

OPTIMALISASI RESPON pH PADA PEMBUATAN TEMPE LOTUS (*Nelumbo nucifera*) TERHADAP KOMPOSISI MIKROBIOLOGI

Optimalization Process Variable of Lotus Tempeh Making On Microbiological Composition

Silvia Nainggolan¹⁾, Sherly Ridhowati^{1*)}, Siti Hanggita Rachmawati¹⁾, Gama Dian Nugroho¹⁾, Feny Marissa²⁾

¹⁾Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya 30662, Indonesia

²⁾Program Studi Ekonomi Pembangunan, Fakultas Ekonomi Universitas Sriwijaya 30662, Indonesia

korespondensi: sherlyridhowati@unsri.ac.id

Diterima: 15 Agustus 2022; Disetujui: 24 Oktober 2022

ABSTRACT

This study aimed to determine the best combination of lotus tempeh making and the composition of microorganism that live in fermented lotus seeds. This study has used 2 stages of research design; the first stage was optimizing the best process treatment for making fermented lotus (lotus seed tempeh) using the Response Surface Methodology (RSM) Box Behnken design with Minitab software version 19, then data of 1 stages analyzed for the total fungi, total BAL, Aw by descriptive. The results of optimizing lotus seed tempeh contained a total fungus of $5.30 \pm 0.64 \log \text{ cfu/gr} - 5.35 \pm 0.01 \log \text{ cfu/g}$, and $6.61 \pm 0.00 \log \text{ cfu/gr} - 6.66 \pm 0.02 \log \text{ cfu/gr}$ total BAL with a pH value ranging from 4.70 to 6.80. The value mean of a_w on lotus seed tempeh ranged from 0.85 - 0.86.

Keywords: lotus seeds, fungi, lactic acid bacteria, tempeh

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi proses terbaik pada pembuatan tempe lotus dan komposisi mikroorganisme yang hidup pada fermentasi biji lotus. Penelitian ini terdiri dari dua tahapan yaitu, tahap pertama optimalisasi perlakuan proses terbaik pada pembuatan lotus fermentasi (tempe biji lotus) menggunakan Rancangan *Response Surface Methodology (RSM) Box Behnken design* dengan Software minitab versi 19, dan tahap kedua dilakukan pengujian parameter dari hasil data berupa total jamur, total BAL, dan aktivitas air secara deskriptif. Hasil dari optimalisasi tempe biji lotus mengandung total jamur $5.30 \pm 0.64 \log \text{ cfu/gr} - 5.35 \pm 0.01 \log \text{ cfu/g}$, total bakteri asam laktat (BAL) $6.64 \pm 0.00 \log \text{ cfu/gr} - 6.66 \pm 0.02 \log \text{ cfu/gr}$ dengan nilai pH sebesar 4.70 sampai 6.80, dan nilai rerata a_w pada tempe biji lotus berkisar antara 0.85 – 0.86.

Kata kunci: bakteri asam laktat, biji lotus, jamur, tempe

PENDAHULUAN

Lotus (*N. Nucifera*) merupakan tanaman yang mirip dengan teratai (*Nymphae* sp.) dari segi habitat dan bentuknya. Menurut Hidayat *et al.* (2009), tumbuhan lotus sudah banyak dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional (*bakery and beverage*) seperti biskuit, mie, dan minuman fermentasi, namun pengolahannya menjadi produk fermentasi biji lotus menjadi tempe masih terbatas. Menurut Wu *et al.* (2007),

kandungan dari biji lotus tersusun atas protein, asam lemak tak jenuh, mineral dan pati. Pada penelitian Lestari *et al.* (2016), kandungan dari biji lotus mentah mengandung kadar air 11,18%, kadar abu 3.81%, lemak 1.86%, protein 24.14% dan total kandungan karbohidrat dalam basis basah berkisar 58.91%.

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional yang merupakan hasil fermentasi dari aktivitas jamur *Rhizopus* sp. Menurut Sarwono (2004), Kualitas tempe yang baik

ditunjukkan dengan ciri-ciri putih bersih yang merata pada permukaan, memiliki struktur yang homogen dan kompak, serta berasa, berbau dan beraroma khas tempe.

Proses pembuatan tempe meliputi proses pencucian, perebusan, perendaman, inokulasi, pembungkusan sampai proses fermentasi biji lotus menggunakan ragi untuk menumbuhkan jamur *Rhizopus* sp. Menurut Chutrtong dan Bussabun (2014), mikroorganisme yang terlibat pada proses pembuatan tempe adalah strain-strain spesies *Rhizopus*; *Rhizopus oligosporu*, *R. Oryzea*, *R. Stolonifer* (kapang roti), atau *R. Arrhizus*. Menurut penelitian Efriwati et al. (2013) dan Nurdini et al. (2015), menyatakan bahwa bakteri asam laktat (BAL) dan kapang adalah mikroorganisme yang dominan pada tempe dalam jumlah tinggi (10^7 - 10^8 CFU/g). BAL yang memiliki potensi sebagai kandidat probiotik dapat diperoleh pada produk fermentasi.

Tempe merupakan produk fermentasi dari biji kedelai dengan menggunakan ragi atau kapang. Sampai saat ini masyarakat sudah banyak mengkonsumsi tempe dengan bahan baku biji kedelai yang memiliki kandungan gizi melalui fermentasi yang menghasilkan aroma dan rasa yang khas. Selain pemanfaatan biji kedelai, pembuatan tempe juga dapat menggunakan bahan baku non kedelai salah satunya biji tanaman lotus. Pada penelitian Lestari et al. (2016), pada proses pembuatan natto berbahan biji lotus, terjadi perubahan gizi biji lotus yang diakibatkan oleh proses fermentasi yaitu dengan kadar protein 27.18% meningkat menjadi 34.09%, kadar lemak dari 2.09% menjadi 3.39%, sedangkan untuk nilai kandungan karbohidrat mengalami penurunan dari kisaran 66.33% menjadi 57.49% dalam basis kering.

Fermentasi tempe merupakan proses yang memanfaatkan kemampuan mikroorganisme. Proses berlangsungnya fermentasi menimbulkan pertumbuhan jamur yang berperan dalam pembuatan tempe. Menurut Adam and Moss (2008), proses fermentasi membutuhkan kondisi fermentasi dan jenis mikroorganisme dengan karakteristik tertentu. Aktivitas mikroorganisme yang terjadi selama proses fermentasi berperan pada transformasi bahan pangan sehingga menghasilkan

kandungan nutrisi dan cita rasa yang baik (Bigot et al., 2008). Menurut Soka et al. (2015), kelompok mikroorganisme bakteri asam laktat dapat membuat tempe yang menjadi sumber probiotik untuk meningkatkan respon sistem kekebalan tubuh.

Komposisi mikroorganisme yang tumbuh pada tempe lotus juga akan mempengaruhi kualitas gizi dan sensoris terutama variabel asam hasil dari perombakan senyawa kompleks dari biji lotus, terutama respon kondisi pHnya. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan hasil dari studi awal dari tempe biji lotus yang akan dikembangkan sebagai produk pangan baru berdasarkan syarat mutu pangan dan pangan fungsional. Akan tetapi, analisa respon pH terbaik untuk pertumbuhan mikroorganisme seperti potensi BAL dan total jamur selama proses fermentasi biji lotus belum dilakukan,. Maka penelitian ini perlu dilanjutkan untuk mengetahui mikroorganisme khususnya jamur dan bakteri asam laktat pada tempe biji lotus. Optimalisasi pada penelitian ini dilakukan untuk mencari proses terbaik pada pembuatan tempe biji lotus, mempercepat waktu penelitian dan memaksimalkan biaya penelitian, salah satunya melalui pendekatan RSM (*Response Surface Methodology*)-*BoxBehnken*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Pengolahan Hasil Perikanan, Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan, dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Perikanan, Teknologi Hasil Perikanan Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Pada bulan Oktober 2021 sampai Juli 2022.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Aw meter merk WA-60A, pH meter merk Eutech pH700, colony meter merk Galaxy 230, dan alat gelas kimia lainnya.

Bahan utama yang digunakan adalah biji lotus yang diperoleh di pasaran komersil, ragi tempe merk Rampi, PDA (*Potato Dextrose Agar*) Merck, MRSA (*deMan*

Ragosa Sharpe Agar) Merck, dan bahan kimia untuk analisa.

Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan 2 tahapan yaitu:

tahapan pertama mencari optimalisasi perlakuan terbaik pada pembuatan biji lotus fermentasi (tempe lotus) berdasarkan respon pH dan total BAL menggunakan *Response Surface Methodology (RSM) Box Behnken design* menggunakan Software minitab versi 19 (Tabel 1 dan 2). Kemudian, tahapan kedua berupa perlakuan terbaik dari tahap 1 dianalisa secara deskriptif untuk data total BAL, total jamur, dan Aw.

Cara Kerja

Adapun cara kerja proses pembuatan biji lotus fermentasi (tempe lotus) (Sarti et al. 2019; Ridhowati et al. 2020) adalah sebagai berikut :

1. Biji lotus yang sudah dibersihkan dari kulitnya, dicuci hingga bersih.
2. Biji lotus kemudian direbus selama 15 menit dengan suhu 100°C.
3. Biji lotus direndam sesuai perlakuan (Tabel 2).

4. Setelah proses perendaman, kemudian biji lotus dilakukan perebusan kedua selama 15 menit dengan suhu 100°C, dan selanjutnya didinginkan.
5. Biji lotus yang sudah dingin ditambahkan ragi sesuai perlakuan (Tabel 2) setelah itu biji lotus dan ragi diaduk sampai homogen.
6. Lalu campuran biji lotus dan ragi dikemas dengan plastik tempe yang berlubang dengan ukuran 13 x 20 cm.
7. Kemudian campuran biji lotus yang telah dikemas difermentasi sesuai perlakuan (Tabel 2).

Parameter Pengujian

Parameter pengamatan pada penelitian ini yaitu total bakteri asam laktat (Sulistiani 2020), total jamur (Samson et al., 2010) dan aktivitas air (Saenab 2010).

Analisis Data

Analisis data dari tahap 1 yang dihasilkan dengan menggunakan *Response Surface Methodology Box Behnken* versi 19 yang didasarkan pada respon nilai total BAL dan pH, kemudian data diolah menggunakan *Software Minitab* versi 19 dan tahap 2 dianalisis secara statistika deskriptif.

Tabel 1. Perlakuan penelitian

Komponen	Faktor Perlakuan	Minimum	Maksimum
A	Penambahan Ragi (g)	0,5	1
B	Lama Perendaman (jam)	6	24
C	Lama Fermentasi (jam)	36	60

Tabel 2. Run order pengujian (*Response Surface Software Box Behnken design* versi 19).

Formulasi	Penambahan Ragi (gram)	Lama Perendaman (jam)	Lama Fermentasi (jam)
1	1.00	15	36
1	0.50	15	60
1	0.75	15	48
1	0.75	15	48
1	0.75	15	48
1	0.75	24	60
1	0.50	15	36
1	0.75	24	36
1	1.00	24	48
1	0.50	6	48
1	0.50	24	48
1	1.00	15	60
1	0.75	6	36
1	1.00	6	48
1	0.75	6	60

Ket : Optimalisasi proses terbaik pembuatan tempe lotus berdasarkan nilai total BAL dan pH

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Nilai Derajat Keasaman (pH)

Bakteri Asam Laktat merupakan bakteri yang dikelompokkan sebagai bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk metabolit utama dari fermentasi karbohidrat. Menurut Dali (2013), bakteri asam laktat memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. Proses fermentasi juga dipengaruhi oleh derajat keasaman atau pH yang harus dikontrol untuk mendapatkan hasil fermentasi yang optimal. Derajat keasaman (pH) merupakan variabel pertumbuhan mikroorganisme yang sangat penting dalam proses fermentasi, hal ini disebabkan mikroorganisme hanya dapat tumbuh pada pH 5.5 – 10.0 (Yuda *et al.*, 2018).

Hasil pengukuran pengaruh kondisi proses pengolahan terhadap tempe biji lotus yang dapat dilihat pada Tabel 3 menunjukkan kisaran nilai total BAL adalah 6.58 log cfu/gr - 8.59 log cfu/gr, sedangkan penelitian ini juga melakukan pengujian total BAL tempe kedelai komersil di pasaran diketahui sebesar 6.62 log cfu/gr. Nilai total BAL pada tempe biji lotus menunjukkan hasil yang sama dengan nilai total BAL tempe biji kedelai pada penelitian Sulistiani *et al.* (2020), berkisar 6–7 log cfu/gr pada waktu inkubasi selama 36 jam dan penelitian Moreno *et al.* (2002), berkisar 6.7–9.9 log cfu/gr.

Pertumbuhan BAL pada tempe biji lotus dan tempe kacang kedelai menunjukkan hasil yang tidak berbeda. Hal ini diduga karena nilai pH yang terdapat pada tempe biji lotus tidak jauh berbeda dengan tempe kedelai.

Nilai pH tempe biji lotus yang didapat menunjukkan kisaran nilai 4.70– 6.80, sedangkan tempe komersil dianalisa juga pada penelitian ini memiliki pH sebesar 5.1. Penelitian Yusuf dan Amaro (2021), tempe kedelai yang berkualitas baik memiliki kisaran pH 5.0 – 6.3. Proses pertumbuhan mikroorganisme tumbuh pada pH 6.0 – 8.0 dimana bakteri asam laktat dapat tumbuh baik pada pH kisaran 3.0 – 6.0 (Dian, 2010). Menurut Budiono (2016), pertumbuhan kapang umumnya tumbuh pada pH 4.5 – 5 dan tumbuh baik pada pH 2.5 – 8.5. Faktor lingkungan merupakan hal pendukung dalam pembuatan tempe dengan suhu 27 – 30°C, pH 4 – 6.5 (Nurita, 2003). Penelitian Jaya (2004), menyatakan bakteri asam laktat dapat tumbuh pada pH 5.5-10.0 pada suhu 5°C – 45°C dan toleran terhadap kondisi asam yang mana sebagian besar strain mampu tumbuh pada pH 4.4 dan tumbuh optimum pada pH 5.5-6.5.

Berdasarkan data RSM dari kondisi proses pengolahan tempe bahwa total BAL dari tiga perlakuan menunjukkan pengaruh nyata terhadap BAL dan tidak berpengaruh terhadap nilai pH. Perlakuan perendaman pada tempe biji lotus dilakukan dari kisaran 6 jam, 15 jam, dan 24 jam.

Tabel 3. Nilai SPF ekstrak etanol rumput laut Respon total BAL dan pH berdasarkan kondisi proses pengolahan tempe lotus

Formula	Ragi (gram)	Lama perendaman (jam)	Lama Fermentasi (jam)	Total Bakteri Asam Laktat (log cfu/gr)	pH
1	1.00	15	36	6.58	5.30
2	0.50	15	60	6.65	5.40
3	0.75	15	48	6.67	6.25
4	0.75	15	48	6.63	5.80
5	0.75	15	48	6.67	6.50
6	0.75	24	60	8.59	4.70
7	0.50	15	36	6.63	6.80
8	0.75	24	36	6.65	6.50
9	1.00	24	48	8.56	6.70
10	0.50	6	48	6.63	6.70
11	0.50	24	48	6.64	6.35
12	1.00	15	60	6.63	4.75
13	0.75	6	36	6.61	6.25
14	1.00	6	48	6.64	6.75
15	0.75	6	60	6.66	6.80

Berdasarkan Tabel 4 bahwa perlakuan lama perendaman berpengaruh nyata terhadap total BAL tempe biji lotus, terbukti dari nilai *P-value* sebesar 0.026 (Tabel 4.). Proses perendaman bertujuan untuk proses rehidrasi biji lotus, sehingga suasana biji lotus menjadi asam, kondisi ini digunakan

untuk pertumbuhan jamur *Rhizopus sp*, dan mikroorganismenya menguntungkan seperti BAL. Proses pembuatan tempe, tahapan yang menjadi permulaan pertumbuhan bakteri asam laktat adalah tahap perendaman.

Tabel 4. Response surface regression: total BAL versus ragi, lama perendaman, lama fermentasi

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	6.657	0.254	26.17	0.000	
Ragi	0.232	0.156	1.49	0.196	1.00
Lama Perendaman	0.487	0.156	3.13	0.026	1.00
Lama Fermentasi	0.257	0.156	1.65	0.160	1.00
Ragi*Ragi	-0.022	0.229	-0.09	0.928	1.01
Lama Perendaman*Lama Perendaman	0.483	0.229	2.11	0.089	1.01
Lama Fermentasi*Lama Fermentasi	-0.012	0.229	-0.05	0.959	1.01
Ragi*Lama Perendaman	0.475	0.220	2.16	0.083	1.00
Ragi*Lama Fermentasi	0.008	0.220	0.03	0.974	1.00
Lama Perendaman*Lama Fermentasi	0.472	0.220	2.14	0.085	1.00

Ket : = pengaruh faktor perlakuan

Tabel 5. Response surface regression: pH versus ragi, lama perendaman, lama fermentasi

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	6.183	0.304	20.32	0.000	
Ragi	-0.219	0.186	-1.17	0.293	1.00
Lama Perendaman	-0.281	0.186	-1.51	0.192	1.00
Lama Fermentasi	-0.400	0.186	-2.15	0.085	1.00
Ragi*Ragi	-0.029	0.274	-0.11	0.919	1.01
Lama Perendaman*Lama Perendaman	0.471	0.274	1.72	0.147	1.01
Lama Fermentasi*Lama Fermentasi	-0.592	0.274	-2.16	0.083	1.01
Ragi*Lama Perendaman	0.075	0.263	0.28	0.787	1.00
Ragi*Lama Fermentasi	0.212	0.263	0.81	0.457	1.00
Lama Perendaman*Lama Fermentasi	-0.588	0.263	-2.23	0.076	1.00

Ket : pengaruh faktor perlakuan

Tabel 6. Analisis model untuk total BAL dan pH

Respon	Model	Matematika /Equation	Signifikan (p<0,05)	Lack of fit (p<0,05)	R ²
Total BAL	Kuadratik/quadratic	Total BAL = 10.68 - 1.84 X - 0.493 Y - 0.038 Z - 0.35 X*X+ 0.00597 Y*Y - 0.00009 Z*Z + 0.2113 X*Y + 0.0025 X*Z + 0.00437 Y*Z	0,026	0,001	85.09%
pH	Kuadratik /quadratic	pH = -0.50 - 4.08 X+ 0.030 Y+ 0.390 Z - 0.47 X*X + 0.00581 Y*Y - 0.00411 Z*Z + 0.033 X*Y + 0.0708 X*Z - 0.00544 Y*Z	> 0.50	0.259	81.61%

Ket : X= ragi, Y= lama perendaman, Z = lama fermentasi

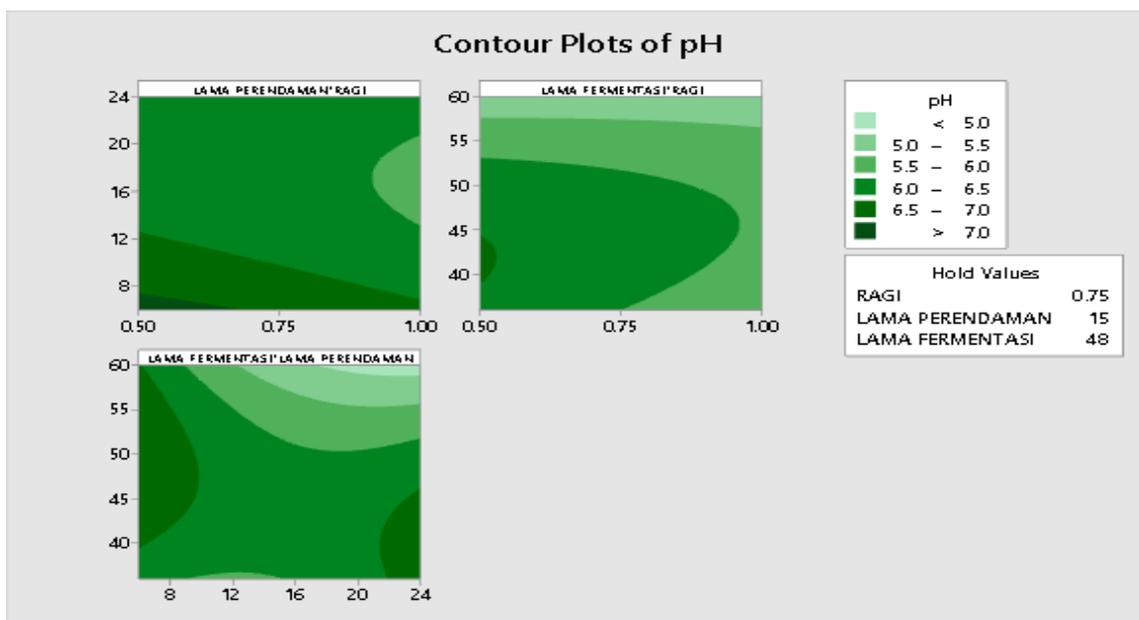
Pada Tabel 3, tempe biji lotus dengan waktu perendaman 24 jam memiliki total bakteri asam laktat yang tinggi dibandingkan dengan waktu perendaman 15 dan 6 jam. Berdasarkan Tabel 3, kondisi lama perendaman biji lotus pada waktu 6 jam menunjukkan nilai total BAL dengan kisaran 6.61 log cfu/gr – 6.66 log cfu/gr, lama perendaman 15 jam menunjukkan hasil total BAL dari kisaran 6.63 log cfu/gr – 6.7 log cfu/gr dan pada lama perendaman 24 jam menunjukkan nilai total BAL 6.64 log cfu/gr – 8.56 log cfu/gr, hal ini didukung oleh penelitian Chrisnadi (2021), Proses lama waktu perendaman yang semakin tinggi akan menghasilkan total bakteri asam laktat yang tinggi, sehingga total bakteri asam laktat tempe yang menggunakan air rendaman kacang kedelai akan lebih tinggi dibandingkan tempe yang tidak direndam dengan air kedelai pada saat perendaman.

Lama fermentasi tempe biji lotus berkisar dari rentan waktu antara 36 jam, 48 jam dan 60 jam. Lama fermentasi pada proses pembuatan tempe menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh nyata terhadap total BAL, hal ini didukung oleh penelitian Maryam (2016) dimana lama waktu fermentasi yang digunakan memiliki pengaruh terhadap sensorik, komponen gizi dan kandungan antioksidan dari tempe yang dihasilkan dan menurut penelitian Zuhida (2015), lama waktu fermentasi

mempengaruhi tekstur, semakin lama waktu fermentasi tekstur yang dihasilkan akan semakin meningkat.

Berdasarkan Tabel 5, respon pH menunjukkan $P > 0.05$ dengan demikian faktor perlakuan pembuatan tempe biji lotus tidak berpengaruh nyata terhadap nilai pH sebesar 0.076. Hal ini didukung oleh penelitian Suparno *et al.* (2020), bahwa tempe kedelai dengan proporsi tepung beras menunjukkan faktor lama perendaman dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH tempe dengan nilai berkisar 4.64–6.74. Semakin lama faktor perendaman dan fermentasi maka semakin tinggi nilai pH tempe.

Ragi yang digunakan pada pembuatan tempe biji lotus berkisar 0.50 gr, 0.75 gr dan 1 gr. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa perlakuan pembuatan tempe biji lotus, konsentrasi ragi dan interaksi antara faktor perlakuan terhadap tempe biji lotus tidak berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total bakteri asam laktat pada tempe yang dihasilkan dari berbagai kombinasi perlakuan yang diteliti. Penelitian Yuliani (2014), faktor pemberian ragi pada pembuatan tempe biji cempedak menunjukkan pengaruh nyata terhadap kualitas warna tempe, tekstur, cita rasa, dan aroma tempe. Semakin banyak ragi yang ditambahkan maka kualitas fisik tempe akan semakin menurun.



Gambar 1. Grafik *countour plot* optimalisasi pH terhadap proses pembuatan tempe biji lotus

Berdasarkan Tabel 6. hasil dari Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa model yang terpilih untuk total BAL dan pH adalah Kuadratik (*quadratic model*), karena model ini memiliki R^2 yang lebih besar dibandingkan model yang lain yaitu dengan nilai total BAL 85.09 % dan nilai pH 81.61 %. Penelitian Anwar et al. (2021), nilai analisis ragam yang dilihat pada uji ini yaitu *p-value* pada kriteria pengujian jika $p\text{-value} \leq 0.05$, hasil tersebut menunjukkan pengaruh signifikan pada model ini sedangkan *P-value* ≥ 0.05 menunjukkan pengaruh tidak signifikan. *P-value* total BAL dengan nilai 0,001 menunjukkan *Lack of Fit* yang signifikan ($p < 0,05$) dan *P-value* pH dengan nilai 0.259 menunjukkan *Lack of Fit* yang tidak signifikan ($p > 0.05$). Anawar et al. (2021) menyatakan bahwa uji kesesuaian model dilihat dari nilai *lack-of-Fit* dengan kriteria jika $p\text{-value} \leq$ taraf signifikan (0.05), maka model respon tidak diterima dan sebaliknya. Nilai *Lack of Fit* yang tidak signifikan merupakan syarat untuk model yang baik karena menunjukkan adanya kesesuaian data respon dengan model. Hasil nilai *Lack of Fit* dapat disimpulkan bahwa pada total BAL menunjukkan model tidak sesuai dan nilai pH menunjukkan model baik dan sesuai.

Berdasarkan Tabel 6. hasil analisis program RSM dilanjutkan analisis ragam (ANOVA) menunjukkan hasil grafik *countour Plot* optimalisasi pH dapat dilihat pada Gambar 1. Menurut Anwar et al. (2021), grafik *countour plot* menunjukkan kombinasi komponen yang berpengaruh pada nilai respon melalui warna yang berbeda. Menurut Nurmiah et al. (2013), grafik *countour plot* menunjukkan kombinasi 3 komponen kondisi pada proses pengolahan dengan proporsi berbeda yang menghasilkan nilai respon yang sama.

Grafik *countour Plot* mendeskripsikan pengaruh kombinasi perlakuan terhadap pH

tempe biji lotus. Grafik *countour plot* pada gambar 1 menunjukkan perbedaan pH kombinasi perlakuan yang mempengaruhi nilai respon pH. Kondisi paling maksimal untuk plot diatas berada pada warna hijau tua dengan nilai pH > 7.0 . Semakin gelap warna pada grafk menunjukkan presentase pH yang tinggi. Grafik *Contour Plot* yang dihasilkan dari pH terdiri dari beberapa variasi warna. Variasi warna menunjukkan besarnya respon yang dihasilkan. *Range* warna yang dihasilkan akan memberi garis besar petunjuk letak titik optimum variabel.

Optimalisasi desain RSM yang dilakukan *software* MINITAB, diperoleh bahwa hasil nilai optimal pada masing-masing variabel yaitu penambahan ragi, lama perendaman dan lama fermentasi yang diprediksi menghasilkan nilai pH terbaik. Optimalisasi dilakukan untuk mendapatkan respon yang sesuai dengan yang diinginkan (*desirability*). Nilai *desirability* adalah nilai fungsi tujuan optimasi yang menunjukkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir dengan kemampuan program yang memenuhi keinginan (Nurmiah et al., 2013). Proses ini dilakukan untuk meminimumkan usaha atau biaya operasional dan memaksimalkan yang diinginkan.

Berdasarkan Tabel 7. dapat diprediksi bahwa kombinasi perlakuan berdasarkan nilai pH dipilih dua perlakuan tempe terbaik yaitu tempe 1 dan tempe 2. Nilai D (*Desirability*) tempe 1 dan tempe 2 sebesar 1. Menurut Batubara dan Pratiwi (2018), nilai *Desirability* yang mendekati satu menunjukkan bahwa formulasi dapat mencapai formulasi yang optimal sesuai dengan variabel uji yang dikehendaki mendekati sempurna. Uji RSM menunjukkan tempe yang optimal berdasarkan nilai pH yaitu tempe 1 dan tempe 2, kemudian kedua tempe ini dilakukan uji parameter total bakteri asam laktat dan total jamur.

Tabel 7. Optimalisasi *Response Surface Methodology* (RSM) tempe biji lotus menggunakan MINITAB ver. 19

	Solution					Composite Desirability
	Solution	Ragi	Lama Perendaman	Lama Fermentasi	pH Fit	
Tempe 1	1	0.5	24	36	7,09583	1
Tempe 2	1	0.5	6	48	7,2	1

Ket : Tempe 1 : penambahan ragi 0.5 g, lama perendaman 24 jam, lama fermentasi 36 jam

Tempe 2: penambahan ragi 0.5 g, lama perendaman 6 jam, lama fermentasi 48 jam

Total Jamur

Kapang atau jamur merupakan mikroorganisme multiseluler yang mempunyai filamen. Biji lotus yang difermentasi oleh jamur direkatkan oleh misellium yang tumbuh pada biji lotus sehingga dihasilkan tempe yang berwarna putih dan padat. Waktu fermentasi 48 jam menunjukkan misellium yang lebih banyak. Hal ini diduga tingginya laju pertumbuhan misellium dikarenakan laju optimum pertumbuhan jamur tempe pada waktu fermentasi 48 jam yang membuat pertumbuhan jamur dan misellium pada tempe lebih banyak. Menurut Triyono *et al.* (2017), fase optimal pertumbuhan jamur tempe berada pada waktu fermentasi 30 – 50 jam. Fase ini menunjukkan terjadinya penurunan suhu, jumlah asam lemak yang dibebaskan dan pertumbuhan kapang hampir tetap dan bertambah dalam jumlah kecil, tekstur yang lebih kompak yang disebabkan oleh tumbuhnya misellium pada tempe. Tempe biji lotus yang dihasilkan dilakukan analisis untuk mengetahui kandungan total jamur pada tempe biji lotus.

Tabel 8. menunjukkan hasil total jamur tempe biji lotus dengan perlakuan pertama (Tempe 1) menghasilkan jumlah koloni jamur sebesar $5.30 \log \text{ cfu/gr}$ ($2.20 \times 10^5 \text{ cfu/gr}$) dan tempe biji lotus pada perlakuan kedua (Tempe 2) menghasilkan jumlah koloni jamur sebesar $5.35 \log \text{ cfu/gr}$ ($2.28 \times 10^5 \text{ cfu/gr}$), total BAL pada tempe biji lotus perlakuan pertama (Tempe 1) sebesar $6.66 \log \text{ cfu/gr}$ ($4.62 \times 10^6 \text{ cfu/gr}$) dan nilai bakteri asam laktat tempe biji lotus perlakuan kedua (Tempe 2) yaitu $6.64 \log \text{ cfu/gr}$ ($4.34 \times 10^6 \text{ cfu/gr}$). Pengujian yang sama pada penelitian ini untuk total jamur pada tempe komersil sebesar $5.36 \log \text{ cfu/gr}$ ($2.29 \times 10^5 \text{ cfu/gr}$) dengan nilai total BAL sebesar $6.62 \log \text{ cfu/gr}$ ($4.22 \times 10^6 \text{ cfu/gr}$). Proses

perendaman yang dilakukan bertujuan untuk melunakkan struktur biji lotus sehingga lebih mudah untuk diolah dan memberikan suspensi bahan padat biji lotus yang lebih baik. Proses lama perendaman 6 jam biji lotus yang dihasilkan belum terlalu lunak sedangkan Pada lama perendaman 24 jam biji tempe lotus menghasilkan biji lotus yang lunak. Pada penelitian Muthahhar, (2021), proses perendaman memberikan biji kedelai menyerap air sehingga biji lebih lunak sehingga pertumbuhan jamur lebih cepat, proses perendaman dapat menurunkan pH yang disebabkan oleh proses fermentasi dan pengasaman oleh bakteri. Penurunan pH yang dihasilkan dapat menghasilkan pertumbuhan jamur tempe yang lebih lama dan kualitas tempe yang baik.

Proses lama fermentasi biji lotus 36 jam menghasilkan pertumbuhan jamur yang dilihat dari tumbuhnya *miselia* pada permukaan biji lotus dan proses fermentasi biji lotus 48 jam menghasilkan pertumbuhan jamur yang mencapai optimal, dimana pada seluruh permukaan biji lotus sudah ditutupi dengan *miselia* dan menghasilkan tekstur yang lebih kompak dibandingkan dengan fermentasi 36 jam. Proses fermentasi biji lotus 48 jam dapat dikatakan bahwa proses fermentasi biji lotus optimal pada 48 jam, pernyataan ini didukung oleh penelitian Sulistyowati *et al.* (2004), optimalisasi fermentasi tempe pada proses fermentasi selama 30 – 50 jam.

Hasil yang didapat bahwa tempe biji lotus dengan perlakuan 1 (Tempe 1) memiliki pH 4.6 dan tempe biji lotus pada perlakuan 2 (Tempe 2) pH 5.7 dan memiliki nilai a_w 0.85 dan 0.86. Hasil total jamur pada tempe biji lotus ini memiliki perbedaan dengan tempe lainnya. Penelitian Budiono (2016), total jamur tempe saga pohon memiliki $3.6 \times 10^6 - 8.5 \times 10^7 \text{ cfu/gr}$.

Tabel 8. Total jamur dari nilai optimalisasi *Response Surface Methodology* (RSM) tempe biji lotus.

	Perlakuan			Total Jamur (log cfu/gr)	Total BAL (log cfu/gr)	pH	Aw
	Ragi (gram)	Lama Perenda man (Jam)	Lama Ferment asi (Jam)				
Tempe 1.	0.50	24	36	5.30 ± 0.64	6.66 ± 0.02	4.6 ± 0.00	0.85 ± 0.00
Tempe 2.	0.50	6	48	5.35 ± 0.00	6.64 ± 0.00	5.7 ± 0.07	0.86 ± 0.00

Ket : Tempe 1 : penambahan ragi 0.5 g, lama perendaman 24 jam, lama fermentasi 36 jam
Tempe 2: penambahan ragi 0.5 g, lama perendaman 6 jam, lama fermentasi 48 jam

Sukardi et al.(2008), pertumbuhan kapang umumnya pada pH 4.5 – 5.0 total jamur tempe kedelai yang dicampur tepung beras menghasilkan kisaran total jamur $2.7 \times 10^6 - 3.46 \times 10^7$ cfu/g.

Aktivitas Air

Ativitas air (a_w) merupakan parameter uji untuk menunjukkan kriteria keamanan dan kualitas pangan. Tingginya nilai a_w akan mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme semakin tinggi pada bahan pangan (Astawan, 2016). Menurut Winanti (2014), proses metabolisme sel kapang sangat dipengaruhi oleh faktor intrinsik aktivitas air (a_w) yang berperan pada pertumbuhan kapang pada pangan. Pada Tabel 8. menunjukkan hasil aktivitas air tempe biji lotus berkisar antara 0.85 – 0.86 sedangkan a_w tempe komersil yang diujikan pada penelitian ini sebagai pembandingan sebesar 0.86, Menurut Razie (2018), tempe kedelai memiliki aktivitas air (a_w) dengan kisaran < 0.95 – 0.99. Menurut Lubis (2022), menyatakan bahwa mikroorganisme dapat tumbuh baik pada a_w minimum, yaitu a_w bakteri 0.90; khamir a_w 0.80 – 0.90; dan kapang a_w 0.60 – 0.70. Menurut Sarjono (2011), Kapang dapat tumbuh baik pada a_w yang relatif rendah sampai a_w 0,8. Aktivitas air (a_w) berhubungan terhadap nilai pH tempe, hal ini sesuai dengan penelitian Sardjono (2011), yang menyatakan bahwa a_w 0.8 atau 65 % menghasilkan nilai pH optimum 6.5. Penelitian Astawan (2016), menyatakan semakin tinggi nilai a_w pertumbuhan mikroorganisme juga akan semakin tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapat kesimpulan sebagai berikut :

1. Kombinasi perlakuan proses pembuatan tempe biji lotus menunjukkan perlakuan lama perendaman berpengaruh nyata terhadap total BAL, sedangkan kombinasi perlakuan terhadap pH menunjukkan hasil tidak berpengaruh nyata.
2. Optimalisasi proses pembuatan tempe biji lotus yaitu perlakuan tempe pertama diperoleh pada ragi 0.5 dengan lama perendaman 24 jam dan lama fermentasi 36 jam, perlakuan tempe kedua diperoleh

ragi 0.5 dengan lama perendaman 6 jam dan lama fermentasi 48 jam.

3. Nilai total bakteri asam laktat (BAL) tempe biji lotus menghasilkan kisaran nilai 6.58 log cfu/gr - 8.59 log cfu/gr dengan kisaran nilai pH sebesar 4.70 sampai 6.80; komposisi total jamur sebesar 5.30 ± 0.64 log cfu/gr – 5.35 ± 0.01 log cfu/g dan nilai A_w yaitu 0.85 - 0.86.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh LPPM-UNSRI Tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam MR, and Moss OM. 2008. *Food Microbiology*. Third Edition. The Royal Society of Chemistry, United Kingdom.
- AnwarK, Istiqamah F, danHadi S. 2021. Optimasi suhu dan waktu ekstraksi akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Menggunakan Metode RSM (*response surface methodology*) dengan pelarut etanol 70%. *Jurnal Pharmascience*. 8(1): 53-64.
- Astawan M, Wresdiyati T, dan Ichsan M. 2016. Karakteristik fisikokimia tepung tempe kecambah kedelai. *Jurnal Gizi dan Pangan*. 11(1).
- Babu D, Bhagyaraj, dan Vidhyalaksmi.2009. Makanan bergizi berbiaya rendah tempe. *Jurnal Ilmu Susu dan Pangan*. 4(1): 22-27.
- BatubaraSC, dan Pratiwi N A. 2018. Pengembangan minuman berbasis teh dan rempah sebagai minuman fungsional. *Jurnal Industri Kreatif dan Kewirausahaan*. 1(2).
- Budiono R A. 2016. Pengaruh Jenis Kapang Terhadap Aktivitas Fermentasi Tempe Saga Pohon (*Adenantha pavonina* L.). [Skripsi] Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

- Chrisnadi B D S V, Sri S, dan Kukuk Y. 2021. Pengaruh Jumlah Air Limbah Rendaman Kedelai Dan Lama Perendaman Terhadap Total Bakteri Asam Laktat (Bal) Pada Tempe. [Tesis] Universitas Katolik Widya Karya, Malang.
- Chutrtong J, dan Bussabun T. 2014. Preparation of tempeh spore powder by freeze drying. *International Journal of Bioengineering and Life Sciences*. 8(1): 40-43.
- Dian S. 2010. Formulasi selai pisang raja bulu dengan tempe dan daya simpannya. *Jurnal PGM*. 33(1): 93-101.
- Efriwati, Suwanto A, Rahayu G, dan Nuraida L. 2013. "Population dynamics of yeast and lactic acid bacteria (LAB) during tempeh production". *Hayati J Biosci*, 20,57-64. DOI:10.4308/hjb.20.2.57.
- Hidayat N. 2008. *Fermentasi tempe*. Yogyakarta. Andi Ibourahema C, RD Dauphin, D Jacqueline & P Thonart. 2008. Characterization of lactic acid bacteria isolated from poultry farms in Senegal. *Journal AOB*. 7(12): 2006-2012.
- Lestari S D N, Fatimah, and Nopianti, R. 2016. *Chemical Changes Associated with Lotus and Water Lily Natto Production*. [Skripsi] Teknologi Hasil Perikanan, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
- Lubis A R, Lubis A F, dan Lubis F. 2022. Pengujian mikrobiologi dan pengukuran aktivitas air (Aw) pada pembuatan ikan kayu (*Katsuobushi*) dengan perbandingan metode pengeringan yang berbeda. *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*. 5(1).
- Maryam S. 2016. Komponen Isoflavon Tempe Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L*) pada Berbagai Lama Fermentasi. In *Prosiding Seminar Nasional MIPA*.
- Moreno MF, Leisner JJ, Tee LK, Ley C, Radu S, Rusul G, Vancanneyt M. dan De Vuyst L. 2002. Microbial analysis of Malaysian Tempe, and characterization of two bacteriocins produced by isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Applied Microbiology*. 92(1): 147-157.
- Muthahhar M A. 2021. *Pengaruh Suhu Air Perendaman Terhadap Proses Laju Penyerapan Air Pada Kedelai*. [Disertasi] Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nurdini AL, Nuraida L. Suwanto A, Suliantari. 2015. Mycrobial growth dynamics during tempe fermentation in two different home industries. *International Food Reserach Journal*. 22: 1668-1674.
- Nurita PA. 2009. Sifat Organoleptik Tempe Kedelai. [Skripsi] Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Nurmiah S, Syarief R, Sukarno, Peranginangin R, dan Nurtama, B. 2013. Aplikasi response surface methodology pada optimalisasi kondisi proses pengolahan alkali treated cottoni (ATC). *JPB Kelautan dan Perikanan*. 8. 9-22.
- Razie F, dan Widawati L. 2018. Kombinasi pengemasan vakum dan ketebalan kemasan untuk memperpanjang umur simpan tempe. *AGRITEPA: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*. 5(1): 94-107.
- Sardjono. 2011. Jamur Benang dan Pengembangannya pada Industri Pengolahan Hasil Pertanian. [Skripsi] Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sarwono B. 2004. *Membuat Tempe dan Oncom*. Penebar: Swadaya, Jakarta.
- Soka S, Suwanto A, Sajuthi D, dan Rusmana I. 2015. *Impact of tempeh supplementation on mucosal immunoglobulin A in Sprague-Dawley*

- rats. *Food Science and Biotechnology*. 24(4): 1481–1486.
DOI:10. 1007/s10068-015-0191-z
- Sukardi S, Wignyanto W, dan Purwaningsih I. 2008. Tempeh inoculum application test of *Rhizopus oryzae* with rice and cassava flour as substrate at Sanan Tempeh Industries Kodya Malang. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9(3).
- Sulistiani S, dan Hidayat I. 2020. Identifikasi molekuler bakteri asam laktat dari tempe dan tape berdasarkan sekuen gen 16S rRNA". *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*. 37(2): 69-77.
- Sulistiyowati E, Arianingrum R, dan Salirawati D. 2004. Studi Pengaruh Lama Fermentasi Tempe Kedelai Terhadap Aktivitas Tripsin. *Penelitian*. [Skripsi] Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Suparno S., Giyanto G, Kusumadati W, dan Sadono A. 2020. Pengaruh lama perendaman kedelai dan proporsi tepung beras sebagai upaya meningkatkan mutu gizi tempe. *Agrienvi: Jurnal Ilmu Pertanian*. 14(2): 50-58.
- Triyono M, Nazaruddin N, dan Werdiningsih W. 2017. Uji aktivitas inokulum tempe dari bahan limbah kulit pisang terhadap mutu tempe kedelai. *Pro Food*. 3(1): 200-206.
- Winanti R, Bintari S H, Mustikaningtyas D. (2014). Studi observasi higienitas produk tempe berdasarkan perbedaan metode inokulasi. *Life Science* 3(1).
- Wu JZ, Zheng YB, Chen TQ, Yi J, Qin LP, Rahman K and Lin WX. 2007. Evaluation of the quality of lotus seed of *Nelumbo nucifera* Gaertn from outer space mutation. *Food Chemistry*, 105 540–7.
- Yuda I G Y W, Wijaya I M M, dan Suwariani N P. 2018. Studi pengaruh pH awal media dan konsentrasi substrat pada proses fermentasi produksi bioetanol dari hidrolisat tepung biji Kluwih (*Actinocarpus communis*) dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 6(2): 115-124.
- Yuliani Y. 2014. Pengaruh Dosis Ragi Terhadap Kualitas Fisik Tempe Berbahan Dasar Biji Cempedak (*Arthocarpus champeden*) Melalui Uji Organoleptik. [Disertasi] Institut Agama Islam Palangka Raya, Palangka Raya.
- Yusuf A I, dan Amaro M. 2021. Analisis Mutu Kimia, Mikrobiologi Dan Organoleptik Tempe Kedelai Dengan Penambahan Sari Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Pada Proses Perendaman Kedelai: Analysis Of Chemical, Microbiology And Organoleptic Quality Of Soybean Tempe With Bilimbi Juice (*Averrhoa Bilimbi*) Addition On Soybean Soaking. *Pro Food*. 7(2): 41-52.
- Zulhida R, dan Seno D. 2015. Studi Pembuatan tempe dari biji karet. *AGRIUM: Jurnal Ilmu Pertanian*, 18(2).