tahu, dan 10% dalam bentuk produk lain (seperti tauco, kecap, dan lain-lain). Oleh sebab itu, pembuatan tempe sudah menjadi industri masyarakat Indonesia.

Rhizopus sp memiliki kemampuan aktivitas enzimatis seperti enzim lipase, amylase, protease yang dapat menghidrolisis senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia seperti memecah karbohidrat, protein dan juga lemak (Jenessen *et al.*, 2008). Enzim hidrolitik seperti lipase, amylase, dan protease dihasilkan berbeda untuk setiap species *Rhizopus*. *Rhizopus oryzae* memiliki aktivitas amylase yang paling besar pada tempe (Kanti, 2017). *Rhizopus oligosporus* memiliki aktivitas protease dan lipase, tetapi aktivitas amylase paling lemah. *Rhizopus stolonifer* memiliki aktivitas amylase dan protease terendah, tetapi memiliki asam laktat lebih tinggi dibandingkan dengan strain lainnya (Priyanka dan Raju, 2013).

Pangan fungsional merupakan makan dan bahan pangan yang memiliki kandungan komponen aktif yang dapat memberikan manfaat bagi kesehatan (Cao *et al.*, 2019). Tempe memiliki banyak manfaat nutrisi bagi kesehatan disebabkan karena kandungan mikronutrien yang dapat memenuhi kebutuhan gizi tubuh.

Tempe memiliki banyak manfaat nutrisi bagi kesehatan disebabkan karena

kandungan mikronutrien yang dapat memenuhi kebutuhan gizi tubuh. Menurut Haizhen *et al.* (2013), tempe memiliki kandungan folat, vitamin B₁₂ dan isoflavon serta kaya akan serat pangan dan kalsium. Menurut Wolkers-Rooijackers *et al.*, (2018), Tempe merupakan produk fermentasi kedelai yang mampu menghasilkan Vitamin B₁₂ sebesar 0,7µg/100g. Pembentukan Vitamin B₁₂ dikarenakan adanya aktivitas *Rhizopus oligosporus* beserta bakteri kontaminan yang terdapat pada tempe *Klasiella pneumoniae* dan *Citrobacter freundii* (Kustyawati *et al.*, 2020). Kedua bakteri ini dikategorikan sebagai *Generally Recognized as Safe* (GRAS) karena termasuk dalam spesies *Propionibacterium freudenreichii* (Morsy *et al.*, 2014).

Folat merupakan golongan vitamin yang larut dalam air yang berperan penting dalam sistem metabolisme tubuh. Menurut Moa *et al.*, (2013), asupan folat berperan penting untuk mencegah terjadinya megaloblastik anemia, mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, kanker dan penyakit kognitif lainnya. Pada tempe mengandung folat sebesar 72,76µg asam folat/100g tempe (Maryati *et al.*, 2019). Peningkatan folat yang dihasilkan oleh tempe karena adanya kontribusi *R. oligosporus* dan kombinasi kapang *Sacharomyces cerevisiae*. Tempe dapat memberikan sekitar sepertiga asupan gizi yang direkomendasikan untuk kandungan folat (FAO/WHO Expert Consultation, 2005).

Isoflavon merupakan salah satu kandungan bioaktif yang berperan penting dalam tubuh. Isoflavon mempunyai peran penting untuk meningkatkan kesehatan manusia antara lain mengurangi risiko penyakit kronis, osteoporosis serta kanker usus. Isoflavon akan dikonversi ke dalam bentuk aglicone yaitu daidzein, genestein dan

glycytein (Astawan *et al.*, 2018). Proses fermentasi merupakan salah satu teknik yang dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis glycosida yang dapat membentuk aglicone, ini disebabkan karena adanya aktivitas mikroba yang terjadi (Moa *et al.*, 2013).

Berdasarkan hal tersebut, adanya peran masing-masing *Rhizopus* sp perlu adanya analisis kandungan vitamin B₁₂, folat dan isoflavin serta pH dan total bakteri dari tempe yang dihasilkan dengan berbagai rasio inokulasi *Rhizopus* sp antara lain *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, dan *Rhizopus stolonifer*.

METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang kedelai varietas Grobogan yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Malang, Jawa Timur. Kapang yang digunakan pada pembuatan tempe yaitu *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, dan *Rhizopus stolonifera* dari LIPI, Cibinong, Bogor. Medium tumbuh yang digunakan PDA, PDB, Larutan NaCl 0,85%, akuades steril, ddH₂O (de-ion), methanol PA.

Alat

Cawan petri, tabung reaksi, gelas kimia, Erlenmeyer, tabung Schoot, pipet ukur, jarum ose, Bunsen, gelas objek, gelas penutup, autoclave, mikropipet, mikroskop, spektrofotometer, Blender, Inkubator, pH meter, spatula, timbangan analitik, vortex dan HPLC.

Rancangan eksperimen

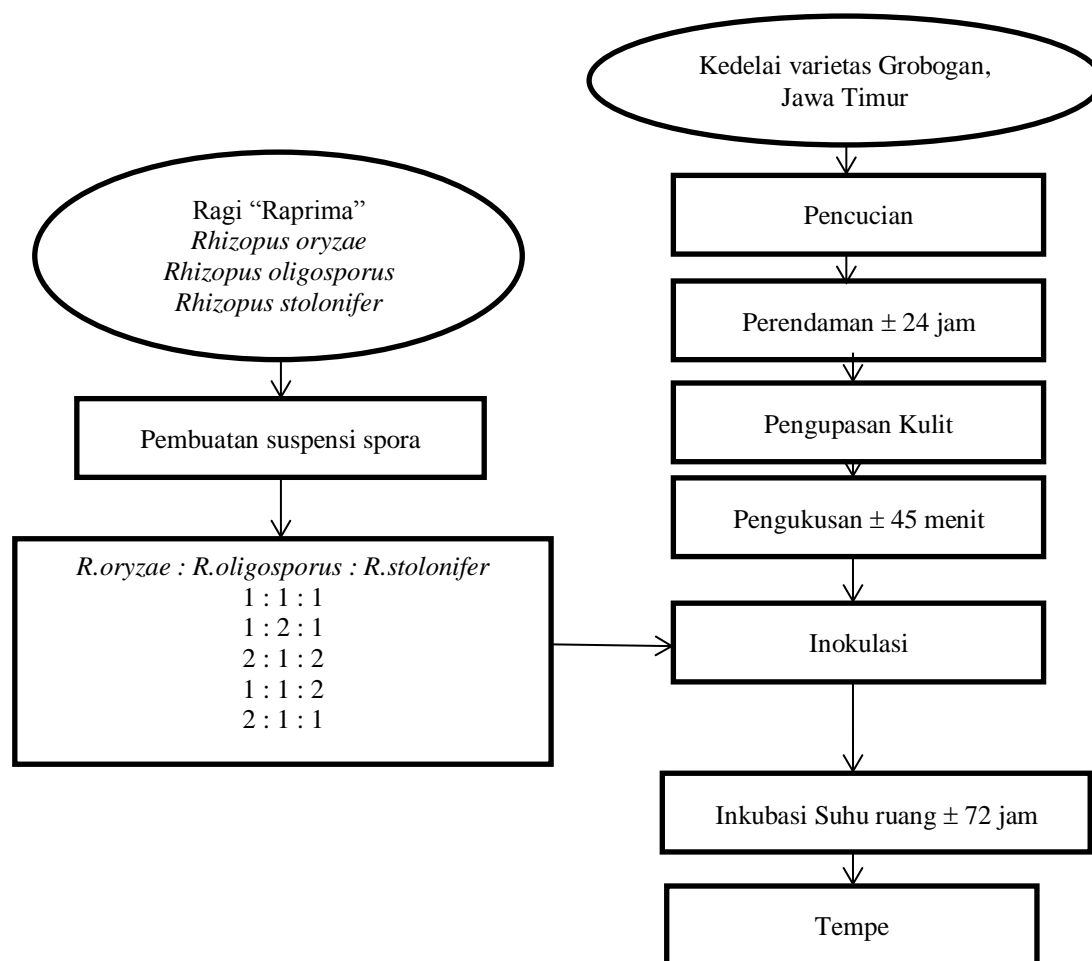
Rancangan eksperimen yang digunakan adalah analisis deskriptif, dengan fermentasi tempe pada suhu ruang $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 72 jam dengan variasi isolate murni antara lain *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, dan *Rhizopus stolonifer* dengan perbandingan 1:1:1; 1:2:1; 2:1:2; 1:1:2; 2:1:1; ragi pasar "Raprima".

Metode pelaksanaan

Pembuatan tempe

Pada pembuatan Tempe, kedelai yang digunakan dipilah dan dibersihkan dari kotoran dengan dicuci. Selanjutnya biji kedelai direndam dengan air sebanyak 1:3 (v/b) selama 24 jam hingga menghasilkan buih pada permukaan air. Proses selanjutnya yaitu pengupasan kulit kedelai sehingga diperoleh keping-keping kedelai sehingga diperoleh kedelai tanpa kulit dan dilakukan pencucian kembali (Cahyadi, 2006).

Tahap selanjutnya kedelai dikukus selama 45 menit, ditiriskan dan didinginkan sebelum dilakukan inokulasi (pembibitan). Inokulasi dilakukan dengan cara mencampur suspensi masing-masing spora *Rhizopus* yaitu *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus stolonifer* sebanyak 10% (v/b) dengan jumlah spora 10^7 - 10^8 /ml. Selanjutnya kedelai yang telah diinokulasi dimasukkan ke dalam plastik dan dilakukan inokulasi pada suhu ruang $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 72 jam. Proses pembuatan tempe dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Alur Pembuatan Tempe (Cahyadi, 2006)

Analisis pengujian tempe

Pengujian Vitamin B₁₂, folat dan isoflavon

Sebanyak ± 2 g sampel ditimbang dalam *beaker glass* kemudian dilarutkan dalam 2 ml ddH₂O (de-ion) dan 8 ml methanol PA. Kemudian diekstrak dengan menggunakan metode ultrasonik selama 10 menit bertujuan untuk memisahkan senyawa pada sampel yang diuji. Sampel yang sudah diekstrak, disentrifuga selama 10 menit dengan 7000 rpm. Supernatan diambil dan siap untuk diuji kandungan vitamin B₁₂, folat dan isoflavon menggunakan HPLC (AOAC International, 2006).

Kondisi HPLC sebagai berikut, yaitu C18 coloumn Li Chrospher 60Rp-Select B (250x 4mm, 5 μ m), Fase Gerak yaitu A. De-ion (ddH₂O) dan B. Metanol PA, Metanol PA sebagai pencuci, Kecepatan alir 1,0 ml/min, Suhu antara lain :

Vitamin B ₁₂	: 30°C
Folate	: 30°C
Isoflavon	: 35 °C
Detektor	: Sinar UV dengan panjang gelombang,
Vitamin B ₁₂	: 361nm
Folat	: 395nm
Isoflavon	: 261 nm

Setelah data muncul dalam bentuk kromatogram (*peak*), maka akan dilihat R_t (*Retention Time*) serta luas area yang terbentuk pada senyawa yang diujikan lalu dibandingkan dengan kromatogram standar. Kromatogram standar diperoleh dengan kurva linier antara konsentrasi standar uji dan luas area yang terbentuk pada *retention time* yang sama.

Pengujian mikrobiologis

Pada tempe dilakukan diambil satu ml dan dilakukan pengenceran hingga 10⁻⁷.

Pada masing-masing pengenceran (10^{-5} - 10^{-7}) dimasukkan ke dalam cawan petri steril, lalu ditambah dengan medium PDA. Setelah agar membeku kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam (Fardiaz, 1992). Mikroba yang tumbuh pada masing-masing lempeng agar kemudian dihitung menggunakan *Total Plate Count* (TPC) (Negara *et al.*, 2016).

Pengujian organoleptik

Uji organoleptik dilakukan oleh 15 orang panelis semi terlatih terhadap sampel tempe dengan panelis diminta untuk memberi tanggapan pribadinya tentang kesukaan/ketidaksukaan terhadap warna, rasa, aroma, dan tekstur (Balarabe *et al.*, 2017). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui penilaian masing-masing panelis terhadap tempe yang dihasilkan. Pengujian yang dilakukan adalah uji hedonik dengan skor penilaian panelis dengan 7 skala numerik yaitu Angka 7 (Amat sangat suka); Angka 6 (Sangat suka); Angka 5 (Suka); Angka 4 (Agak suka); Angka 3 (Agak tidak suka); Angka 2 (Tidak suka); Angka 1 (Sangat tidak suka).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tempe

Tempe pada umumnya memiliki tekstur yang padat karena ditumbuhi merata oleh miselium kapang serta warna yang dihasilkan putih. Pada masing-masing inokulum yaitu *R.oryzae*, *R.oligosporus* dan *R.stolonifer* digunakan jumlah inokulum yang sama yaitu sebesar 10^6 spora/ml. Jumlah inokulum tersebut dapat dihasilkan pada umur inokulum yang sama, sehingga pada proses inokulasi dapat dilakukan pada waktu yang bersamaan.

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 1, kedelai yang difermentasi menggunakan variasi inokulum *Rhizopus* selama 72 jam menunjukkan hasil bahwa pertumbuhan miselium kapang pada masing-masing perlakuan menutupi permukaan kedelai, berwarna putih, memiliki aroma khas tempe serta memiliki struktur yang kompak sesuai dengan SNI 01-3144-2009.







Masing-masing *Rhizopus* sp mempengaruhi warna, tekstur dan aroma pada tempe. Pada masing-masing tempe diperoleh warna yang terbentuk hifa putih. Warna putih ini disebabkan adanya miselia yang tumbuh pada permukaan biji kedelai yang berhasil terbentuk selama proses fermentasi 72 jam. Menurut Sine dan Soetarto (2018), fermentasi tempe dinyatakan selesai apabila kedelai sudah diikat kuat oleh miselium kapang menjadi “cake” putih yang kompak.

Pada tekstur masing-masing tempe, menghasilkan tekstur yang padat. Menunjukkan hasil bahwa masing-masing *Rhizopus* sp mampu menghasilkan spora dan miselium yang banyak pada saat proses fermentasi. Terlihat pada perbandingan volume inokulum *R.oligosporus* 2 kali lipat dibandingkan dengan volume *R.oryzae* dan *R.stolonifer* menghasilkan tekstur yang lebih padat yaitu pada tempe B. Begitu halnya dengan tempe menggunakan ragi pasar “Raprima” menghasilkan tekstur yang lebih padat, disebabkan karena kapang yang dominan pada ragi tersebut yaitu *R.oligosporus*. Menurut Handoyo dan Morita (2006), *R.oligosporus* merupakan kapang yang dominan dalam tempe dan berperan penting dalam Pembentukan tekstur pada tempe. Pada ragi “raprima” dan tempe B masing-masing didominasi oleh *R.oligosporus* sehingga tekstur yang dihasilkan lebih padat dibandingkan dengan tempe lainnya.

Pada umumnya aroma yang dihasilkan dari tempe yaitu aroma khas tempe (spesifik). Menurut Jeleń *et al.* (2013), tempe segar memiliki aroma lembut seperti jamur yang berasal dari miselium kapang bercampur dengan asam amino bebas dan aroma ditimbulkan karena adanya penguraian lemak selama proses fermentasi berlangsung sehingga pada proses ini melibatkan enzim protease dan lipase. Pada tempe D dan E, memberikan aroma ammonia, hal ini disebabkan adanya jumlah bakteri dan pertumbuhan kapang menurun mengakibatkan adanya perubahan cita rasa dan terjadinya degradasi protein sehingga

terbentuk ammonia (Winanti, 2014). Menurut Vital *et al.* (2018), salah satu bakteri kontaminan yang mempengaruhi aroma ammonia pada tempe yaitu *Bacillus subtilis*, bakteri ini mampu mendegradasi protein sehingga terbentuk ammonia pada tempe.

Tabel 1 Hasil pengamatan tempe inkubasi selama 72 jam

Perlakuan	Warna	Tekstur	Aroma	Gambar
<i>Rhizopus oryzae</i> :				
<i>Rhizopus oligosporus</i> :				
<i>Rhizopus stolonifer</i>				
A (1:1:1)	Hifa Putih	Padat	Khas Tempe	
B (1:2:1)	Hifa Putih	Lebih Padat	Khas Tempe	
C (2:1:2)	Hifa Putih	Padat	Khas Tempe	
D (1:1:2)	Hifa Putih	Padat	Bau ammonia	
E (2:1:1)	Hifa Putih	Padat	Bau ammonia	
Kontrol "Raprima"	Hifa Putih	Lebih Padat	Khas Tempe	

Pengujian tempe

Vitamin B₁₂, folat dan isoflavon

Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, dapat dilihat bahwa kandungan vitamin B₁₂ diperoleh pada ragi "raprima" sebesar 0,013µg/50g tempe sementara tempe yang dibuat dengan inokulum murni *Rhizopus* sp tidak mengandung vitamin B₁₂ maupun asam folat. Beberapa peneliti menyebutkan bahwa pada ragi tersebut memiliki kandungan *R. oligosporus* yang

dominan dan terdapat bakteri yang membantu proses fermentasi kedelai menjadi tempe. Salah satu bakteri umum ditemukan pada tempe dan dapat membantu proses fermentasi kedelai menjadi tempe adalah *Klebsiella pneumoniae* (Zhang *et al.*, 2019).

Menurut Feng (2006), bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Kl. pneumoniae* spp. *ozenae*, *Kl. terrigena*, *Kl. planticola* dan *Enterobacter cloacae* dapat memproduksi vitamin B₁₂. Menurut (Barus *et al.*, 2010),

selama proses fermentasi bukan hanya kapang yang dapat tumbuh melainkan diiringi dengan adanya pertumbuhan bakteri untuk meningkatkan aroma, rasa dan nutrisi yaitu bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Pada perlakuan lainnya, tempe berdasarkan masing-masing perbandingan tidak menunjukkan nilai vitamin B₁₂. Hal ini disebabkan karena inokulum yang digunakan merupakan inokulum murni (*pure culture*) dari masing-masing *Rhizopus* sp. Menurut (Moa *et al.*, 2013), kapang (*fungi*) dan tanaman sangat sedikit memproduksi vitamin. Masing-masing perbandingan inokulum tersebut belum mampu biosintesis vitamin B₁₂ tersebut sehingga pada saat analisis pengujian HPLC, tidak terdapat puncak yang dihasilkan. Menurut (Moa *et al.*, 2013), perlu adanya bakteri dalam proses biosintesis vitamin, disebabkan karena asam amino yang dihasilkan pada bakteri tersebut dimanfaatkan sebagai prekursor pada pembentukan vitamin B₁₂. Berdasarkan hasil aroma pada tempe, tempe D dan E diduga adanya bakteri yang menyebabkan aroma ammonia, tetapi bakteri ini tidak mampu memproduksi vitamin B₁₂, sehingga vitamin B₁₂ tidak terdeteksi.

Pada masing-masing perlakuan tempe menunjukkan hasil bahwa tidak terdapatnya kandungan folat. Hal ini disebabkan karena protein yang bertindak sebagai prekursor yang dihasilkan pada fermentasi tempe tersebut tidak mampu dimetabolisme menjadi folat. Menurut Asmoro (2016), *Rhizopus* sp tidak mampu menghasilkan enzim yang dapat membantu proses biosintesis folat. Pada umumnya, biosintesis folat dapat terjadi disebabkan oleh adanya fermentasi dari bakteri. Bakteri yang mampu melakukan biosintesis pada folat yaitu bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat memiliki enzim γ -glutamyl hydrolase yang mampu meningkatkan kandungan folat pada makanan.

Konsentrasi genestein mengalami peningkatan disebabkan oleh adanya

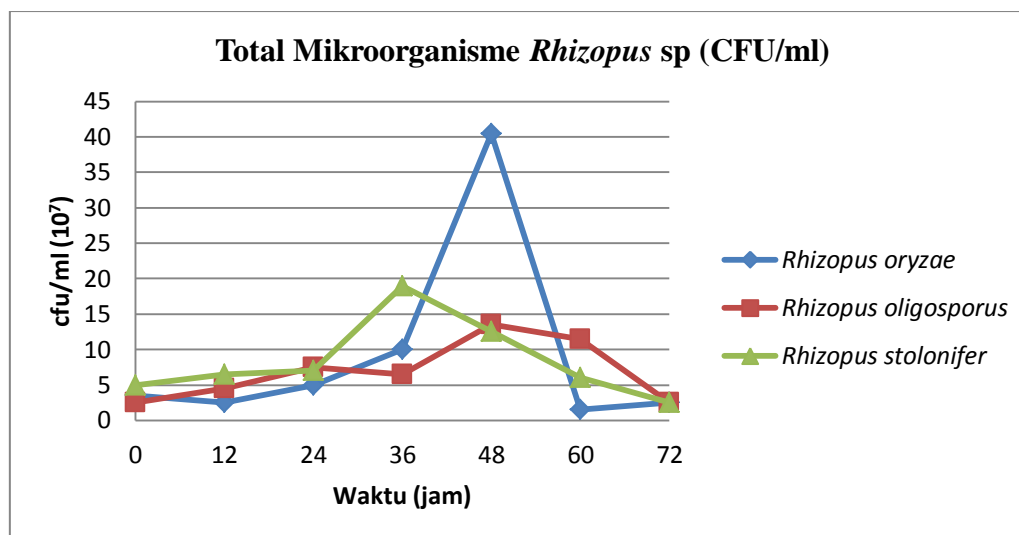
aktivitas β -glucosidase yang terjadi karena aktivitas bakteri asam laktat. Pada pembuatan tempe, tidak ditemukan adanya kandungan genestein dikarenakan pertumbuhan *Rhizopus* sp yang mendominasi Pembentukan tempe. Enzim β -glucosidase dipengaruhi oleh kandungan protein dan glukosa pada substratnya, sehingga kandungan tersebut dipecah oleh enzim β -glucosidase menjadi aglikon dan diperoleh senyawa-senyawa isoflavon. Adanya kerjasama antara fungi dan bakteri asam laktat mampu meningkatkan pembentukan isoflavon pada proses fermentasinya (Shao-Quan dan Marlene, 2009).

Nilai total mikroorganisme

Menurut Asmoro (2016), salah satu faktor keberhasilan dalam pembuatan tempe adalah keaktifan laru/kapang yang digunakan. Pertumbuhan mikroorganisme yang digunakan antara lain *R.oryzae*, *R.oligosporus*, dan *R.stolonifer* dilihat dengan total mikroorganisme yang tumbuh pada proses pembuatan tempe.

Berdasarkan hasil *Total Plate Count* (TPC) pada tempe, menunjukkan hasil bahwa seluruh perlakuan tempe mengandung spora dalam jumlah yang memenuhi SNI 01-3144-2009 yaitu *R. oryzae* $40,5 \times 10^7$ cfu/ml, *R.oligosporus* $13,5 \times 10^7$ cfu/ml dan *R. stolonifer* 19×10^7 cfu/ml. *Total plate count* (TPC) *Rhizopus* sp dapat dilihat pada gambar 2.

Pada Pembentukan tekstur pada tempe, ditunjukkan dengan pertumbuhan *Rhizopus* sp yang mampu menghasilkan hifa sehingga karakteristik tempe yang dihasilkan kompak. Berdasarkan Gambar 2, bahwa pertumbuhan spesifik pertumbuhan *R.oryzae* dan *R.stolonifer* memiliki nilai lebih rendah yaitu sebesar 0,050/jam dibandingkan dengan *R.oligosporus* sebesar 0,045/jam. Oleh sebab itu, tekstur terdapat pada tempe tersebut tidak lebih padat dibandingkan dengan ragi “raprima” yang didominasi oleh kapang *R.oligosporus* dan Tempe B.



Gambar 2. Total Plate Count (TPC) *Rhizopus* sp

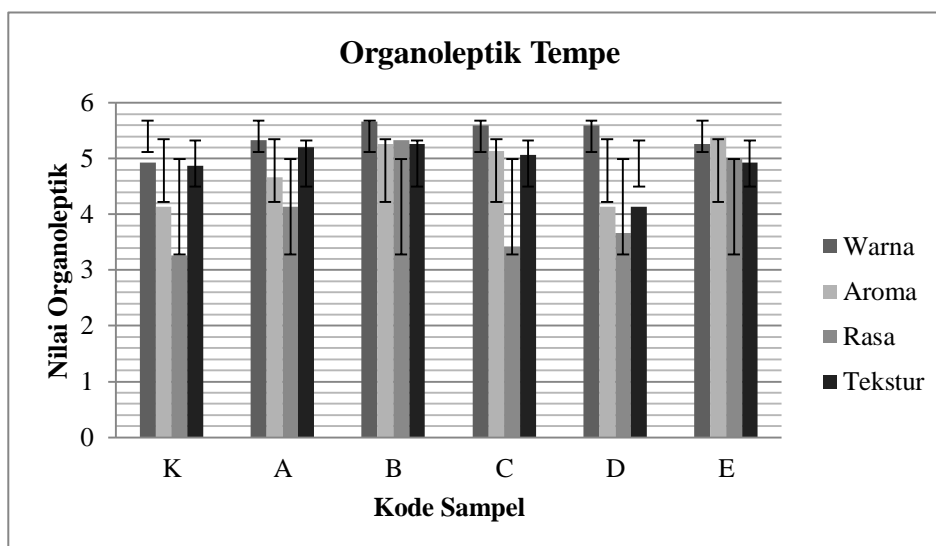
Pengujian organoleptik

Pengujian organoleptik bertujuan untuk mengetahui tingkat kesukaan semi panelis terlatih terhadap tempe yang dihasilkan. Uji yang digunakan adalah uji hedonik (uji kesukaan) dengan parameter warna, aroma, rasa, dan tekstur (Sulistiyarsi *et al.*, 2018).

Pada pengujian organoleptik menunjukkan hasil bahwa perlakuan tempe pada berbagai konsentrasi *Rhizopus* sp tidak memberikan beda nyata terhadap warna,

namun memberikan hasil berbeda nyata terhadap aroma, rasa, dan tekstur.

Berdasarkan gambar 3, penerimaan kesukaan tempe secara umum dapat diketahui bahwa nilai rata-rata yang dihasilkan pada masing-masing karakteristik uji organoleptik pada panelis semi terlatih menerima tempe B dengan perbandingan konsentrasi *R.oryzae*, *R.oligosporus* dan *R.stolonifer* sebesar 1:2:1. Hasil organoleptik tempe dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil analisis uji kesukaan tempe secara umum pada warna, aroma, rasa, dan tekstur.

Berdasarkan penampakan visual oleh panelis, menunjukkan tidak ada perbedaan warna yang terbentuk, sehingga faktor proses fermentasi oleh masing-masing *Rhizopus* sp tidak mempengaruhi Pembentukan warna

yang dihasilkan. Pada organoleptik aroma, umumnya panelis menyukai aroma khas tempe. Aroma khas terbentuk akibat adanya miselium kapang yang bercampur dengan aroma asam amino bebas dan asam lemak

bebas hasil aktivitas kapang *Rhizopus* sp selama proses pengolahan tempe (Jeleń *et al.*, 2013).

Pada rasa tempe, para penulis umumnya menunjukkan nilai yang bervariasi, dikarenakan ada rasa yang tertinggal (*aftertaste*) yang dihasilkan dari tempe. Rasa khas tempe dipengaruhi oleh asam amino yang dihasilkan pada proses fermentasi dengan adanya aktivitas mikroorganisme (Barus *et al.*, 2008). Pada tekstur tempe, penilaian dari panelis menunjukkan hasil bahwa tekstur yang dihasilkan dari tempe dengan menggunakan rasio *Rhizopus* sp disukai atau dapat diterima oleh panelis. Tekstur pada tempe dihasilkan oleh adanya aktivitas mikroorganisme *Rhizopus* sp dalam membentuk hifa, sehingga tekstur menjadi padat (Sine dan Soetarto, 2018).

KESIMPULAN

Tempe menggunakan kultur campuran murni dengan rasio antar inokulum yaitu *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus Stolonifer*. Karakteristik fisik yang dihasilkan pada tempe yaitu memiliki tekstur kompak, diselimuti dengan miselium hifa putih. Tempe menggunakan ragi pasar "RAPRIMA" mampu menghasilkan kandungan Vitamin B₁₂ sebesar 0,013µg/50g tempe sementara tempe yang dibuat dengan inokulum murni *Rhizopus* sp tidak mengandung vitamin B₁₂ maupun asam folat. total mikroorganisme *R. oryzae* 40,5 x 10⁷ cfu/ml, *R. oligosporus* 13,5 x 10⁷ cfu/ml dan *R. stolonifer* 19 x 10⁷ cfu/ml yang menentukan aktivitas *Rhizopus* sp. Penerimaan organoleptik tempe 1:2:1 memiliki nilai yang disukai dan dapat diterima oleh panelis dengan memiliki karakteristik warna, aroma, rasa, dan tekstur khas tempe.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Rektor Universitas Padjadjaran dan Institut Teknologi Bandung, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan dan Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia atas dukungan yang diberikan kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC International. (2006). Official methods of analysis of aoac international. *Aoac, February*, 3172. https://www.techstreet.com/standards/official-methods-of-analysis-of-aoac-international-20th-edition-2016?product_id=1937367
- Asmoro, N. W. (2016). Asam folat pada fermentasi tempe kedelai hitam. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 2(1), 66–72.
- Astawan, M., Mardhiyyah, Y. S., & Wijaya, C. H. (2018). Potential of bioactive components in tempe for the treatment of obesity. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 13(2), 79–86. <https://doi.org/10.25182/jgp.2018.13.2.79-86>
- Balarabe, M.M, Mohammed, S.S.D., & Orukotan, A. . (2017). Physico-chemical analysis and sensory evaluation of bread produced using different indigenous yeast isolates. *Science World Journal*, 12(1597–6343), 33–37.
- Barus, T., Suwanto, A., & Agustina, W. (2010). *Analisis Matagenom Komunitas Bakteri Tempe dengan Teknik Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) Metagenomic Analysis of Bacterial Diversity in Tempe using Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) Technique*. 15(April), 2.
- Barus, T., Suwanto, A., Tri wahyudi, A., & Wijaya, H. (2008). Role of bacteria in tempe bitter taste formation: microbiological and molecular biological analysis based on 16s rna

- gene. *Microbiology Indonesia*, 2(1), 17–21. <https://doi.org/10.5454/mi.2.1.4>
- Cahyadi, W. (2006). *Kedelai Khasiat dan teknologi*. Bumi Aksara.
- Cao, Z. H., Green-Johnson, J. M., Buckley, N. D., & Lin, Q. Y. (2019). Bioactivity of soy-based fermented foods: A review. *Biotechnology Advances*, 37(1), 223–238. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.12.001>
- FAO/WHO Expert Consultation. (2005). Human Vitamin and Mineral Requirements. *Geneva: World Health Organization, 2nd ed*, 341 p. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/42716>
- Feng, X.M., T. O. L., & Schnurer, J. (2006). Production of volatile compounds by rhizopus oligosporus during soybean and barley tempeh fermentation. *Journal of Food Microbiology*, 113, 133–141.
- Handoyo, T., & Morita, N. (2006). Structural and functional properties of fermented soybean (Tempeh) by using rhizopus oligosporus. *International Journal of Food Properties*, 9(2), 347–355. <https://doi.org/10.1080/10942910500224746>
- Jeleń, H., Majcher, M., Ginja, A., & Kuligowski, M. (2013). Determination of compounds responsible for tempeh aroma. *Food Chemistry*, 141(1), 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.047>
- Jennessen, J., Schnürer, J., Olsson, J., Samson, R. A., & Dijksterhuis, J. (2008). Morphological characteristics of sporangiospores of the tempe fungus *Rhizopus oligosporus* differentiate it from other taxa of the *R. microsporus* group. *Mycological Research*, 112(5), 547–563. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.11.006>
- Kanti, A.-. (2017). Potensi dari kapang *aspergillus niger*, *rhizophus oryzae* dan *neurospora sitophila* sebagai penghasil ezim fitase dan amilase pada substrate ampas tahu. *Buletin Peternakan*, 41(1), 26. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v41i1.13337>
- Kustyawati, M. E., Subeki, Murhadi, Rizal, S., & Astuti, P. (2020). Vitamin B12 production in soybean fermentation for tempeh. *AIMS Agriculture and Food*, 5(2), 262–271. <https://doi.org/10.3934/AGRFOOD.2020.2.262>
- Maryati, Y., Susilowati, A., Melanie, H., & Lotulung, P. D. (2019). Fermentation of soybean (*Glycine max* (L.) merr) using mix inocula of *Rhizopus* sp. and *Sacharomyces cereviceae* for alternative source of folic acid. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 536(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/536/1/012124>
- Moa, H., Kariluoto, S., Piironen, V., Zhu, Y., Sanders, M. G., Vincken, J. P., Wolkers-Rooijackers, J., & Nout, M. J. R. (2013). Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate, vitamin B12 and isoflavones in tofu and tempe. In *Food Chemistry* (Vol. 141, Issue 3, pp. 2418–2425). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.017>
- Morsy O.M., Sharoba, A. M., Bahlol, H., & Abdel-mawla, E. (2014). Production and evaluation of extruded food products by using spirulina algae. *Annals of Agric. Sci., Moshtohor*, 52(4), 329–342.
- Negara, J. K., Sio, A. K., Rifkhan, R., Arifin, M., Oktaviana, A. Y., Wihansah, R. R. S., & Yusuf, M. (2016). Aspek mikrobiologis, serta Sensori (Rasa, Warna, Tekstur, Aroma) Pada Dua Bentuk Penyajian Keju yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 4(2), 286–290. <https://doi.org/10.29244/jipthp.4.2.286-290>
- Priyanka, P., & Jaya Raju, K. (2013). Neutral

- protease production by *Rhizopus oligosporus* NCIM 1215 under solid state fermentation using mixed substrates of agro industrial residues. *International Journal of Chemical Sciences*, 11(1), 291–305.
- Shao-Quan, L; Marlene, T. (2009). Enhancement of survival of probiotic and non-probiotic lactic acid bacteria by yeast in fermented milk under non-refrigerated condition. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 34–38.
- Sine, Y., & Soetarto, E. S. (2018). Perubahan Kadar Vitamin Dan Mineral Pada Fermentasi Tempe Gude (*Cajanus cajan* L.). *Jurnal Saintek Lahan Kering*, 1(1), 1–3. <https://doi.org/10.32938/slk.v1i1.414>
- Sulistiyarsi, A., Pujiati, & Erviyanti, D. (2018). Uji Kandungan Protein Dan Uji Organoleptik Terhadap Kualitas Tempe berbahan dasar kacang-kacangan. *Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS I, June*, 161–165.
- Vital, R. J., Bassinello, P. Z., Cruz, Q. A., Carvalho, R. N., De Paiva, J. C. M., & Colombo, A. O. (2018). Production, quality, and acceptance of tempeh and white bean tempeh burgers. *Foods*, 7(9). <https://doi.org/10.3390/foods7090136>
- Winanti, R. (2014). Higienitas Produk Tempe Berdasarkan Perbedaan Metode Inokulasi. *Unnes Journal of Life Science*, 3(1), 39–46.
- Wolkers – Rooijackers, J. C. M., Endika, M. F., & Smid, E. J. (2018). Enhancing vitamin B12 in lupin tempeh by in situ fortification. *Lwt*, 96(September 2017), 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.062>
- Zhang, S. J., De Bruyn, F., Pothakos, V., Contreras, G. F., Cai, Z., Moccand, C., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2019). Influence of Various Processing Parameters on the Microbial Community Dynamics, Metabolomic Profiles, and Cup Quality During Wet Coffee Processing. *Frontiers in Microbiology*, 10(November), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02621>