

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nilai Gizi Makanan

Bahan makanan ialah bahan alamiah yang dapat menjadi sumber kalori atau dapat memberikan bahan-bahan yang diperlukan untuk berlangsungnya proses-proses kehidupan. Dalam perkembangan dan kehidupannya, manusia bergantung pada suplai terus menerus dari zat-zat gizi yang berasal dari luar (Sediaoetama, 1987; Muchtadi, 1989; Linder, 1992).

Nilai gizi suatu bahan pangan ditentukan oleh zat gizi yang dikandungnya sesuai dengan yang dibutuhkan oleh tubuh. Bila bahan pangan tersebut mengandung zat gizi yang lengkap dan dapat digunakan oleh tubuh, maka bahan tersebut mempunyai nilai gizi yang tinggi dan sebaliknya bila bahan tersebut mengandung zat gizi yang kurang lengkap, maka bahan tersebut mempunyai nilai gizi yang rendah.

Zat gizi adalah senyawa kimia yang diperlukan manusia untuk kehidupan dan pertumbuhannya serta mengganti bagian-bagian tubuh yang sudah rusak. Zat gizi dapat dikelompokkan menjadi lima kelompok, yaitu :

(1) karbohidrat, (2) lipid, (3) protein, (4) Vitamin dan

(5) mineral (Sediaoetama, 1987 ; Linder, 1992).

2.1.1 Karbohidrat

Dari sudut gizi, karbohidrat dalam bahan pangan dapat digolongkan menjadi : (1) karbohidrat yang dapat dicerna, misalnya monosakarida, disakarida, dan amilum, (2) Karbohidrat yang tidak dapat dicerna, misalnya oligosakarida (stakiosa, rafinosa) dan serat makanan yang terdiri dari selulosa, pektin, hemiselulosa, dan gum. Karbohidrat yang dapat dicerna berfungsi sebagai sumber energi bagi tubuh. Di dalam tubuh karbohidrat akan mengalami hidrolisis oleh enzim karbohidratase yang menghasilkan glukosa (Muchtadi, 1989).

Serat makanan ialah bagian makanan yang tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan manusia. Berdasarkan penelitian, konsumsi serat makanan akan mempengaruhi mikroflora usus, serat makanan akan mengurangi waktu transit makanan dalam usus, sehingga serat makanan dapat menurunkan absorpsi kolesterol oleh usus, dan meningkatkan ekskresi asam empedu dalam feses (Ebihara & Barbara, 1989 ; Muchtadi, 1989 ; Linder, 1992).

2.1.2 Lipid

Lipid adalah senyawa yang tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik. Di dalam makanan yang memegang peranan penting ialah lemak netral atau trigliserida, di samping itu juga terdapat fosfolipid dan

sterol terutama kolesterol. Fosfolipid dan kolesterol (tidak terdapat dalam makanan nabati) dikonsumsi dalam jumlah sedikit. Di dalam tubuh lemak berfungsi terutama sebagai sumber energi (Linder, 1992).

Berdasarkan sumbernya lemak digolongkan menjadi : (1) lemak nabati, yang mengandung lebih banyak asam lemak tidak jenuh dan (2) lemak hewani, yang mengandung asam lemak jenuh (Sediaoetama, 1987 ; Muchtadi, 1989).

Berdasarkan kemampuan tubuh mensintesis, asam lemak ada dua macam, yaitu asam lemak esensial dan asam lemak nonesensial. Asam lemak esensial adalah asam lemak yang tidak dapat disintesis dalam tubuh dan harus disuplai dari makanan, yang terdiri dari asam linoleat dan linolenat (Muchtadi, 1989; Linder, 1992).

2.1.3 Protein

Protein merupakan zat gizi yang sangat penting, karena paling erat hubungannya dengan proses-proses kehidupan. Fungsi utama protein bagi tubuh, ialah : (1) membentuk komponen struktur sel, (2) merupakan bahan penting untuk berbagai fungsi sel, yaitu mengatur metabolisme (enzim, hormon peptida tertentu) dan mempertahankan tubuh (antibodi), dan (3) sebagai sumber energi bagi tubuh bila energi dari karbohidrat dan lipid tidak mencukupi (Muchtadi, 1989 ; Sediaoetama, 1987 ; Linder, 1992).

Sumber-sumber protein bagi manusia dapat

digolongkan menjadi : (1) protein hewani (daging, susu, telur, ikan, kerang-kerangan), dan (2) protein nabati (kacang-kacangan/ biji-bijian, serelia, sayuran)

Protein yang terkandung dalam bahan pangan setelah dikonsumsi akan mengalami pencernaan menjadi unit-unit penyusunnya, yaitu asam amino. Asam amino ini selanjutnya diserap oleh usus dan kemudian dialirkan ke seluruh tubuh untuk digunakan dalam pembentukan jaringan baru dan mengganti jaringan tubuh yang rusak. Oleh karena itu asam amino yang diperlukan adalah asam amino yang sesuai dengan apa yang dibutuhkan oleh tubuh (Lehninger, 1988 ; Linder, 1989).

Berdasarkan kemampuan tubuh mensintesis, asam amino dapat digolongkan menjadi : (1) asam amino esensial, yaitu asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh dan harus disuplai dari makanan, dan (2) asam amino nonesensial, yaitu asam amino yang dapat disintesis oleh tubuh (Winarno, 1984 ; Lehninger, 1988). Asam-asam amino esensial dan asam-asam amino nonesensial untuk manusia disajikan dalam Tabel 2.1.

Asam amino histidin dan arginin merupakan asam amino semi esensial karena asam amino histidin esensial untuk bayi, sedangkan asam amino arginin dapat disintesis oleh tubuh walaupun jumlahnya tidak mencukupi kebutuhan tubuh (Lehninger, 1988).



Tabel 2.1 : Asam amino esensial dan nonesensial untuk manusia

Asam amino esensial		asam amino nonesensial	
Treonin	(Thr)	Glisin	(Gly)
Leusin	(Leu)	Alanin	(Ala)
Isoleusin	(Ile)	Asam aspartat	(Asp)
Valin	(Val)	Asam glutamat	(Glu)
Lisin	(Lys)	Sistein	(Cys)
Metionin	(Met)	Tirosin	(Tyr)
Fenilalanin	(Phe)	Sistin	
Triptofan	(Trp)	Serin	(Ser)
		Prolin	(Pro)
<u>Semiesensial</u>		Glutamin	(Gln)
		Asparagin	(Asn)
Histidin	(His)		
Arginin	(Arg)		

Sumber : Lehninger, (1988)

Kualitas protein bahan makanan dapat dilihat dari perbandingan dan jumlah asam amino esensial yang terkandung dalam protein bahan makanan tersebut. Bila suatu sumber protein mengandung asam amino esensial yang lengkap dan dapat mencukupi kebutuhan manusia maka sumber protein tersebut berkualitas tinggi. Sebaliknya sumber protein yang kekurangan satu atau lebih asam amino esensial dianggap mempunyai mutu yang kurang. Asam amino esensial yang jumlahnya paling rendah dalam sumber protein disebut asam amino pembatas. Protein hewani merupakan protein berkualitas tinggi, sedangkan protein nabati kualitasnya kurang karena dalam protein nabati terdapat satu atau lebih asam amino pembatas. Misalnya, dalam kedele asam amino pembatas adalah metionin (Winarno, 1984 ; Sediaoetama; 1987). Kandungan asam amino

esensial kedele, kacang hijau, dan telur ayam disajikan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 : Kadungan asam amino esensial kedele, kacang hijau, dan telur ayam

Asam amino (mg/g N)	Kedele	Kacang hijau	Telur ayam
Isoleusin	340	350	415
Leusin	480	560	553
Lisin	400	430	403
Fenilalanin	310	300	365
Tirosin	200	100	262
Sistin	110	90	149
Treonin	250	200	317
Triptofan	90	50	100
Valin	330	310	454
Metionin	80	70	197

Sumber : Direktorat Gizi DEPKES RI (1972)

2.1.4 Vitamin

Vitamin adalah zat organik yang dibutuhkan tubuh dalam jumlah sedikit untuk melangsungkan proses metabolisme, dan berguna untuk pertumbuhan serta memelihara tubuh. Vitamin tidak didegradasi untuk memperoleh energi, tidak disekresi oleh kelenjar, tetapi vitamin harus ada pada makanan yang dikonsumsi (Winarno, 1984; Sediaoetama, 1987; Muchtadi, 1989; Linder, 1992).

Berdasarkan kelarutannya vitamin diklasifikasikan menjadi dua golongan, yaitu (1) vitamin yang larut dalam dalam air, misalnya vitamin B dan C, dan (2) vitamin yang larut dalam lemak, yaitu vitamin A, D, E, dan K. Vitamin berfungsi sebagai kofaktor atau koenzim dalam metabolisme zat gizi yang lain (Muchtadi, 1989; Linder, 1992).

2.1.5 Mineral

Dalam tubuh mineral digolongkan dalam dua kelompok, (1) elemen makro, yaitu mineral yang terdapat dalam jumlah yang relatif besar, dan (2) elemen mikro, yaitu mineral yang terdapat dalam jumlah yang relatif sedikit. Fungsi umum mineral di dalam tubuh adalah pembentuk berbagai jaringan tubuh, misalnya, tulang dan gigi (Ca dan P), kofaktor dalam berbagai reaksi enzimatik (Ca pada proses pembekuan, Fe pada fosforilasi oksidatif), bagian integral dari berbagai protein (metalloprotein), mengatur tekanan osmotik cairan tubuh (K^+ , Na^+ , Cl^-), mempertahankan dan mengatur potensial membran sel (K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Cl^-), dan berperan dalam penghantaran impuls syaraf (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^-) (Muchtadi, 1989 ; Sediaoetama, 1989 ; Linder, 1992).

2.2 Kedele sebagai Sumber Protein Nabati

Kedele adalah tanaman berasal dari Cina, Manchuria, dan Korea. Tanaman ini berasal dari jenis kedele liar *Glycine ussuriensis*, kemudian menyebar ke daerah tropika dan subtropika. Setelah dilakukan pemuliaan dihasilkan berbagai jenis kedele unggul yang selanjutnya dibudidayakan. Rumphius melaporkan bahwa pada tahun 1750, kedele sudah dikenal di Indonesia sebagai bahan makanan dan pupuk hijau (Norman, 1978 ; Koswara, 1992 ;

Astuti, 1996a).

Klasifikasi tanaman kedele adalah sebagai berikut.

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Rosales
Familia	: Papilionaceae
Genus	: <i>Glycine</i>
Species	: <i>Glycine max</i> (Norman, 1978)

Ditinjau dari segi pangan dan gizi, kedele merupakan sumber protein nabati yang paling murah. Kandungan protein kedele berbagai varietas yang ada di Indonesia 30,53% sampai 44% (LKN-LIPI, 1975c; Koswara, 1992). Komposisi kimia kedele disajikan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 : Komposisi kimia kedele

Komposisi kimia		biji kedele kering (dari tiap 100 g)
1	Protein (g)	34,9
2	Lemak (g)	18,1
3	Karbohidrat (g)	34,8
4	Kalsium (mg)	227
5	Fosfor (mg)	585
6	Besi (mg)	8
7	Vitamin A (IU)	110
8	Vitamin B ₁ (mg)	1,07
9	Vitamin C (mg)	0
10	Air (g)	7,5

Sumber : Direktorat Gizi DEPKES RI (1972)

2.3 Kacang Hijau sebagai Sumber Protein Nabati

Kacang hijau merupakan tanaman Leguminosae yang cukup penting di Indonesia. Posisinya menduduki tempat ketiga setelah kedele dan kacang tanah. Kacang hijau disebut juga "mung bean", "green gram" atau "golden gram". Klasifikasi tanaman kacang hijau adalah sebagai berikut.

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Rosales
Familia	: Papilionaceae
Genus	: <i>Vigna</i>
Spesies	: <i>Vigna radiata</i> (Trustinab, 1991).

Kacang hijau merupakan sumber protein, vitamin, dan mineral yang penting bagi manusia. Komposisi kimia kacang hijau disajikan pada Tabel 2.4. Dengan potensinya ini kacang hijau dapat mengisi kekurangan protein pada umumnya. Kacang hijau sebagian besar dikonsumsi untuk bahan makanan, seperti taoge, bubur, tepung, pati, dan minuman. Pada umumnya konsumsi yang paling besar adalah taoge. Kacang hijau dalam bentuk tepung juga banyak dikonsumsi. Tetapi dalam kedua bentuk bahan makanan ini vitamin B-nya sudah hilang. Kacang hijau mempunyai prospek yang cukup baik karena kandungan gizinya tinggi,

rasanya enak dan kegunaannya beragam (Sumarno, 1991 ; Engel, 1978 ; Tsou & Hsu, 1991).

Tabel 2.4 : Komposisi kimia kacang hijau

Komposisi kimia		Biji kacang hijau (dari tiap 100 g)
1	Protein (g)	22,2
2	Lemak (g)	1,2
3	Karbohidrat (g)	62,9
4	Kalsium (mg)	125
5	Fosfor (mg)	320
6	Besi (mg)	6,7
7	Vitamin A (IU)	157
8	Vitamin B (mg)	0,64
9	Vitamin C (mg)	6
10	Air (g)	10

Sumber : Direktorat Gizi DEPKES RI (1972)

2.4 Fermentasi Dan Tempe

2.4.1 Fermentasi

Fermentasi adalah penguraian atau degradasi senyawa kompleks (polimer) menjadi senyawa sederhana (monomer) oleh enzim mikroorganisme (Saono, 1971; LKN-LIPI, 1975b). Enzim yang bekerja pada proses tersebut terpisahkan dari selnya atau masih terikat di dalam sel. Pada fermentasi tempe enzim yang bekerja bersifat ekstraselular, yaitu setelah diproduksi di dalam sel kemudian dikeluarkan dari sel ke substrat di sekelilingnya. Enzim ekstraselular menghidrolisis makromolekul di luar sel menjadi komponen yang lebih sederhana sehingga dapat diserap ke dalam sel (Saono, 1971; Winarno, 1984 ; Fardiaz, 1988 ; Timotius & Farly, 1990).

Fermentasi merupakan fungsi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme. Berdasarkan substrat yang diurai mikroorganisme, fermentasi dapat dibedakan menjadi : (1) fermentasi substrat padat, dan (2) fermentasi substrat cair (Saono, 1971).

2.4.2 Tempe

Tempe adalah makanan tradisional Indonesia yang merupakan produk fermentasi substrat padat. Cara yang digunakan masih sederhana, tanpa penerapan prinsip-prinsip teknologi modern, baik dalam bentuk peralatan, pengendalian jalannya fermentasi ataupun dalam penggunaan inokulum. Oleh karena itu berhasilnya proses tersebut semata-mata disebabkan karena tersedianya mikroorganisme yang diperlukan dalam lingkungan, dan fermentasi itu dilakukan karena telah terjadi adaptasi alami yang memakan waktu lama (Saono, 1971 ; Timotius & Farly, 1990).

Penelitian-penelitian mengenai tempe mengungkapkan tempe mudah dicerna, bergizi tinggi, dan zat-zat gizinya mudah diserap tubuh. Selain itu tempe mengandung zat-zat yang bersifat antiinfeksi, antioksidan, dan hipolipidemik. Tempe dapat diolah lebih lanjut menjadi makanan untuk penggunaan khusus, misalnya sebagai makanan bayi, untuk penanggulangan masalah kurang energi-protein, atau untuk menurunkan kadar kolesterol darah. Makanan formula tempe yang sudah diteliti menunggu pengembangan

lebih lanjut oleh industri agar dapat diproduksi secara komersial (Arsiniati, 1994; Kodyat *et al.*, 1990 ; Karyadi & Hermana, 1995 ; Astuti, 1996b).

2.5 Peranan Mikroorganisme dalam Proses Pembuatan Tempe

Aktivitas mikroorganisme dalam proses pembuatan tempe terdapat pada : (1) proses fermentasi awal (perendaman) oleh bakteri pembentuk asam dan (2) proses fermentasi utama (pemeraman) oleh kapang *Rhizopus* sp.

Perendaman merupakan tahap awal yang penting dalam pembuatan tempe. Bakteri yang dominan selama perendaman ialah *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecium*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Streptococcus dysgalactiae*. Bakteri lain yang juga ikut dalam perendaman ialah bakteri familia Enterobacteriaceae : *Klebsiella pneumoniae*, *K. ozaenar*, *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans*, dan *Citrobacter diversus* serta beberapa khamir yaitu *Pichia burtonii*, *Candida diddensiae*, dan *Rhodotorula rubra*. Sedangkan bakteri yang mempunyai kemampuan menurunkan pH ialah *Lactobacillus casei*, *Streptococcus dysgalactiae*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Sumber mikroorganisme dalam perendaman berasal dari kedele (Mulyowidarso, 1988 ; Sujanto, 1998).

Mikroorganisme yang berperan dalam tahap fermentasi ialah *Rhizopus* sp. Klasifikasi lengkap dari *Rhizopus* sp. adalah sebagai berikut.

Regnum : Mycota
 Divisio : Amastigomyceta
 Subdivisio : Zygomycotina
 Classis : Zygomycetes
 Ordo : Mucorales
 Familia : Mucoraceae
 Genus : *Rhizopus*
 Species : *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*
Rhizopus oryzae (Alexopoulos, 1979).

Morfologi *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*, dan *Rhizopus oryzae* adalah sebagai berikut.

Morfologi *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* UICC 116

Pertumbuhan pada potato dextrose agar (PDA) (30°C).

Koloni : mula-mula putih, kemudian putih keabu-abuan sampai abu-abu tua.
 Miselium : rebah pada permukaan agar.
 Sporangiofor : lurus, fasikel sering merupakan ikatan menyerupai tempat lilin, berwarna coklat pada pangkal dan hialin ke ujung, panjang 179-497 μm , garis tengah 13,5 μm
 Sporangiospora : bulat (5,9-6,6 μm), hialin atau abu-abu muda bila berdiri sendiri, dalam gerombolan berwarna abu-abu coklat, tidak bergaris lurik.
 Sporangium : bulat (50 - 105 μm), berwarna hitam, tidak berduri.

Kolumela : *globose*, (35 - 50 μm), hialin mempunyai kerah sesudah merekah, apofise lebar, dinding halus.

Klamidospora : interkalar atau terminal, tunggal atau berantai, berdinding tebal (1 - 1,5 μm), bulat (15 - 18 μm), kadang-kadang semibulat atau semisilindrik (8-10 μm x 14-18,5 μm), isi berwarna kuning.

Rhizoid : menyerupai jari atau rozet pendek, psedoseptum (Gandjar, 1977).

Gambar *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* disajikan pada Gambar 2.1.

Morfologi *Rizopus oryzae* UICC 128

Pertumbuhan pada potato dextrose agar (PDA) (30°C)

Koloni : mula-mula putih, kemudian coklat muda, putih keabu-abuan.

Miselium : menyerupai kapas.

Sporangiofor : lurus, kadang-kadang agak bengkok pada pangkal, berwarna coklat, permukaan kasar, panjang 300 - 865 μm , garis tengah 10 - 12 μm .

Sporangiospora : bulat (5 - 7,9 μm) atau bulat telur (6,8-7,6 μm x 8,2-10,3 μm), berwarna abu-abu, bergaris lurik, lurikan beranastomosis di sana sini.

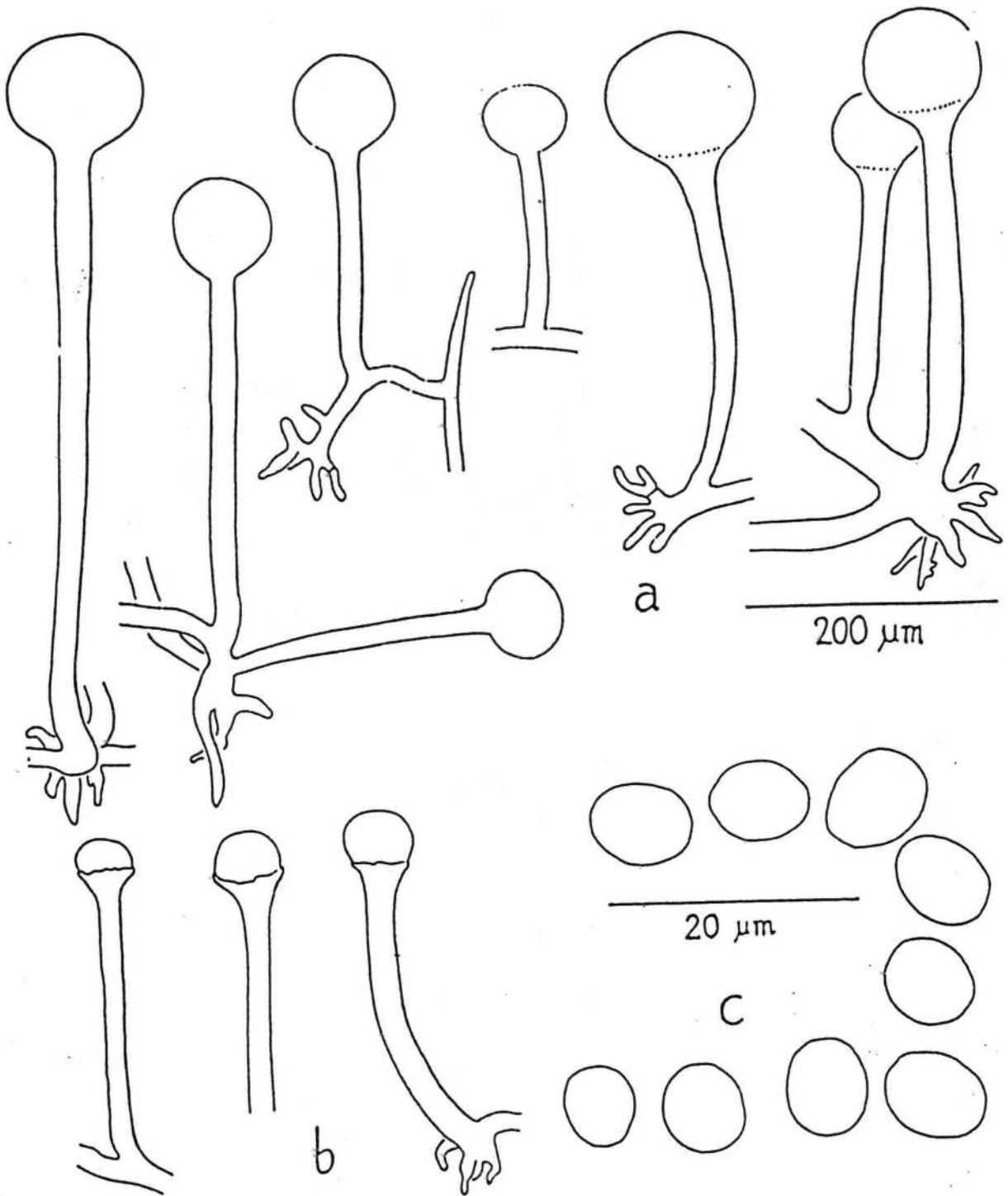
- Sporangium : bulat atau hampir bulat (136,4-186 μm), berwarna hitam, permukaan berduri.
- Kolumela : *globose* atau *subglobose* (67-100 μm), dinding halus.
- Rhizoid : menyerupai tangan, bercabang pada bagian yang menyerupai jari (Gandjar, 1977).

Gambar *Rhizopus oryzae* disajikan pada Gambar 2.2.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan optimum dari kapang agar menghasilkan tempe berkualitas baik ialah : oksigen, kelembaban, dan suhu. Oksigen harus cukup untuk pertumbuhan kapang, bila oksigen terlalu banyak, maka permukaan substrat akan menjadi kering sehingga menghambat pertumbuhan kapang. Bila terlalu lembab pertumbuhan kapang akan terkalahkan oleh bakteri karena difusi oksigen dalam substrat berkurang (Tanuwidjaja, 1975b ; LKN-LIPI, 1975a ; Gandjar, 1977).

Enzim ekstraselular yang diproduksi *Rhizopus* sp. adalah protease yang mampu menghidrolisis protein, lipase menghidrolisis lipid, amilase menghidrolisis karbohidrat, dan pektinase menghidrolisis pektin (Ilyas, et al., 1973; Arbianto, 1975 ; Mulyowidarso, 1988 ; Timotius & Farly, 1990).

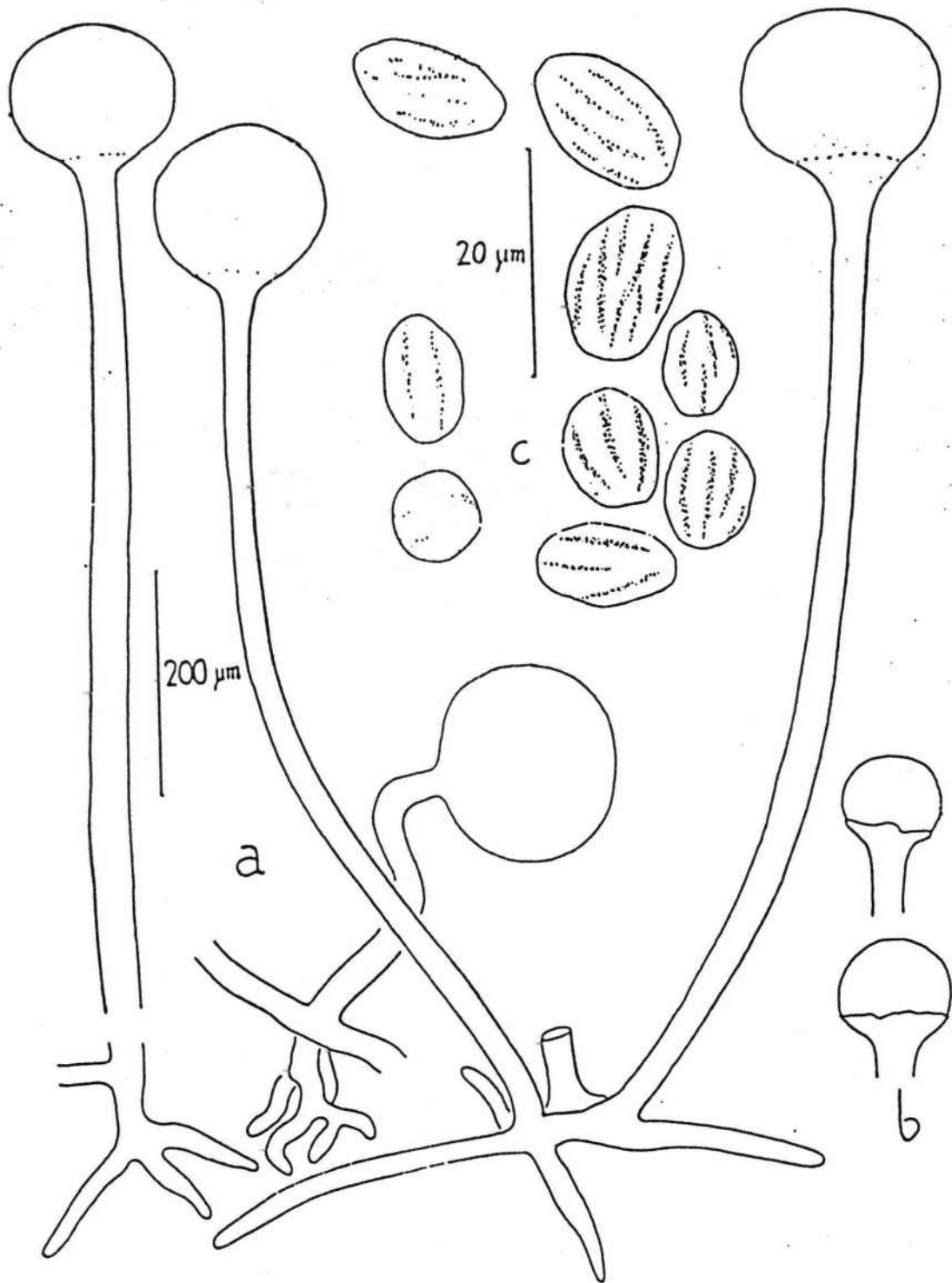




Gambar 2.1 : *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* UICC 116 pada PDA (30°C) (Ganjar, 1977)

Keterangan : a, b : 200 μm

c : 20 μm



Gambar 2.2 : *Rhizopus oryzae* UICC 128 pada PDA (30°C)
(Gandjar, 1977)

Keterangan : a, b : 200 μm

c : 20 μm

Kedua spesies *Rhizopus* tersebut mampu memproduksi enzim hidrolitik. *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* mampu memproduksi enzim protease yang tinggi, sedangkan *Rhizopus oryzae* mampu memproduksi enzim amilase yang tinggi (Ilyas, et al., 1973 ; Tanuwidjaja & Koesbianti, 1979 ; Timotius & Farly, 1990).

2.6 Perkembangan Teknologi Pembuatan Tempe

Teknologi pembuatan tempe seperti halnya teknologi makanan tradisional lainnya, pada mulanya berkembang tidak didasari teori ilmiah, namun berkembang secara turun temurun dan berubah karena pengalaman. Mereka mengajarkan secara lisan dan praktis di lapangan (Hermana & Karmin, 1996).

Teknologi pembuatan tempe di Indonesia sangat bervariasi dan belum ada standard secara nasional. Di lapangan dijumpai banyak variasi pembuatan tempe dan hampir setiap pengrajin mempunyai cara sendiri. Namun demikian ada hal-hal dasar yang diakui dan dianut oleh semua mengrajin tempe di Indonesia, yaitu biji kedele harus direndam semalam, dikupas kulitnya, dicuci bersih, dimasak, ditambah inokulum, dikemas dan diperam (Kasmijo, 1996 ; Astuti, 1996a ; Hermana & Karmini, 1996).

Teknologi pembuatan tempe sangat sederhana. Pada dasarnya tempe dibuat melalui tiga tahap proses, yaitu :

(1) proses hidrasi dan pengasaman biji kedele, yaitu proses perendaman biji kedele, (2) proses perebusan atau pengukusan biji kedele yang telah direndam dan dikupas kulitnya, dan (3) proses fermentasi biji kedele oleh kapang yang diinokulasikan. Tahap ini sering disebut tahap fermentasi tempe dan merupakan tahap utama dalam proses pembuatan tempe (Mulyowidarso, 1988).

Perendaman bertujuan untuk (1) menyerap air (hidrasi) untuk mempermudah penghilangan kulit, (2) mengeluarkan zat-zat dari dalam biji kedele yang menghambat pertumbuhan kapang, larut dalam air rendaman, dan (3) menurunkan pH biji kedele untuk memberi suasana yang tidak sesuai bagi bakteri pembusuk tanpa mengganggu pertumbuhan kapang, sehingga kesempatan kapang tumbuh lebih lama dan menjalin kualitas tempe yang baik (Mulyowidarso, 1988).

Sebelum biji kedele masuk tahap perebusan, biji kedele harus dikupas kulitnya dan dicuci bersih sampai tidak berlendir. Pengupasan kulit dari biji kedele ini harus dilakukan agar asam dan miselium kapang dapat menembus ke dalam keping biji kedele. Sedangkan pencucian bertujuan untuk menghilangkan bakteri dan mikroorganisme lain yang tumbuh selama perendaman, juga untuk membuang kelebihan asam dan lendir yang terproduksi selama perendaman (Hermana & Karmini, 1996)

Perebusan atau pengukusan bertujuan untuk memasak

biji kedele agar menjadi lunak sehingga dapat ditembus miselium kapang yang menyatukan biji kedele yang terpisah menjadi kompak atau dengan lainnya. Selain itu pemanasan juga berfungsi untuk mematikan bakteri-bakteri yang tumbuh selama proses perendaman (Mulyowidarso, 1988 ; Hermana & Karmini, 1996).

Inokulum merupakan bahan yang paling penting pada pembuatan tempe, karena inokulum adalah pembawa kapang yang akan melakukan proses fermentasi. Teknik penambahan inokulum yang dilakukan pengrajin tempe, yaitu : (1) inokulum ditaburkan pada kedele yang telah ditiriskan dan didinginkan, dan (2) inokulum ditambahkan pada kedele yang direndam air dan dibiarkan beberapa lama, kemudian ditiriskan (Hermana & Kamini, 1996).

Keping-keping biji kedele yang sudah dicampur dengan inokulum, diperam dalam kemasan yang dilubangi kecil-kecil, agar kapang hanya mendapat sedikit oksigen untuk mencegah sporulasi yang cepat. Pemeraman dimaksudkan untuk memberi kesempatan tumbuh kepada kapang. Suhu pertumbuhan kapang yang baik antara 20 - 37°C. Waktu pemeraman bervariasi dari 18 jam sampai 36 jam, tergantung jumlah dan jenis *Rhizopus* yang terkandung dalam inokulum (Hermana & Karmini, 1996).