

**PENGARUH KETEBALAN SUBSTRAT  
PADA FERMENTASI TEMPE TERHADAP KADAR VITAMIN B<sub>1</sub>  
(THE INFLUENCE OF SUBSTRATE THICKNESS DURING TEMPE FERMENTATION  
ON VITAMINS B<sub>1</sub> LEVEL)**

Fifi Retiaty<sup>1</sup>, Nia Kurniawati<sup>1</sup>, dan Komari<sup>1</sup>

**ABSTRACT**

*The level of vitamin B<sub>1</sub> in tempe could be increased by modifying the surface of substrate during soybean fermentation. This research aimed to know the influence of substrate thickness during soybean fermentation into tempe to the levels of vitamin B<sub>1</sub>. The design of this research was completed randomized design with two replication. Vitamin B<sub>1</sub> content was analyzed on raw soybeans, boiled soybeans, and tempe using spectrophotometer methods. The substrate thicknesses examined were 0.25 cm, 0.50 cm and 1.00cm. Vitamin B<sub>1</sub> level on raw soybean was 0.7436 mg percent and on boiled soybean was 0.4898 mg percent, while in tempe with substrate thickness 0.25 cm, 0.50 cm and 1.00 cm, the vitamin B<sub>1</sub> contents were 1.1413, 0.9044, and 0.7130 mg percent respectively. The thickness of tempe substrate affected on vitamin B<sub>1</sub> content. A thinner substrate resulted on higher vitamin B<sub>1</sub> level.*

**Keywords:** fermentation, tempe, vitamin B<sub>1</sub>

**ABSTRAK**

Kadar vitamin B<sub>1</sub> pada tempe dapat ditingkatkan dengan memodifikasi permukaan dari substrat dalam fermentasi kedelai. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ketebalan substrat pada fermentasi kedelai menjadi tempe terhadap kadar vitamin B<sub>1</sub>. Disain penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap dengan dua kali ulangan. Kadar vitamin B<sub>1</sub> dianalisis pada kedelai mentah, kedelai rebus, dan tempe dengan menggunakan metode spektrofotometri. Ketebalan substrat yang diteliti adalah 0.25 cm, 0.50 cm, 1,00 cm. Kadar vitamin B<sub>1</sub> pada kedelai mentah adalah 0,7436 mg persen dan pada kedelai rebus adalah 0.4898 mg persen. Sedangkan kadar vitamin B<sub>1</sub> pada tempe dengan ketebalan 0,25, 0,5 dan 1 cm secara berturut-turut adalah 1,1413 mg persen , 0,9044 mg persen dan 0,7130 mg persen. Ketebalan substrat tempe berpengaruh pada kandungan vitamin B<sub>1</sub>. Semakin tipis substrat, akan menghasilkan vitamin B<sub>1</sub> yang semakin tinggi. [**Penel Gizi Makan 2012, 35(2): 182-188**]

**Kata Kunci:** fermentasi, tempe, vitamin B<sub>1</sub>

---

<sup>1</sup> Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan , Badan Litbangkes, Kemenkes R.I. Jl. Percetakan Negara 29 Jakarta  
e-mail : fifiyadi@gmail.com

## PENDAHULUAN

Vitamin B<sub>1</sub> adalah zat gizi yang banyak terdapat dalam bahan makanan seperti sereal, polong-polongan, buah-buahan, sayuran, daging dan susu. Vitamin ini merupakan senyawa esensial yang diperlukan untuk metabolisme karbohidrat serta terlibat dalam fungsi saraf. Kekurangan asupan vitamin B<sub>1</sub> secara kronis dapat menyebabkan kerusakan saraf, beri-beri, dan sindrom *Wernicke-Korsakoff*.<sup>1</sup>

Produk pangan tradisional di Indonesia yang banyak mengandung vitamin B<sub>1</sub> dan juga banyak dikonsumsi masyarakat adalah tempe. Tempe merupakan salah satu fermentasi substrat padat yang merupakan fermentasi kedelai yang melibatkan aktivitas kapang *Rhizopus sp.* Fermentasi substrat padat ini sangat berkaitan dengan pertumbuhan miselium dari kapang yang diinokulasi di atas substratnya. Semakin baik pertumbuhan miselium kapang maka semakin baik pula produk fermentasi yang dihasilkan.<sup>2</sup>

Pertumbuhan kapang selama proses fermentasi juga sangat dipengaruhi oleh substratnya, salah satu di antaranya adalah kepadatan substrat. Semakin padat substrat semakin sulit kapang untuk tumbuh menembus substrat tersebut. Semakin sulit kapang untuk tumbuh berarti semakin sedikit pula proses fermentasi yang terjadi dalam substrat itu.<sup>2,3</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ketebalan substrat pada fermentasi kedelai menjadi tempe terhadap kadar vitamin B<sub>1</sub>. Peningkatan kandungan vitamin B<sub>1</sub> dalam tempe diharapkan dapat menjadi perbaikan mutu tempe sebagai produk konsumsi kedelai utama di Indonesia.

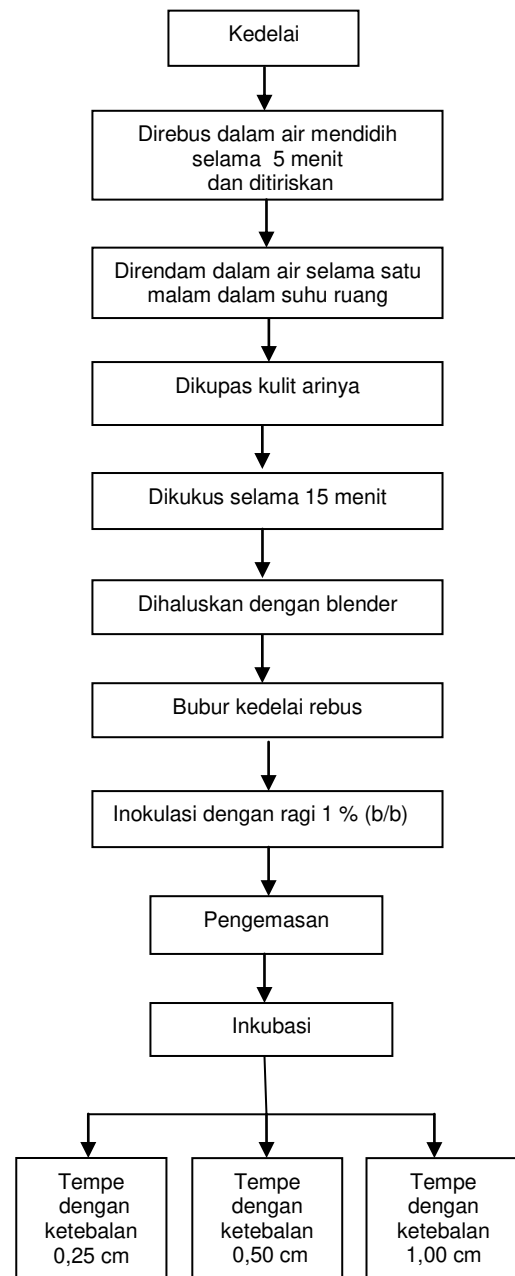
## METODE

### Bahan dan Alat

Senyawa yang digunakan sebagai standar vitamin B<sub>1</sub> adalah tiamina klorida hidroklorida (MERCK & CO). Sampel yang dianalisis adalah kacang kedelai; bubur kedelai rebus; ragi tempe untuk pembuatan tempe. Pereaksi yang digunakan terdiri atas H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05 N dan 0,2 N, Na-asetat 0,3 M, enzim takadiastase, akuades, fenol-etanol, NaOH 0,2 N, pereaksi diazo [NaNO<sub>2</sub> (23 g/100 mL), p-aminoasetofenon (2,5 g/109 mL), dan NaOH-NaHCO<sub>3</sub> (5:7)], xilena, indikator Bromcresol green dan Phenol red serta Na-sulfat anhidrat. Alat yang digunakan adalah cawan porselin, mortar dan pastel,

hot plate, blender, oven, eksikator, neraca kasar, neraca OHAUS, peralatan gelas, pipet Mohr, corong pisah, serta spektrofotometer UV-Vis Optima, tipe SP-3000.

### Cara Pembuatan Tempe



Kacang kedelai yang digunakan sebanyak 100 g. Dari proses tersebut diperoleh sekitar 160 g bubur kedelai rebus. Bubur kedelai tersebut diambil sebanyak 20 g untuk penentuan kadar air dan vitamin B<sub>1</sub> sedangkan sisanya sebanyak 140 g dilanjutkan untuk proses pembuatan tempe dengan penambahan ragi tempe, yang kemudian dibagi dalam tiga plastik masing-masing telah dilubangi dan dibentuk dengan

tiga ketebalan yang berbeda yaitu 0,25 cm; 0,50 cm, dan 1,00 cm, kemudian difermentasi selama 2 malam. Proses Pembuatan tempe ini dilakukan sebanyak 2 (dua) kali ulangan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Kadar vitamin B<sub>1</sub> kedelai mentah, kedelai rebus dan tempe dengan tiga varian ketebalan yang berbeda dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri.

#### Penentuan Kadar Air

Cawan Porselin dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 15 menit lalu didinginkan dalam eksikator. Bobot cawan ditimbang kemudian sampel yang telah dihaluskan ditimbang sejumlah 3 g ke dalam cawan porselin. Cawan yang sudah berisi sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Cawan yang berisi sampel kering didinginkan dalam eksikator kemudian ditimbang kembali.

$$\text{Rumus Kadar Air} = \frac{A - B}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A = bobot contoh mula – mula (g)

B = bobot contoh setelah pemanasan (g)

#### Pembuatan Larutan Standar Vitamin B<sub>1</sub>

Ke dalam 50 mg tiamina klorida hidroklorida ditambahkan 1 mL asam sulfat 0,2 N dan akuades sehingga menghasilkan 100 mL larutan. Sejumlah 2 mL larutan diencerkan dengan aquades hingga volumenya mencapai 100 mL. Sebanyak 1 mL larutan stok dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, kemudian ditera menggunakan aquades hingga tanda. Larutan standar yang dibuat lalu dipindahkan ke labu bulat.<sup>5</sup>

Ke dalam larutan standar ditambahkan 100 mL fenol-etanol, 0,5 mL indikator *Phenol red*, dan 25 mL natrium hidroksida 0,2 N, kemudian ditambah dengan pereaksi diazo (1,6 mL NaNO<sub>2</sub>, 20 mL akuades; 1,6 mL p-aminoasetofenon dan 50 mL NaOH-NaHCO<sub>3</sub>). Selanjutnya, ke dalam larutan tersebut ditambahkan 8 mL xilena, ditutup rapat dengan plastik, lalu diinkubasi selama 1 jam di tempat gelap dan dikocok setiap 15 menit. Setelah inkubasi, larutan dipindahkan ke dalam corong pemisah. Ekstrak xilena

disaring dengan kertas saring berisi Na-sulfat anhidrat dan ditampung dalam tabung reaksi kecil. Ekstrak xilena yang diperoleh diukur absorbansinya pada λ= 520 nm.

#### Penentuan Kadar Vitamin B<sub>1</sub>

Sebanyak 10 g sampel tempe yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam gelas piala 500 mL dan ditambahkan 150 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> lalu dipanaskan dan diaduk di atas *hot plate* selama 5 menit sampai mendidih. Sampel didinginkan hingga mencapai suhu ruang lalu ditambahkan 50 mL Na-asetat dan 10 mL larutan enzim takadiastase (200 mg enzim dalam 10 mL akuades). Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 malam.

Setelah 1 malam, ke dalam campuran ditambahkan 1 mL indikator *Bromcresol green* dan aquades sehingga volume total menjadi 350 mL lalu diaduk dan disaring dengan kertas saring. Sejumlah 200 mL filtrat dipindahkan ke dalam labu bulat, ke dalamnya ditambahkan 100 mL fenol-etanol, 0,5 mL indikator *Phenol red*, dan 25 mL Natrium hidroksida 0,2 N. Pada filtrat yang telah berubah warna menjadi merah ditambahkan pereaksi diazo (1,6 mL NaNO<sub>2</sub>, 20 mL akuades; 1,6 mL p-aminoasetofenon, 50 mL NaOH-NaHCO<sub>3</sub>). Larutan ditambahkan 8 mL xilena, ditutup rapat dengan plastik, lalu diinkubasi selama 1 jam di tempat gelap dan dikocok setiap 15 menit. Setelah inkubasi, larutan dipindahkan ke dalam corong pemisah. Ekstrak tiamina disaring dengan kertas saring berisi Na-sulfat anhidrat dan ditampung dalam tabung reaksi kecil. Ekstrak tiamina yang diperoleh diukur absorbansinya pada λ= 520 nm. Kadar vitamin B<sub>1</sub> dihitung dengan cara memplotkan nilai absorbansinya ke kurva standar.<sup>5</sup>

## HASIL

#### Kadar Air dan Vitamin B<sub>1</sub> dalam Substrat

Perubahan substrat kedelai selama perlakuan pra-fermentasi menunjukkan peningkatan kadar air dari kedelai mentah menjadi kedelai rebus kupas kulit. Kadar vitamin B<sub>1</sub> menurun pada kedelai rebus, namun secara berat kering meningkat seperti terlihat pada Tabel 1.

**Tabel 1**  
**Data Kadar Vitamin B<sub>1</sub> Sampel**

Sampel	Kadar Air (%)	Kadar Vitamin B <sub>1</sub> (mg %) (bahan basah)	Kadar Vitamin B <sub>1</sub> (mg %) (bahan kering)
Kedelai Mentah	11,64	0,7436	0,8416
Kedelai Rebus	59,66	0,4898	1,2142

**Perubahan Bobot Substrat dan Vitamin B<sub>1</sub> Selama Fermentasi**

Pada proses fermentasi, berat substrat menurun sekitar 3,70 persen sedangkan

kadar air substrat meningkat sekitar 3,91 persen bersamaan dengan berat padatan menurun menjadi sekitar 6,20 persen seperti pada tampilan Tabel 2.

**Tabel 2**  
**Perubahan Berat Substrat Selama Proses Fermentasi**

Fermentasi (hari)	Kadar air %	Berat substrat (g)	Berat Padatan (g)
0	53,7	100	46,7
2	55,8	96,3	40,5

Selama 2 hari proses fermentasi, kandungan air meningkat dan kandungan vitamin B<sub>1</sub> (berat basah) juga meningkat sesuai meingkatnya ketebalan substrat.

Sedangkan dalam berat kering, kadar vitamin B<sub>1</sub> semakin menurun seiring bertambahnya ketebalan substrat seperti yang tampak pada Tabel 3.

**Tabel 3**  
**Pengaruh Ketebalan Substrat Terhadap Produksi Vitamin B<sub>1</sub> Selama Fermentasi**

Sampel	Kadar Air (%)	Kadar Vitamin B <sub>1</sub> (mg %) (berat basah)	Kadar Vitamin B <sub>1</sub> (mg %) (berat kering)
Tempe dengan ketebalan 0,25 cm	59,52	1,1413	2,8194
Tempe dengan ketebalan 0,50 cm	60,02	0,9044	2,2621
Tempe dengan ketebalan 1,00 cm	59,24	0,7130	1,7493

**BAHASAN**

**Proses Pra-fermentasi Tempe**

Tahap awal pembuatan tempe adalah perebusan biji kedelai yang berfungsi untuk menghidrasi dan melunakkan biji kedelai supaya dapat menyerap asam pada tahap perendaman, serta mempermudah kapang *Rhizopus sp* menembus substrat biji kedelai rebus sehingga tumbuh dengan baik dipermukaan kedelai. Selama fermentasi juga terentuk asam laktat secara alami agar diperoleh keasaman yang dibutuhkan untuk pertumbuhan kapang. Terjadinya fermentasi asam laktat dicirikan oleh munculnya bau asam dan buih pada air rendaman akibat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus*. Bakteri asam laktat yang dihasilkan bermanfaat

untuk meningkatkan nilai nutrisi dan kualitas higienis tempe, serta menghilangkan bakteri maupun kapang lain yang dapat membahayakan kesehatan. Kulit biji kedelai dikupas pada tahap pengupasan agar miselium kapang dapat menembus biji kedelai. Selanjutnya, kedelai dikukus lalu dihaluskan dengan blender setelah dingin untuk menghasilkan ketebalan substrat yang diinginkan.<sup>6,7,8</sup>

Tahap selanjutnya adalah inokulasi dan fermentasi dengan penambahan inokulum, yaitu ragi tempe atau laru. Inokulum ditebarkan pada permukaan kacang kedelai hancur yang sudah dingin lalu dicampur merata sebelum pembungkusan. Kualitas tempe amat dipengaruhi oleh ragi tempe yang mengubah

karakteristik kedelai rebus melalui miselium kapang *Rhizopus* sp sehingga dapat menghilangkan bau langu dari kedelai yang disebabkan oleh aktivitas dari enzim lipoksigenase. Suhu optimum inokulasi atau fermentasi ini adalah 30-35° C. Pada percobaan ini kacang kedelai difermentasi dalam suhu ruang 30° C.<sup>8</sup>

Perubahan asam terlarut, nitrogen terlarut serta gula terlarut menunjukkan bahwa selama fermentasi, kapang tempe terlebih dahulu menghidrolisis karbohidrat untuk menghasilkan energi yang diperlukan untuk pertumbuhannya. Kemudian dilanjutkan dengan hidrolisis lemak dan protein. Bila fermentasi dilanjutkan tercium bau amoniak yang merupakan produk pemecahan protein. PH susbtrat cenderung meningkat dari 4 menjadi 6-7, dan nilai asam total meningkat 3-4 kali dari kadar asam dalam keping biji.<sup>2</sup>

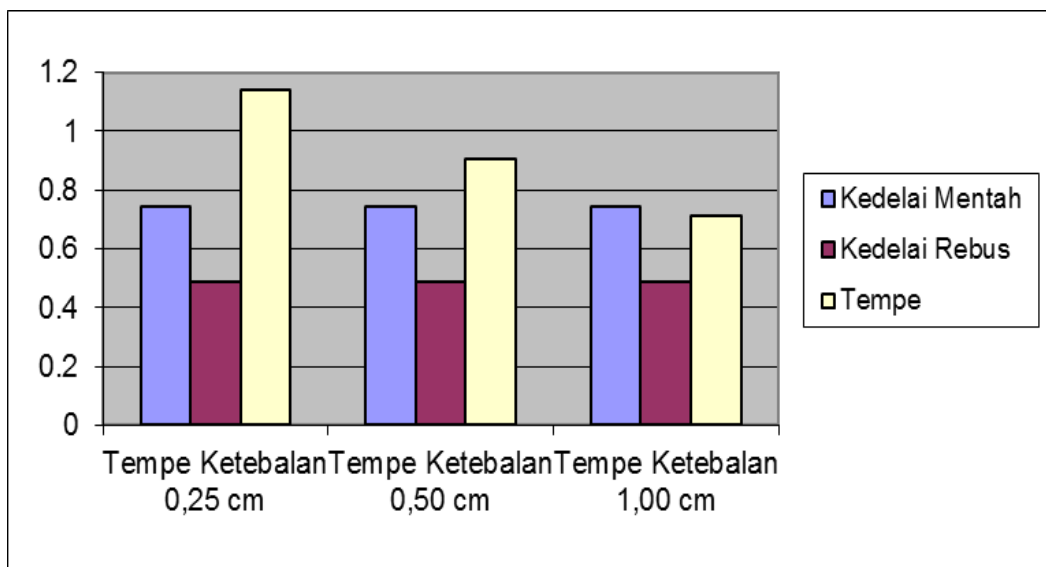
**Kadar Air Selama Pra Fermentasi dan Fermentasi**

Hasil analisis kadar air pada kedelai mentah adalah 11,64 persen. Nilai ini

menunjukkan bahwa kacang kedelai yang digunakan adalah jenis kedelai kering dan termasuk kedelai mutu 1. Sesuai dengan salah satu syarat mutu tempe kedelai, persentase kadar air maksimum adalah 65 persen. Kadar air kedelai rebus sebesar 59,66 persen. Hal ini menandakan adanya penyerapan air selama proses pemasakan. Dari analisis kadar air ketiga sampel tempe, diperoleh rerata kadar air senilai 59,52 persen untuk tempe 0,25 cm; 60,02 persen untuk tempe 0,50 cm dan 59,24 persen untuk tempe 1,00 cm. Kadar air ketiga sampel tempe yang dihasilkan termasuk dalam mutu baik.

**Kadar Vitamin B<sub>1</sub> Selama Pra Fermentasi dan Fermentasi**

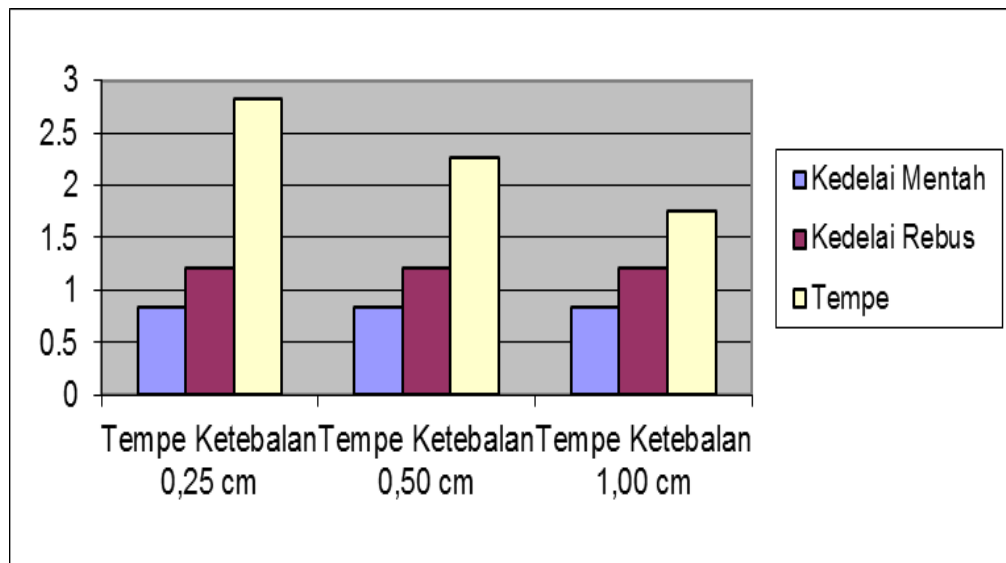
Kadar vitamin B<sub>1</sub> selama pra fermentasi dan fermentasi terlihat dalam Gambar 1 dan 2. Kadar vitamin B<sub>1</sub> pra fermentasi adalah kadar vitamin B<sub>1</sub> dalam kedelai mentah dan kedelai rebus. Sedangkan kadar vitamin setelah fermentasi yaitu kadar vitamin B<sub>1</sub> pada tempe dengan 3 varisi ketebalan.



**Gambar 1**  
**Kadar Vitamin B<sub>1</sub> (Berat Basah) pada Kedelai dan Tempe Berdasarkan Ketebalan Substrat**

Gambar 1 menunjukkan pada semua varisi ketebalan substrat, kadar vitamin B<sub>1</sub> dalam tempe lebih tinggi dibandingkan dalam kedelai rebus. Hal ini karena proses fermentasi dapat menyebabkan peningkatan kadar vitamin B<sub>1</sub>, akibat dari aktivitas kapang *Rhizopus* sp. Dalam Gambar tersebut juga

terlihat bahwa tempe dengan ketebalan yang lebih kecil memiliki kadar vitamin B<sub>1</sub> yang lebih tinggi. Hal ini karena bentuk substrat yang lebih padat, yang ditandai dengan semakin tebal substrat dapat menghambat pertumbuhan miselium kapang sehingga menghambat proses fermentasi.



**Gambar 2**  
Kadar Vitamin B<sub>1</sub> (Berat Kering) pada Kedelai dan Tempe Berdasarkan Ketebalan Substrat

Gambar 2 dibuat berdasarkan perhitungan dengan berat kering kedelai mentah, kedelai rebus dan tempe dengan berbagai variasi ketebalan. Gambar ini menunjukkan hal yang berbeda dengan gambar 1, jika dilihat dari perubahan kadar vitamin B<sub>1</sub> dari kedelai mentah menjadi kedelai rebus. Kedelai rebus memiliki kadar vitamin B<sub>1</sub> yang lebih tinggi dibanding pada kedelai mentah, hal ini terjadi karena kadar air pada kedelai rebus sangat tinggi, meningkat sekitar 5 kali lipat dibanding pada kedelai mentah. Sedangkan untuk tempe dengan berbagai variasi ketebalan, tergambar bahwa tempe yang ketebalan substratnya lebih kecil memiliki kadar vitamin B<sub>1</sub> lebih tinggi dibanding yang ketebalan substrat yang lebih besar. Sama seperti pembahasan pada Gambar 1, hal ini terjadi karena bentuk substrat yang lebih padat yang ditandai dengan semakin tebal substrat dapat menghambat pertumbuhan miselium kapang sehingga menghambat proses fermentasi.

#### KESIMPULAN

Ketebalan substrat tempe berpengaruh terhadap kandungan vitamin B<sub>1</sub> karena tempe yang tebal memiliki struktur yang padat sehingga dapat menghambat fermentasi karena miselium kapang sulit tumbuh, sehingga semakin tebal tempe akan semakin rendah kadar vitamin B<sub>1</sub>-nya. Berdasarkan hasil penelitian ini, diharapkan

dapat memperbaiki proses pembuatan tempe untuk perbaikan mutu tempe.

Pembuatan tempe sebaiknya dibuat tipis sehingga pertumbuhan kapang baik dan dapat menghasilkan tempe yang tinggi kadar vitamin B<sub>1</sub>-nya. Di samping kandungan vitamin B<sub>1</sub> yang tinggi, tempe yang dibuat dalam ukuran tipis untuk langsung dimasak akan mempermudah proses pengolahan karena tempe tidak perlu dipotong-potong.

#### RUJUKAN

1. O'Neil MJ, Heckelman PE, Cherie BK, Kristin JR, Catherine MK, D'Arecca MR. The MERCK index fourteenth edition. New Jersey: MERCK, 2006
2. Babu D, Bhagyaraj R, Vidhayalakshmi R. A low cost nutritious food "tempeh". *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 2009;4(1):22-27.
3. University of Maryland Medical Center. Vitamin B<sub>1</sub> (thiamine). In <http://www.umm.edu/altmed/articles/vitamin-b1-000333.htm>. Agustus 13, 2010. (diunduh 20 Maret 2011)
4. Widowati, Esti. Petunjuk praktikum biokimia. Yogyakarta: Laboratorium Terpadu Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga, 2012.
5. Abbas A dan Komari. Kinetika hidrolisis zat gizi (karbohidrat dan protein) dalam fermentasi substrat

- padat dengan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Biorekayasa Pangan dan Gizi*. 2004;1(2):31-36.
6. Puwastien, Prapasri *et.al.* *Asean Manual of Nutrient Analysis*. Thailand: Institute of Nutrition, Mahidol University, 2011.
  7. Agranoff J. *The Complete Handbook of Tempe: The Unique Fermented Soyfood of Indonesia*. Singapura: American Soybean Association, 1999.
  8. Feng X. Microbial dynamics during barley tempe fermentation. *Disertasi*. Swedia: Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Swedish University of Agriculture Sciences, 2006.
  9. Wipradnyadewi PAS, Rahayu ES, Raharjo S. Isolasi dan identifikasi *Rhizopus oligosporus* pada beberapa inokulum tempe, *Laporan Penelitian*. Denpasar: Universitas Udayana, 2005.
  10. Indonesia, Badan Standarisasi Nasional SNI 3144 tentang tempe kedelai. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional, 2009.
  11. Setyowati R, Sarbini D, Rejeki S. Pengaruh penambahan bekatul terhadap kadar serat kasar, sifat organoleptik dan daya terima pembuatan tempe kedelai. *Jurnal Penelitian Sains Dan Teknologi*. 2008; 9(1):52-61.