

Pengaruh Jenis Substrat Terhadap Pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* DP02 Bali dalam Pembuatan Ragi Tempe

The Effect of Substrate Type on Growth of *Rhizopus oligosporus* DP02 Bali in the Making of Tempeh Yeast

Edwin Sam Putra Surbakti¹, Agus Selamat Duniaji^{1*}, Komang Ayu Nocianitri¹

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana
Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali

*Penulis korespondensi: Agus Selamat Duniaji, Email: [selamatduniaji@unud.ac.id](mailto:salamatduniaji@unud.ac.id)

Abstract

This research aims to find out the effect of different types of substrates on the growth of Balinese local isolate *Rhizopus oligosporus* DPO2 in the making of tempeh yeast and to identify the right type of substrate for the growth of *R. oligosporus* DP02 in making tempeh yeast. This was an experimental research that was analyzed descriptively with type of substrates as the main factor that consists of 5 different flours including: rice, tapioca, corn, wheat and soybeans. Each treatment was repeated 3 times resulting 15 experimental units. The results showed that different types of substrate produced tempe yeast which has *R. oligosporus* DP02 Bali with dense to very dense mycelium, dry weight of mycelium 0.49 - 0.58 g, total mold 6.97 - 7.77 log CFU / g and water content. 4.47 - 6.01%. Corn flour produces tempeh yeast with the highest growth of *R. oligosporus* DP02 Bali, with the following characteristics: very dense mycelium, mycelium dry weight 0.58 g, total mold 7.77 log CFU / g and water content 4.55%.

Keywords: *types of substrate, mold growth, tempeh yeast.*

PENDAHULUAN

Tempe merupakan makanan yang terbuat dari kacang kedelai yang difermentasi. Untuk menghasilkan tempe dengan kualitas yang baik, dibutuhkan inokulum tempe yang merupakan kumpulan spora kapang yang mengubah kedelai rebus menjadi tempe melalui proses fermentasi. Ragi tempe merupakan inokulum bubuk yang dipergunakan untuk pembuatan tempe sebagai starter tempe. Untuk produksi besar, ragi tempe dibuat dengan memperbanyak kapang tempe seperti *Rhizopus oligosporus* pada media tertentu. Selanjutnya, spora yang dihasilkannya diawetkan dalam keadaan kering bersama medium tempat tumbuh kapang tempe tersebut.

Mikroba utama yang berperan dalam

pembuatan tempe yaitu kapang jenis *R. oligosporus* (Kustyawati, 2014). *R. oligosporus* tumbuh menghasilkan miselia putih yang halus, mengikat kacang bersama-sama menghasilkan tempe. Menurut Kusuma (2005), setiap tipe inokulum akan memberikan karakteristik tempe yang berbeda baik tekstur, warna dan kandungan nutrisinya. Tekstur, aroma dan kandungan nutrisi tempe sangat dipengaruhi oleh pembentukan miselium yang dihasilkan oleh *Rhizopus sp.* (Karsono *et al.*, 2009).

Rhizopus oligosporus DP02 Bali merupakan inokulum hasil isolasi dan identifikasi dari daun waru yang terdapat di Bali (Duniaji, dkk. 2019). Kemampuan dari isolat tersebut yaitu memiliki produktivitas spora tinggi dan viabilitas spora yang

dihasilkan seragam serta mampu menghasilkan enzim fitase yang memecah fitat menjadi inositol dan orthofosfat sehingga tempe lebih mudah dicerna dan nutrisi lebih mudah diserap oleh tubuh.

Secara umum pertumbuhan *R. oligosporus* tergantung pada kondisi pH, temperatur dan jenis substrat (Huang et al., 2005). Menurut penelitian Yusuf (1985) substrat yang paling sesuai untuk pertumbuhan kapang tempe adalah nasi. Hal ini dikarenakan nasi mengandung kadar air dan karbohidrat tinggi yang dibutuhkan oleh kapang sebagai sumber nutrisi untuk tumbuh. Penelitian Sudiarso (1993) menunjukkan bahwa viabilitas spora kapang tertinggi terdapat pada substrat nasi.

Proses pembuatan ragi membutuhkan penambahan bahan penunjang lain yang berperan sebagai sumber nutrisi untuk *R. oligosporus*. Hal ini dikarenakan kandungan air yang tinggi pada nasi dapat mempercepat kerusakan pada ragi, sehingga dalam pembuatan ragi harus dicampurkan dengan substrat lain yang memiliki kadar air rendah. Sale (2006) menyatakan bahwa selain nasi, beberapa media lainnya yang dapat digunakan sebagai substrat untuk sporulasi antara lain; terigu, beras, jagung, atau umbi-umbian.

Pertumbuhan kapang dapat disebabkan oleh keadaan lingkungan yang mendukung dan ketersediaan nutrisi seperti pati (80-85%), protein, vitamin, mineral dan air (Pakki, 2008). Mahmud (2008) menyatakan bahwa pada 100 g tapioka memiliki kadar protein 2 g dan kandungan karbohidrat 22 g. Pada 100 g tepung beras memiliki kadar protein 5,9 g dan kadar karbohidrat 80 g. Sedangkan pada 100 g tepung jagung memiliki kadar protein 0,26 g dan kadar karbohidrat 91,27 g.

Penambahan berbagai jenis tepung sebagai substrat dalam pembuatan ragi tempe diharapkan mampu mencukupi kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan oleh *Rhizopus oligosporus*.

Ragi tempe yang berkualitas baik harus mengandung mikroflora 10^7 sampai 10^8 cfu/g ragi tempe (Mujiyanto, 2013). Ragi dengan inokulum *R. oligosporus* memiliki viabilitas spora kapang 10^7 CFU / gram ragi. Pemanfaatan isolat *R. oligosporus* DP02 Bali dalam pembuatan ragi tempe mendapatkan kendala berupa belum diketahuinya jenis substrat yang tepat sebagai media pertumbuhannya. Penggunaan substrat yang tepat sebagai media pertumbuhan *R. oligosporus* DP02 Bali membutuhkan penelitian menggunakan lima jenis tepung yaitu; tepung beras, tepung jagung, tapioka, terigu dan tepung kedelai. Kelima jenis tepung tersebut memiliki kandungan nutrisi yang berbeda sehingga perbedaan tersebut diduga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan jumlah populasi dari *R. oligosporus* DP02 Bali dalam pembuatan ragi tempe.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di UPT. Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi, Universitas Udayana, Jl. Raya Kampus Udayana, Bukit Jimbaran. Penelitian ini berlangsung dari bulan Oktober sampai Januari 2021.

Bahan dan Alat

Bahan dalam penelitian ini adalah *Rhizopus oligosporus* DP02 Bali (Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana), beras (*Bakul*

Wangi), tepung beras (*Rose brand*), tapioka (*Rose brand*), tepung jagung (*Fits*), terigu (*Bogasari*), tepung kedelai (*Moringa*), kentang, dekstrosa, *Potato Dextrose Agar* (PDA), NaCl, alkohol 96%, aquades, *aluminium foil*, *plastic wrap*.

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi (pyrex), jarum ose, inkubator, *laminar air flow*, timbangan analitik (shimadzu AUX220, Jepang), mikroskop (Olympus CX21FS1, Jerman), pipet mikro, pipet volume, erlenmeyer (pyrex), autoklaf, cawan petri, *waterbath* (nvc thermologic, Jerman), oven, bunsen, blender, vortex, gelas objek, kertas saring whattman no. 41, gelas ukur, jarum ose, batang bengkok dan *ziplock*.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dianalisis secara deskriptif dengan perlakuan jenis substrat yang terdiri dari 5 jenis tepung yaitu: tepung beras, tapioka, tepung jagung, terigu dan tepung kedelai. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 15 unit percobaan. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Penyegaran dan Konfirmasi Isolat

Penyegaran isolat dilakukan dengan cara mengambil secara aseptik 1 ose stok isolat yang telah disimpan dalam refrigerator 4⁰C dan diinokulasikan pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan diinkubasi pada suhu 35⁰C selama 24 jam sampai munculnya kekeruhan pada media. Kemudian diambil sebanyak 100 μ L kultur *R. oligosporus* dari PDB yang telah divorteks dan disebar pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

lalu diinkubasi selama 72 jam hingga terbentuk koloni. Setelah penyegaran dilakukan konfirmasi isolat dimana hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna konidia abu-abuan kecoklatan. Kemudian dilakukan uji konfirmasi isolat dengan melakukan pengamatan morfologi makroskopis (morfologi koloni) meliputi bentuk koloni, warna koloni, warna sebalik koloni (*reverse side*) dan pengamatan morfologi mikroskopis (morfologi sel) meliputi warna hifa, ukuran hifa, percabangan hifa, struktur reproduksi (bentuk spora, rizoid, sporangiosfor dan sporangium) menggunakan mikroskop (Alexopolous *et al.*, 1996)

Pembuatan Stater

Pembuatan starter dilawali dengan cara memotong PDA yang telah ditumbuhi *Rhizopus oligosporus* DP02 Bali dari stok kultur 4⁰C dengan ukuran 1x1 cm menggunakan spatula dan ditumbuhkan pada nasi yang sudah matang dan telah disterilisasi pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Setelah itu nasi yang telah diinokulasi oleh *R. oligosporus* DP02 diinkubasi suhu 35⁰C selama 72 jam sampai terbentuk koloni.

Pembuatan Ragi Tempe

Pembuatan ragi dilakukan setelah media nasi telah ditumbuhi spora hingga tampak warna abu-abu kecoklatan. Starter tersebut kemudian dikeringkan pada suhu 40⁰C hingga 18 jam (Setyani, dkk. 2012). Setelah keringnya merata starter dihaluskan dengan cara ditumbuk atau digiling hingga berukuran kecil, kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Hasil ayakan dicampur dengan tepung sesuai perlakuan dengan perbandingan 1:9 hingga diperoleh ragi tempe sebesar 100 g. Ragi tempe dikemas menggunakan

kemasan *ziplock* dan diberikan label per kemasan, kemudian diinkubasi selama 3 hari suhu 35°C.

Variabel yang diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi pertumbuhan miselium secara makroskopis dan mikroskopis (Alexopolous *et al.*, 1996), kelebatan miselium (Duniaji *et al.*, 2019), berat kering miselium dengan metode pengeringan (Sulistyaningtyas dan Suprihadi, 2017), total kapang dengan metode *Total Plate Count* (Hogg,

2005) dan kadar air menggunakan metode oven (AOAC, 1984).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis pengaruh jenis substrat terhadap kelebatan miselium dapat dilihat pada Tabel 1, sedangkan hasil analisis pengaruh jenis substrat terhadap berat kering miselium, populasi dan kadar air dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Analisis kelebatan miselium *Rhizopus oligosporus* DP02 Bali menggunakan substrat yang berbeda

Jenis Substrat	Kelebatan Miselium	Keterangan
Tepung Beras (T1)	+++	Menutupi seluruh permukaan PDA
Tapioka (T2)	++	Menutupi $\frac{3}{4}$ permukaan PDA
Tepung Jagung (T3)	+++	Menutupi seluruh permukaan PDA
Terigu (T4)	+++	Menutupi seluruh permukaan PDA
Tepung Kedelai (T5)	++	Menutupi $\frac{3}{4}$ permukaan PDA

Keterangan: +++ (Sangat lebat, menutupi seluruh permukaan PDA miring), ++ (Lebat, menutupi $\frac{3}{4}$ permukaan PDA miring), + (Agak lebat, menutupi $\frac{1}{2}$ permukaan media miring) (Duniaji *et al.*, 2019).

Tabel 2. Nilai rata-rata berat kering miselium, populasi dan kadar air ragi tempe menggunakan substrat yang berbeda

Jenis Substrat	Berat Kering Miselium (g)	Total Kapang (log CFU / g)	Kadar Air (%)
Tepung Beras (T1)	0,57 ± 0,03	7,64 ± 0,27	5,06 ± 0,47
Tapioka (T2)	0,49 ± 0,04	6,97 ± 0,35	5,17 ± 0,63
Tepung Jagung (T3)	0,58 ± 0,02	7,77 ± 0,35	4,55 ± 0,45
Terigu (T4)	0,57 ± 0,03	7,63 ± 0,37	6,01 ± 0,31
Tepung Kedelai (T5)	0,51 ± 0,02	7,52 ± 0,11	4,47 ± 0,12

Keterangan: Nilai rata-rata ± standar deviasi (n=3)

Kelebatan Miselium

Berdasarkan Tabel 1. dapat dilihat bahwa seluruh jenis substrat dapat menghasilkan ragi tempe dengan miselium *R. oligosporus* DP02 yang lebat hingga sangat lebat. Pengujian kelebatan miselium dilakukan dengan cara menghitung luas permukaan PDA miring yang ditumbuhi miselium *R. oligosporus* DP02. Luas permukaan PDA

miring tersebut dibagi menjadi empat bagian dan masing-masing bagian diberi tanda sehingga dapat dibandingkan tingkat kelebatan miselium *R. oligosporus* DP02 dari ragi tempe yang dihasilkan menggunakan lima jenis substrat yang berbeda. *R. oligosporus* DP02 pada ragi tempe dengan bahan dasar tapioka dan tepung kedelai memiliki miselium yang lebat, sedangkan ragi

tempe dengan bahan dasar tepung beras, tepung jagung dan terigu memiliki miselium sangat lebat. Hal ini dapat disebabkan oleh kandungan nutrisi yang berbeda dari setiap substrat.

Ditinjau dari sumber karbon sebagai nutrisi utama pada pertumbuhan *R. oligosporus*, tapioka dan tepung kedelai memiliki kandungan karbohidrat yang lebih rendah dari jenis tepung lainnya. Tapioka merupakan bahan pangan yang terbuat dari pati umbi singkong yang telah diekstrak dengan air kemudian disaring dan hasil cairan diendapkan. Hasil endapan kemudian dikeringkan dan digiling hingga diperoleh butiran-butiran pati halus berwarna putih (Luthana, 2004). Berdasarkan proses pembuatannya, dalam 100 g tapioka memiliki kandungan gizi yang lebih rendah dibandingkan tepung lainnya yaitu, karbohidrat 22 g, protein 2 g dan 3,9 g lemak. Pada 100 g tepung kedelai dengan bahan dasar kedelai putih memiliki karbohidrat 29,9 g, protein 35 g dan lemak 20,6 g. Sedangkan pada 100 g tepung beras, jagung dan terigu memiliki kandungan karbohidrat lebih dari 70 g (Anon, 2004).

Pertumbuhan *R. oligosporus* DP02 dapat dilihat dari adanya hifa-hifa yang menjalin suatu jaringan miselium. Kandungan karbohidrat pada berbagai substrat yang digunakan dalam pembuatan ragi tempe dimanfaatkan untuk pertumbuhan *R. oligosporus* DP02. Karbohidrat dalam tepung berbentuk pati dan hasil hidrolisis pati oleh enzim amilase adalah maltosa dan glukosa (Dewi, 2004). Berdasarkan hasil penelitian, miselium akan semakin lebat pada substrat yang memiliki kandungan karbohidrat lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan

Miszkiewicz *et al* (2003) bahwa banyaknya hifa yang dihasilkan bergantung pada ketersediaan glukosa, protein terlarut, aktivitas enzim dan strain dari *R. oligosporus*.

Berat Kering Miselium

Berdasarkan Tabel 2. dapat diketahui bahwa berat kering miselium *R. oligosporus* DP02 pada ragi tempe dengan jenis substrat yang berbeda berkisar dari 0,49 - 0,58 g, dimana berat kering miselium tertinggi dihasilkan pada ragi tempe dengan substrat tepung jagung dan berat kering miselium terendah dihasilkan pada ragi tempe dengan substrat tapioka. Hal ini sesuai dengan hasil kelebatan miselium dimana pertumbuhan miselium akan semakin lebat pada substrat dengan kandungan karbohidrat yang lebih tinggi. Hasil penelitian ini masih sesuai dengan kisaran penelitian Dewi *et al* (2005) dimana berat kering miselium dari *R. oryzae* yang berkisar dari 0,29 – 0,67 g. Hal ini dapat terjadi karena kedua kapang tersebut berasal dari genus *Rhizopus* yang berperan dalam pembuatan ragi tempe. Gandjar *et al.*, (2006) menyebutkan bahwa pertumbuhan kapang berasal dari spora. Pertumbuhan spora akan membentuk struktur hifa menyerupai seuntai benang panjang. Kumpulan hifa yang bercabang-cabang membentuk suatu jala yang umumnya berwarna putih yang disebut miselium.

Hifa-hifa yang sudah menjalin suatu jaringan miselium semakin lama akan menjadi semakin tebal sehingga membentuk suatu koloni yang dapat dilihat dengan kasat mata. Miselium yang mengalami pemanjangan dan percabangan akan menambah berat dari miselium tersebut dan mengindikasikan bahwa *R. oligosporus* DP02

memiliki kemampuan untuk memanfaatkan sumber karbohidrat yang ada pada substrat untuk pertumbuhannya.

Total Kapang

Berdasarkan Tabel 2. dapat dilihat bahwa total kapang pada ragi berkisar dari 6,97 log CFU/g hingga 7,77 log CFU/g. Hasil ini didukung oleh penelitian Nurrahman (2012) dalam pembuatan inokulum bubuk menggunakan *R. oligosporus* dengan substrat beras menghasilkan kapang sebanyak 10^7 CFU/g. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa tepung jagung mampu menghasilkan ragi tempe dengan total kapang paling tinggi, kemudian diikuti oleh ragi dengan substrat tepung beras, terigu, tepung kedelai dan tapioka. Hal ini berkaitan dengan kandungan nutrisi yang berbeda pada tiap substrat, dimana pada penelitian ini tepung jagung memiliki nilai karbohidrat paling tinggi yaitu 91 g, kemudian diikuti oleh tepung beras 80 g, terigu 75 g, tepung kedelai 29,9 g dan tapioka 22 g.

Pertumbuhan kapang dapat disebabkan oleh keadaan lingkungan yang mendukung dan ketersediaan nutrisi seperti pati (80-85%), protein, vitamin, mineral dan air (Pakki, 2008). *Rhizopus* merupakan salah satu kapang yang memiliki enzim amilase. Dalam keadaan aerob, *Rhizopus* banyak menghasilkan enzim amilase ekstraselular (Crueger dan Crueger, 1984). Enzim tersebut dihasilkan untuk memecah pati pada tepung menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu maltosa dan glukosa, sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhannya.

Total kapang merupakan parameter spesifik yang diuji pada pembuatan ragi tempe. Hal ini

dikarenakan indikator keberhasilan ragi dapat dilihat dari angka pertumbuhan spora yang tinggi segera setelah diinokulasikan. Ragi tempe yang berkualitas baik harus mengandung mikroflora 10^7 sampai 10^8 CFU/g ragi tempe (Mujianto, 2013). Berdasarkan hasil penelitian, tapioka hanya menghasilkan total kapang sebanyak 10^6 CFU/g sedangkan tepung beras, tepung jagung, terigu dan tepung kedelai mampu menghasilkan ragi tempe dengan total kapang yang sudah sesuai yaitu 10^7 CFU/g. Hal ini berhubungan erat dengan kandungan karbohidrat yang ada pada setiap substrat, dimana tapioka memiliki kandungan karbohidrat yang paling rendah dibandingkan dengan substrat yang lain. Oleh karena itu, semakin tinggi kandungan karbohidrat pada substrat akan menghasilkan populasi *R. oligosporus* DP02 Bali yang lebih tinggi.

Kadar Air

Berdasarkan Tabel 2. dapat diketahui bahwa kadar air terendah terdapat pada ragi tempe dengan substrat tepung kedelai yaitu 4,47% dan kadar air tertinggi terdapat pada ragi tempe dengan substrat terigu yaitu 6,01%. Hasil ini lebih rendah dari penelitian Sukardi (2008) dimana kadar air yang dihasilkan pada inokulum bubuk menggunakan substrat tepung beras dan ubi kayu memiliki kadar air 6,57% hingga 6,69%. Hal ini dapat disebabkan oleh penggunaan tepung dengan bahan dasar beras maupun ubi kayu yang tidak berasal dari produsen yang sama serta proses pengolahan yang berbeda sehingga memungkinkan perbedaan data yang dihasilkan.

Berdasarkan pengujian kadar air pada setiap substrat yang digunakan didapatkan bahwa tepung

beras memiliki kadar air 10,17%, tapioka 12,75%, tepung jagung 5,01%, terigu 13,64% dan tepung kedelai 4,87%. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa kadar air tertinggi terdapat pada terigu dan kadar air terendah pada tepung kedelai. Perbedaan kadar air pada setiap tepung tersebut menyebabkan perbedaan kadar air pada ragi tempe yang dihasilkan. Semakin rendah kadar air pada tepung yang digunakan sebagai substrat pertumbuhan *R. oligosporus* DP02 Bali akan menghasilkan ragi tempe dengan kadar air yang semakin rendah. Hal ini disebabkan oleh kadar air pada substrat juga akan dimanfaatkan oleh kapang dalam pertumbuhannya sehingga seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan akan menyebabkan penurunan kadar air.

Ragi tempe yang dijual secara komersil memiliki masa simpan enam bulan. Berdasarkan hasil penelitian, dapat dikatakan bahwa ragi tempe yang dihasilkan memiliki nilai kadar air yang relatif rendah. Kadar air pada ragi tempe sudah sesuai dengan SNI 01-2982-1992 tentang ragi roti, dimana kadar air maksimalnya adalah 8%. Kadar air pada ragi tempe yang dihasilkan diharapkan dapat memperlambat proses pembusukan ataupun kerusakan sehingga memiliki masa simpan yang sama seperti ragi tempe yang dijual secara komersil.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa jenis substrat yang berbeda menghasilkan ragi tempe yang memiliki *R. oligosporus* DP02 Bali dengan miselium yang lebat hingga sangat lebat, berat kering miselium 0,49 - 0,58 g, total kapang 6,97 - 7,77 log CFU/g dan kadar air 4,47 -

6,01%. Tepung jagung menghasilkan ragi tempe dengan pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* DP02 Bali tertinggi yaitu dengan karakteristik memiliki miselium yang sangat lebat, berat kering miselium 0,58 g, total kapang 7,77 log CFU /g dan kadar air 4,55%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W & Blackwell, M. 1996. Introductory Mycologi. John Wiley & Sons, Singapore. p. 244 - 324.
- Dwidjoseputro.2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan, Jakarta.
- AOAC. 1984. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Budiono. 2016. Pengaruh Jenis Kapang Terhadap Aktivitas Fermentasi Tempe Saga Pohon (*Adenanthera pavonina L.*) Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Crueger, W., dan A. Crueger. 1984. Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology. Madison: Sinauer Tech, Inc.
- Dewi, C., T. Purwoko dan A. Pangastuti. 2005. Produksi Gula Reduksi oleh *Rhizopus oryzae* dari Substrat Bekatul. Jurnal Bioteknologi 2 (1) : 21-26
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 2004. Daftar Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Duniaji, A.S, W. Wisaniyasa, N. N. Puspawati dan N.M. Indri H. 2019. Isolation and Identification of *Rhizopus oligosporus* Local Isolate Derived from Several Inoculum Sources. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 8 (9): 1085-1098
- Gandjar, I., S. Wellyzar dan O. Ariyani. 2006. Mikrobiologi Dasar dan Terapan, Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Hogg. 2005. Essential Microbiology. The University of Glamorgan, Jhon Wiley & Sons, Ltd, UK, p.51 and p.169.
- Huang, L.P., Jin, B., Lant, P., and Zhou, J. 2005. Simultaneous Saccharification and Fermentation Of Potato Starch Wastewater To Lactic Acid By *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus arrhizus*. Biochemical Engineering Journal. 23. 265- 276.
- Jennessen, J., K.F. Nielsen., J. Houbraken., E.K. Lyhne., J. Schnürer., J.C. Frisvad., R.A.

- Samson. (2005). Secondary Metabolite and Mycotoxin Production by The *Rhizopus microspores* Group. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1833–1840.
- Kustyawati, M.E. 2014. Pengawetan Tempe Menggunakan Teknologi Karbon Dioksida Bertekanan Tinggi. (Disertasi). Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Kustyawati, M.E., F. Pratama, D. Saputra, dan A. Wijaya. 2014. Modifikasi Warna, Tekstur dan Aroma Tempe Setelah diproses dengan Karbondioksida Superkritik. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 25 (2): 168-175.
- Kusuma, Y. D. 2005. Kemampuan *Rhizopus oligosporus* Pada Fermentasi Tempe Kedelai Sindoro Americana dan Campuran Masing-masing Kedelai dengan Kecipi dalam menghasilkan Isoflavon Aglikon, Skripsi (tidak dipublikasikan), Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Luthana D. 2004. Rekomendasi dalam Penetapan Standar Mutu Tapioka. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Semarang.
- Mahmud. 2008. Tabel Komposisi Pangan Indonesia. Persatuan Ahli Gizi Indonesia. Jakarta: Elex Media Komputindo, Gramedia.
- Miskiewicz H, Bizukojc M, Rozwandowicz A and Bielecki S. 2003. Physiological Properties and Enzymatic Of *Rhizopus Oligosporus* In Solid State Fermentations. *Commun. Agric. Appl.Biol. Sci.* 68(2 ptA): 313-316.
- Mujianto. 2013. Analisis Faktor yang Mempengaruhi Proses Produksi Tempe Produk UMKM di Kabupaten Sidoarjo. *Reka Agroindustri* 1 (1) Nurrahman., M. Astuti, Suparmo dan M.H. Soesatyo. 2012. Pertumbuhan Jamur, Sifat Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan Tempe Kedelai Hitam yang Diproduksi dengan Berbagai Jenis Inokulum. *Jurnal Agritech* 32 (1)
- Pakki B. S., dan Zubachtirodin. 2008. Sistem Perbenihan Jagung. Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros.
- Rahman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. PAU IPB. Bogor.
- Sudiarso, F.D. 1993. Kajian Teknologis dan Finansial Produk Laru Tempe Kedelai. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sukardi, Wignyanto dan I.Purwaningsih. 2008. Uji Coba Penggunaan Inokulum Tempe dari Kapang *Rhizopus oryzae* dengan Substrat Tepung Beras dan Ubikayu pada Unit Produksi Tempe Sanan Kodya Malang. *Jurnal Teknologi Pertanian* 9 (3)
- Sulistyaningtyas, A R. & A. Suprihadi. 2017. Produksi Miselium Jamur Ling ZHI (*Ganoderma lucidum*) Dalam Medium Air Kelapa Tua Dan Tauge Extract Broth Dengan Metode Kultur Terendam Teragitasi. UMS.
- Yusuf, H. 1985. Pengaruh Jenis Kapang, Jenis Pengemas, dan Lama Penyimpanan terhadap Aktifitas Inokulum Murni Tempe Kedelai. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.