# 3. HASIL PENELITIAN

## 3.1. Studi Literatur

### 3.1.1. Pengaruh Proses Pengolahan Tempe

Tempe segar tidak dimakan mentah-mentah, namun pertama-tama dimasak, seperti direbus, digoreng dalam minyak, atau menjadi berbagai macam makanan maupun sebagai bahan tambahan makanan dalam makanan formula (Vaidehi *et al*. dalam Nout dan Kiers, 2005). Namun, pengolahan dengan panas (penggorengan dan perebusan) yang dilakukan berlebihan dapat mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi, baik yang diharapkan maupun yang tidak. Penggunaan panas dalam proses pemasakan bahan pangan sangat berpengaruh pada nilai gizi bahan pangan. Pengaruh pemasakan pada tempe kedelai dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Proses Pemasakan Tempe Kedelai

| Perlakuan | Rerata Kadar air (%)[1] | Rerata Protein (%)[1] | Rerata Kadar Lemak (%)[1] |
|---|---|---|---|
| Segar / mentah | 64,89 | 18,445 | 11,4 |
| Rebus | 66,77 | 17,075 | 8,30 |
| Goreng | 44,78 | 14,835 | 28,38 |

Keterangan:
1: per 100 gram bahan
(Sundari *et al*., 2015)

Pemasakan dengan proses penggorengan secara signifikan menyebabkan penurunan kadar protein dan peningkatan kadar lemak karena protein rusak dengan suhu lebih dari 160°C. Perebusan juga menurunkan nilai gizi karena bahan pangan langsung terkena air rebusan sehingga menurunkan zat gizi terutama vitamin-vitamin larut air (seperti vitamin B kompleks dan vitamin C) dan juga protein (Sundari *et al*., 2015).

### 3.1.2. Manfaat Tempe untuk Pencernaan

Tingginya daya cerna tempe sudah diteliti selama perang dunia kedua saat para tahanan yang mengalami disentri dapat mencerna tempe lebih baik daripada kedelai. Hal ini berkaitan dengan degradasi makromolekul oleh enzim selama fermentasi tempe menjadi senyawa yang lebih kecil dan terlarut sehingga memperbaiki daya cerna tempe (Matsuo dalam Nout dan Kiers, 2005). Dalam penelitian yang dilakukan Kiers *et al*., (2000) daya cerna serealia dan kacang-kacangan meningkat selama pemasakan dan fermentasi (Tabel 2). Penelitian tersebut dilakukan dengan metode pencernaan *in vitro*. Setelah fermentasi, absorbsi dan daya cerna kedelai meningkat sehingga dapat memberi manfaat fisiologis jika terjadi kerusakan fungsi sistem pencernaan. Persentase solubilitas, daya serap, dan daya cerna biji kedelai mentah sampai menjadi tempe dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase Solubilitas, Daya Serap, dan Daya Cerna (*in vitro*) pada Kedelai dan Tempe Kedelai.

| Perlakuan | Solubilitas (% *fat-free dry matter*) | Daya Serap (%) | Daya Cerna (%) |
|---|---|---|---|
| Kedelai Mentah | 64,3 | 19,7 | 28,3 |
| Kedelai Direndam | 18,7 | 13,7 | 13,7 |
| Kedelai Dimasak | 7,0 | 4,8 | 22,3 |
| Difermentasi 575, 24 jam | 18,5 | 7,6 | 23,7 |
| Difermentasi 575, 48 jam | 20,2 | 9,5 | 26,1 |
| Difermentasi 582, 24 jam | 27,3 | 16,4 | 26,2 |
| Difermentasi 582, 48 jam | 23,1 | 14,0 | 27,2 |

Keterangan:
Solubilitas = persentase *defatted* sampel yang larut air
Daya serap = persentase *defatted* sampel yang dapat melalui membrane dialysis
Daya cerna = persentase *defatted* sampel yang dapat melalui membrane dialysis setelah proses degradasi enzimatis
(Kiers *et al*., 2000)

Berdasarkan tabel diatas, kelarutan atau solubilitas dan daya serap kedelai fermentasi (tempe) menunjukkan peningkatan, sedangkan daya cerna hanya menunjukkan sedikit peningkatan. Walaupun fermentasi kapang hanya

meningkatkan sedikit daya cerna kedelai yang sudah dimasak, namun tingkat bahan kering yang larut air (solubilitas) meningkat dengan drastis, yaitu dari 7 menjadi 18,5- 27,3%.

### 3.1.3. Manfaat Tempe sebagai Anti-diare

Tempe kedelai hasil fermentasi lebih diminati pasien yang menderita kerusakan saluran pencernaan. Kombinasi dari tingginya daya cerna dan nilai gizi membuat tempe penting untuk dikonsumsi seseorang yang mengalami kekurangan gizi dan atau diare akut, karena penderita memerlukan nutrisi yang mudah dicernanya. Sifat anti-diare pada tempe akan memperlengkapi tempe sebagai makanan ideal untuk pencegahan dan pengendalian malnutrisi dan diare, karena makanan tersebut memiliki nilai gizi tinggi, mudah dicerna, dapat diterima, dan dapat ditoleransi (Nout dan Kiers, 2005). Aktivitas anti-diare yang diobservasi dari penelitian- penelitian yang sudah ada menunjukkan bahwa tempe dapat bersifat anti-sekresi maupun absorptif (memiliki efek penyerapan) dalam usus halus maupun usus besar. Penelitian-penelitian yang menunjukkan efek tempe pada pasien penderita diare dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Penelitian Efek Tempe pada Bayi Penderita Diare

| Sumber | Objek Penelitian | Perlakuan | Periode | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|
| Kalavi *et al* dalam Roubos-van den Hil dan Nout, (2011) | Bayi umur 6-60 bulan | Bubur susu dan jagung (MYMP)<br>Bubur tempe dan jagung (TYMP) | 1 bulan | Durasi diare MYPD 4,6 hari, TYMP 0,7 hari |
| Mahmud *et al*., (1985) | Bayi dibawah 5 tahun dengan diare kronis | Formula berbasis tempe dan formula berbasis susu bayi. | Disuplementasikan selama diare | Durasi diare pada kelompok makanan campuran berbasis tempe 2,39 hari, formula berbasis susu 2,94 hari. |

Tabel 3. (lanjutan)

| Sumber | Objek Penelitian | Perlakuan | Periode | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|
| Partawirahardja dalam Roubos-van den Hil dan Nout, (2011) | Bayi 6-21 bulan dengan diare akut | Makanan formula tanpa tempe (A1), dengan tempe (A2), dengan bubuk tempe (A3), dan makanan buatan sendiri (A4) | Disuplementasikan selama diare | Durasi diare (dalam hari) A1 6,36, A2 4,83, A3 5,13, A4 5,83 |
| Soenarto *et al* dalam Roubos-van den Hil dan Nout, (2011) | Bayi 6-21 bulan dengan diare akut | Makanan formula berbasis tempe tradisional (TT), berbasis tempe industri (IT), bubuk kacang kedelai (IS) | Dimulai dari rumah sakit dan dilanjutkan di rumah sampai 90 hari; 2 bungkus formula setiap hari. | Durasi diare (dalam hari) TT 3,4, IT 3,5, IS 3,9. |

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa makanan yang diformulasikan dengan tempe menghasilkan durasi diare yang lebih singkat pada bayi penderita diare.

#### 3.1.3.1. Intervensi adhesi

*Enterotoxin Escherichia coli* (ETEC) memiliki kemampuan untuk menempel pada permukaan epitel usus karena bakteri ini memiliki fimbria atau faktor kolinisasi pada permukaannya sebagai perantara penempelan (Valvatne dalam Roubos-van den Hil, 2010a). Setelah ETEC telah menempel dekat dengan sel inang dalam usus halus, ETEC dapat menghasilkan enterotoksin yang akan mengikat reseptor spesifik permukaan sel epitel. Penelitian- penelitian pada Tabel 4 menunjukkan efek tempe terhadap intervensi adhesi ETEC pada dinding usus hewan (*in vitro* dan *in vivo*) dan sel epitel manusia (*in vitro*).

Tabel 4. Efek Tempe pada Infeksi *E. coli* pada Hewan dan Manusia

| Sumber | Objek Penelitian | Perlakuan | Mikroorganisme | Periode | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|---|
| Karmini *et al.* dalam Roubos-van den Hil dan Nout, (2011) | Kelinci jantan umur 6 minggu | Makanan formula berbahan tempe (TF); kacang kedelai (SF); susu (MF); dan tanpa protein (FO) | EPEC O125:K70 (B) | 2 minggu | Diare terjadi pada 36% kelinci dalam kelompok TF dan 50-64% pada kelompok lain. |
| Kiers *et al.*, (2002) | *Brush border membrane* (membrane yang ditutupi mikrovili) pada usus babi muda | Ekstrak tempe dengan *Rhizopus* yang berbeda. | ETEC K88 | - | Beberapa ektrak tempe mampu menghambat adhesi ETEC K88 |
| Kiers *et al.*, (2003) | Babi muda umur 4 minggu | Kedelai dimasak (CS), tempe (T) kedelai difermentasi *Bacillus* (BT), kedelai panggang (TS) | ETEC O149:K91:K88[ac] | 4 minggu | Kejadian diare CS 37%, T 33%, BT 38%, dan TS 46%. Diare hebat CS 1,9 hari, T 1,7 hari, BT 1,8 hari, dan TS 2,3 hari. Lama diare CS 5 hari, T 4,3 hari, BT 4,8 hari, dan TS 6,2 hari. |

Tabel 4. (lanjutan)

| Sumber | Objek Penelitian | Perlakuan | Mikroorganisme | Periode | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|---|
| Kiers *et al*., 2006 | Segmen usus halus babi muda | Kedelai di-autoclave, dimasak, dan difermentasi (tempe) | ETEC O149 : K91 : K88[ac] | - | Pada segmen terinfeksi ETEC, ekstrak tempe meminimalkan hilangnya cairan sehingga menjaga keseimbangan cairan selama infeksi. |
| Kiers el al., 2007 | Segmen usus halus babi muda | Tempe dicerna oleh enzim pencernaan kemudian di-ultrafiltrasi | O149:K91:K88[ac] | - | Fraksi larut dengan berat molekul tinggi (>5kDa) pada tempe dapat mencegah kehilangan cairan akibat induksi ETEC. |
| Roubos-van den Hil *et al*., (2009). | Sel *brush border* (membran yang ditutupi mikrovili) pada usus babi muda. Caco-2 sel epitel manusia | Kedelai mentah, direndam, dimasak, dan difermentasi (tempe) | ETEC K88 | - | Semua ekstrak sampel dapat menghambat adhesi ETEC pada sel *brush border*, dengan penghambatan tertinggi pada ekstrak tempe. Hanya ekstrak tempe yang dapat melindungi sel epitel Caco-2 dari adhesi ETEC K88. |

Tabel 4. (lanjutan)

| Sumber | Objek Penelitian | Perlakuan | Mikroorganisme | Periode | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|---|
| Roubos-van den Hil *et al.*, (2010c) | *Brush border membrane* (membran yang ditutupi mikrovili) pada usus babi muda | Ekstrak tempe dipanaskan, dihilangkan lemak, penambahan protease, dan ultrafiltrasi | ETEC K88 dan ETEC O149:K91 | - | Senyawa bioaktif pada tempe berupa karbohidrat, yaitu arabinosa. Senyawa ini terbentuk selama proses fermentasi oleh modifikasi enzimatis dan berasal dari rantai arabinan dan arabinogalaktan dari polisakarida pektin dinding sel kacang kedelai. |
| Roubos-van den Hil *et al.*, (2010d) | Sel *brush border* pada dinding usus babi muda | Ekstrak tempe kedelai, ekstrak tempe dari kacang-kacangan lain, dan ekstrak tempe dari serealia | Beberapa strain ETEC penyebab diare pada babi muda | - | Ekstrak tempe kedelai menghambat adhesi semua strain ETEC. Komponen bioaktif terbentuk selama proses fermentasi kacang-kacangan (tidak aktif pada tempe dari serealia). Kemampuan untuk membentuk komponen bioaktif tidak specifik untuk suatu mikroorganisme (Tempe kedelai yang diinokulasi kapang, *Bacillus sp.*, dan beberapa khamir dapat menghambat adhesi ETEC). |

Hasil penelitian-penelitian dalam Tabel 4 menunjukkan efek anti-diare terhadap *E. coli* bukan merupakan hasil dari senyawa antibakteri dalam ekstrak tempe, namun karena adanya sebuah interaksi antara senyawa ekstrak tempe dan bakteri sehingga bakteri kehilangan kemampuan adhesi terhadap sel-sel epitel usus halus (Roubos-van den Hil *et al*., 2009). Senyawa bioaktif dalam tempe kedelai berupa monosakarida arabinosa yang terbentuk selama proses fermentasi oleh enzim pendegradasi polisakarida dinding sel kedelai yang dihasilkan oleh kapang, maupun mikroorganisme lain penghasil enzim pendegradasi makromolekul Roubos-van den Hil *et al*., (2010c).

#### 3.1.3.2. Potensi Probiotik Tempe

Produk tempe menghasilkan sejumlah besar bakteri asam laktat dan *Bacillus*. Bakteri-bakteri ini dapat menjadi bakteri yang memberi efek probiotik sebagai mikroba kompetitor yang menempel pada reseptor usus, (Fujiwara *et al*. dalam Kiers, 2001) nutrisi atau mempengaruhi sistem imun (Yasui *et al*. dalam Kiers, 2001). Tempe yang ditambah *Lactobacillus fermentum* dapat dikatakan sebagai produk probiotik karena mengandung jumlah bakteri asam laktat probiotik (*Lactobacillus fermentum* ) sekitar 8 log CFU/g. Menurut Klaenhammer (2007), produk probiotik mengandung jumlah bakteri probiotik sebesar 8-9 log CFU/ml. Walaupun tempe normal memiliki jumlah bakteri asam laktat yang tinggi, yaitu sekitar 8 log CFU/g, tempe normal belum dapat disebut sebagai produk probiotik karena mungkin terdapat beberapa jenis bakteri asam laktat lain yang belum diketahui potensi probiotiknya. Selain itu, tempe sebagai makanan probiotik hanya berlaku sebelum tempe mengalami proses pemasakan, seperti penggorengan dan perebusan karena mikroorganisme probiotik akan mati setelah pemanasan (Kiers, 2001). Penelitian-penelitian mengenai oral bakterioterapi menggunakan probiotik sukses dilakukan pada babi dan manusia penderita diare akut (Kiers, 2001).

#### 3.1.3.3. Potensi Prebiotik Tempe

Prebiotik merupakan bahan makanan yang tidak dapat dicerna yang bermanfaat untuk menstimulasi pertumbuhan satu atau sejumlah bakteri dalam kolon sehingga dapat meningkatkan kesehatan pencernaan. Suatu bahan makanan dapat disebut sebagai prebiotik jika memenuhi persyaratan seperti, tidak terhidrolis atau terserap pada saluran pencernaan bagian atas, secara selektif dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri menguntungkan dalam kolon, dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen, dan secara sistemik dapat meningkatkan kesehatan (Gibson dan Roberfroid, 1995).

Tempe berguna sebagai suplemen bernutrisi dalam *oral rehydration therapy* (Sudigbia dalam Agranoff dalam Nout dan Kiers, 2005). Dalam penelitian Kuligowski *et al.*, (2013) tempe setelah pemasakan dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri pencernaan (mikroflora), terutama dari genus *Bifidobacterium* dan *E. coli* non-patogen. Pertumbuhan bakteri mikroflora yang berkolonisasi dalam saluran pencernaan tersebut dapat menciptakan kembali keseimbangan mikroflora sehingga menjadi salah satu mekanisme pencegahan diare dan meringankan gelaja diare.

#### 3.1.3.4. Efek Antibakteri Tempe

Penelitian-penelitian mengenai sifat anti-bakteri pada tempe dan *Rhizopus sp.*terhadap beberapa bakteri penyebab diare dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Penelitian Efek Anti-bakteri Ekstrak Tempe dan *Rhizopus sp*.

| Sumber | Bakteri Uji | Metode | Sampel uji | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|
| Affandi dan Mahmud (1985) | *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhi, Klebsiella pneumonia,* dan *Shigella flexneri.* | Spektrofoto-metri | Ekstrak tempe mentah, tempe direbus, tempe goreng | Ekstrak tempe mentah aktif menghambat semua bakteri uji, kecuali *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia.* Aktivitas antibakteri cenderung menurun saat tempe dipanaskan. |
| Kobayasi at al., 1992 | Gram positif: *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Streptococcus sp., Micrococcus luteus* Gram negatif: *E. coli* | Difusi kertas cakram dan turbidimetri | Senyawa anti-bakteri yang dipurifikasi dari *Rhizopus oligosporus* | Aktif terhadap bakteri gram positif. Berupa protein dengan berat molekul 5,5k dengan karakter mirip *systine*. Stabil rentang pH lebar dan pemanasan |
| Kiers *et al*., 2002 | *Bacillus stearothermophilus Baciluus subtilis Micrococcus luteus E. coli* | Difusi kertas cakram | Ekstrak tempe dengan inoculum *Rhizopus* yang berbeda. | Menghambat pertumbuhan *Bacillus stearothermophilus* dan *Bacillus subtilis.* Anti-bakteri tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare seperti *E. coli* (ETEC), namun dapat menhambat adhesi ETEC pada eritrosit dan membran *brush border* babi muda (*in vitro*) |

Tabel 5. (lanjutan)

| Sumber | Bakteri Uji | Metode | Sampel uji | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|
| Roubos-van den Hil *et al*., (2009). | ETEC K88 | Spektrofo-tometri | Ekstrak kedelai metah, direndam, dimasak, dan tempe, | Semua ekstrak tidak menghambat pertumbuhan ETEC K88. (Tidak menunjukkan efek anti-bakteri) |
| Roubos-van den Hil *et al*.,(2010b) | *Bacillus cereus* dan sporanya. | Spektrofo-tometri | Ekstrak tempe *R. microsprorus* | Aktivitas anti-bakteri ektrak tempe terhadap sel *B. cereus* dan sporanya dihasilkan selama fermentasi tempe dengan mekanisme penargetan membran bakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak tempe ini bersifat sensitif terhadap panas, pH rendah, dan protease. |
| Fadahunsi *et al*., (2013) | *E.coli, Salmonella typhi, S.aureus, B.subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonia, Proteus mirabilis* dan *Corybacteria diphtheria* | Difusi sumuran | Metabolit *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 | Metabolit *Rhizopus oligosporus* menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji dan aktivitas penghambatannya efektif pada suhu rendah untuk periode lebih panjang. |
| Mambang *et al*., (2014) | *Bacillus substilis* dan *Staphylococcus aureus* | Difusi kertas cakram | Ekstrak tempe dalam pelarut etanol 96%, n-heksana dan etil asetat | Ekstrak tempe dalam etil asetat menunjukkan daya hambat terbesar, diikuti oleh ekstrak tempe dalam etanol. Ekstrak tempe dalam pelarut n-heksana tidak memiliki daya hambat. |

Berdasarkan penelitian tersebut, aktivitas anti-bakteri dari tempe hanya aktif pada bakteri gram positif dan merupakan sebuah komponen protein karena sensitif terhadap panas, pH rendah, dan protease Roubos-van den Hil *et al*.,(2010b). Senyawa ini dihasilkan setelah proses fermentasi kedelai menjadi tempe sehingga *Rhizopus sp.* sebagai starter tempe secara tidak langsung dapat menjadi penyebab keberadaan anti-bakteri pada tempe karena aktivitas enzim pendegradasi protein kedelai. Selain aktivitas enzim, hasil metabolit *Rhizopus sp* juga dapat menghasilkan senyawa anti-bakteri yang lebih tahan panas dan rentang pH luas.

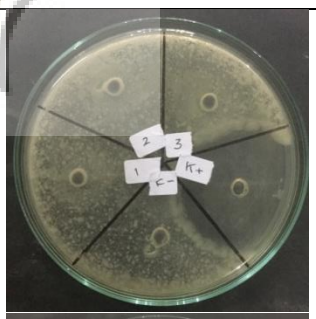
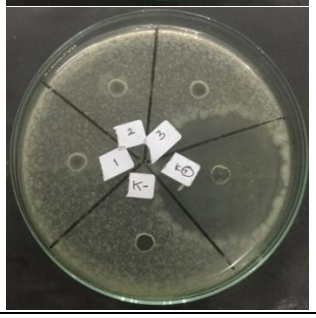
## 3.2. Analisa Laboratorium

### 3.2.1. Pengaruh Suhu Penyeduhan terhadap Aktivitas Antibakteri

#### 3.2.1.1. Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran

Pengamatan hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode sumuran dilakukan dengan melihat diameter zona bening. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Zona Bening Pengujian Aktivitas Antibakteri

| Bakteri Uji | Perlakuan | | | Gambar |
|---|---|---|---|---|
| | Suhu Air 50°C | Kontrol negatif | Kontrol positif | |
| *Escherichia coli* | Tidak ada zona bening | Tidak ada zona bening | 3,5 cm |  |
| *Bacillus cereus* | Tidak ada zona bening | Tidak ada zona bening | 3,5 cm |  |

Berdasarkan hasil pengujian dari Tabel 6, dapat dilihat bahwa air seduhan tempe dengan perlakuan suhu perendaman 50°C tidak menghasilkan zona bening, baik pada bakteri uji *Bacillus cereus* maupun *Escherichia coli* sehingga penelitian dengan metode ini tidak dapat dianalisa lebih lanjut. Zona bening yang terbentuk hanya didapati pada kontrol positif sebesar 3,5cm pada kedua bakteri uji.

### 3.2.1.2. Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Turbidimetri

Dengan perlakuan suhu penyeduhan yang berbeda, didapatkan hasil persentase aktivitas antibakteri air seduhan tempe pada inkubasi menit ke-30, 60, dan 90. Hasil persentase aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 7 dan Gambar 3. Nilai pH air seduhan tempe selama perendaman dapat dilihat pada Tabel 8. Nilai pH tempe yang diukur sebelum perendaman berkisar antara 6- 6,7.

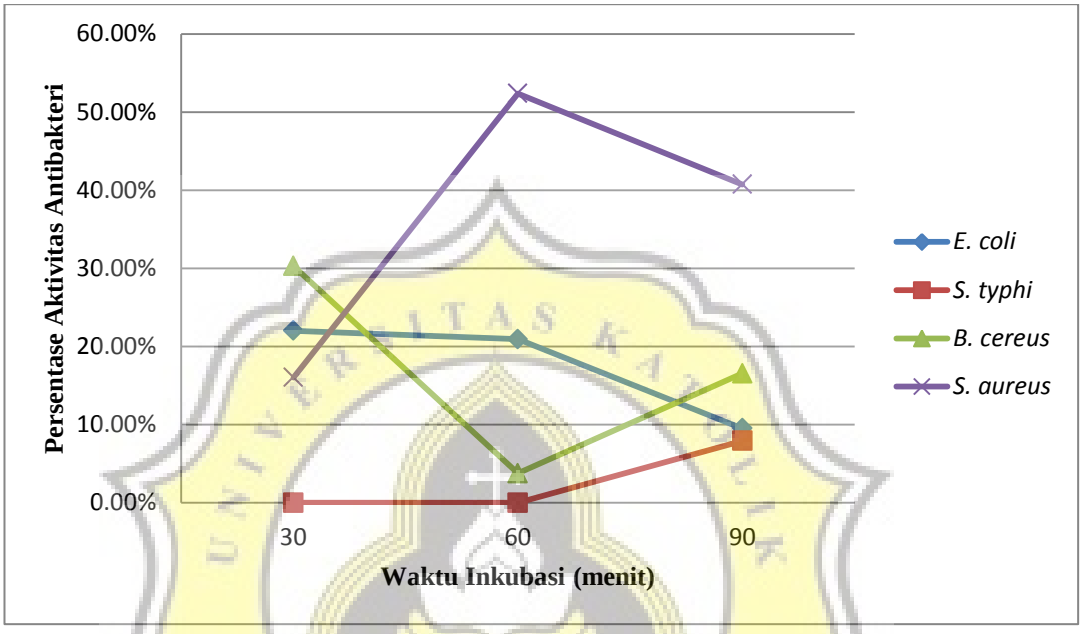
Tabel 7. Persentase Aktivitas Antibakteri terhadap Perlakuan Suhu Air

| Bakteri uji | Waktu inkubasi | Kontrol positif | Suhu Awal Air | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 40°C | 50°C | 60°C |
| *Staphylococcus aureus* | 30 menit | - | 16.04% | - | - |
| *Escherichia coli* | | 36% | 22.02% | 15.65% | - |
| *Bacillus cereus* | | 18% | 30.30% | 16.38% | - |
| *Salmonella typhi* | | - | - | - | - |
| *Staphylococcus aureus* | 60 menit | 42% | 52.38% | - | 6.67% |
| *Escherichia coli* | | 69% | 20.93% | - | - |
| *Bacillus cereus* | | 76% | 3.76% | - | - |
| *Salmonella typhi* | | 13% | - | - | - |
| *Staphylococcus aureus* | 90 menit | 83% | 40.73% | - | 10.18% |
| *Escherichia coli* | | 85% | 9.52% | 0.58% | 2.22% |
| *Bacillus cereus* | | 89% | 16.55% | 1.83% | - |
| *Salmonella typhi* | | 80% | 7.92% | - | - |

Keterangan:
( - ) : Tidak menunjukkan aktivitas antibakteri

Berdasarkan data pada Tabel 7, suhu perendaman 40°C menunjukkan persentase aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan suhu perendaman 50°C, dan 60°C. Persentase aktivitas antibakteri paling kecil pada suhu perendaman 40°C didapati pada bakteri uji *Salmonella typhi* pada waktu inkubasi 90 menit, yaitu 7,

92%, dengan hasil pada waktu inkubasi 30 menit dan 60 menit tidak menunjukkan aktivitas penghambatan. Sedangkan persentase aktivitas antibakteri paling besar pada suhu perendaman 40°C didapati pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* pada waktu inkubasi ke-60 menit, yaitu 52,38%. Persentase aktivitas antibakteri kontrol semakin meningkat seiring waktu inkubasi.




Gambar 3. Aktivitas Antibakteri pada Suhu Awal 40°C

Gambar 3 diatas menunjukkan persentase aktivitas antibakteri air seduhan tempe dengan suhu perendaman 40°C pada keempat bakteri uji selama inkubasi 90 menit inkubasi. Berdasarkan grafik tersebut, dapat dilihat bahwa aktivitas antibakteri paling tinggi pada waktu inkubasi ke- 30 menit adalah pada bakteri *B. cereus*, diikuti *E.coli*, dan *S. aureus*. Pada waktu inkubasi ke- 60 menit, terjadi kenaikkan aktivitas antibakteri yang tertinggi pada *S. aureus*, namun terjadi penurunan aktivitas antibakteri pada *E. coli* dan diikuti penurunan yang besar pada *B. cereus*. Pada menit ke-90, terjadi penurunan aktivitas antibakteri pada *S. aureus* dan *E. coli*, namun aktivitas antibakteri pada *S.aureus* tetap paling tinggi, diikuti oleh *B. cereus*, *E.coli*, dan kemudian *S. typhi*. Pada menit ke-30 dan 60, *S.typhi* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

Tabel 8. Nilai pH dan Suhu Akhir Air Seduhan Tempe selama Perendaman

| Waktu Perendaman (menit) | Suhu awal 40°C | | Suhu awal 50°C | | Suhu awal 60°C | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | pH | Suhu Akhir (°C) | pH | Suhu Akhir (°C) | pH | Suhu Akhir (°C) |
| 0 | 6,42 | 37 | 6,29 | 41 | 6,42 | 55 |
| 20 | 5,91 | 34 | 5,77 | 37 | 5,97 | 45 |
| 40 | 5,69 | 34 | 5,62 | 36 | 5,66 | 39 |
| 60 | 5,6 | 33 | 5,56 | 35 | 5,53 | 37 |

Pada Tabel 8 tersebut, dapat dilihat bahwa terjadi penurunan nilai pH dan suhu air seduhan tempe seiring perendaman selama 60 menit, dimana penurunan pH atar pelakuan tidak jauh berbeda. Penurunan nilai pH terbesar didapati pada penyeduhan suhu awal 60°C, yaitu dari pH 6,42 menjadi 5,53. Nilai pH 5,53 tersebut merupakan nilai pH terendah, sedangkan nilai pH tertinggi pada akhir waktu perendaman adalah pada perlakuan suhu 40°C dengan suhu akhir 33°C, yaitu pH 5,6.

### 3.2.2. Pengaruh Waktu Penyeduhan terhadap Aktivitas Antibakteri

Berikut ini merupakan hasil persentase total aktivitas antibakteri pada perlakuan suhu perendaman 40°C konstan (Tabel 9) dan suhu awal 40°C (Tabel 10) dengan waktu perendaman 30, 60 dan 90 menit. Hasil pengukuran pH air seduhan selama perendaman dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 9. Persentase Aktivitas Antibakteri dengan Perlakuan Suhu Konstan 40°C dengan Waktu Perendaman yang Berbeda

| Bakteri Uji | Waktu Inkubasi | Kontrol Positif | Waktu Perendaman | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 30 menit | 60 menit | 90 menit |
| *Staphylococcus aureus* | 30 menit | - | 11.14 % | - | - |
| *Escherichia coli* | | 10% | 10.51 % | 11.45 % | 10.51 % |
| *Bacillus cereus* | | 12% | 1.27 % | - | - |
| *Salmonella typhi* | | 24% | 8.26 % | - | - |
| *Staphylococcus aureus* | 60 menit | 74% | 24.05 % | - | - |
| *Escherichia coli* | | 54% | 15.37 % | 11.48 % | 14.18 % |
| *Bacillus cereus* | | 61% | 2.61 % | - | - |
| *Salmonella typhi* | | 62% | 11.15 % | - | - |
| *Staphylococcus aureus* | 90 menit | 87% | 47.61% | 7.10 % | - |
| *Escherichia coli* | | 89% | 6.45 % | 2.46 % | 9.55 % |
| *Bacillus cereus* | | 95% | 29.64 % | 6.98 % | 10.03 % |
| *Salmonella typhi* | | 94% | - | 19.66 % | 1.12 % |

Keterangan:
( - ) : Tidak menunjukkan aktivitas antibakteri

Berdasarkan data pada Tabel 9, perlakuan suhu konstan 40°C dengan waktu perendaman 30 menit menunjukkan persentase aktivitas antibakteri yang jauh lebih besar dibandingkan dengan waktu perendaman 60 dan 90 menit. Persentase aktivitas antibakteri paling besar didapati pada waktu inkubasi 90 menit dengan waktu perendaman 30. Persentase terbesar dari perlakuan didapati pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*, yaitu 47, 61% dan 29,64% berturut-turut. Kontrol positif menunjukkan presentase aktivitas antibakteri yang semakin besar seiring dengan waktu inkubasi.

Tabel 10. Persentase Aktivitas Antibakteri dengan Perlakuan Suhu Awal 40°C dan Waktu Perendaman yang Berbeda

| Bakteri Uji | Waktu Inkubasi | Kontrol Positif | Waktu Perendaman | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 30 menit | 60 menit | 90 menit |
| *Staphylococcus aureus* | 30 menit | - | - | - | - |
| *Escherichia coli* | | 10% | 7.79 % | - | - |
| *Bacillus cereus* | | 12% | - | - | - |
| *Salmonella typhi* | | 24% | - | - | - |
| *Staphylococcus aureus* | 60 menit | 74% | 25.36 % | - | - |
| *Escherichia coli* | | 54% | 7.91 % | - | - |
| *Bacillus cereus* | | 61% | - | - | - |
| *Salmonella typhi* | | 62% | - | - | - |
| *Staphylococcus aureus* | 90 menit | 87% | 20.41 % | 17.56 % | 0.13 % |
| *Escherichia coli* | | 89% | 0.92 % | - | - |
| *Bacillus cereus* | | 95% | 10.66 % | - | - |
| *Salmonella typhi* | | 94% | 23.70 % | 10.17 % | 20.70 % |

Keterangan:
( - ) : Tidak menunjukkan aktivitas antibakteri

Pada Tabel 10, aktivitas antibakteri didapati pada air seduhan tempe dengan perlakuan suhu awal 40°C selama perendaman 30 menit. Pada perlakuan waktu perendaman 60 dan 90 menit tidak didapati aktivitas antibakteri, kecuali pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan persentase aktivitas antibakteri lebih kecil dibanding perendaman 30 menit. Persentase aktivitas antibakteri paling besar pada perendaman 30 menit didapati pada waktu inkubasi 60 menit, yaitu 25,36% pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*.

Tabel 11. Nilai pH Air Seduhan Tempe selama Perendaman

| Waktu Perendaman (menit) | Nilai pH | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | A30 | A60 | A90 | B30 | B60 | B90 |
| 0 | 6,70 | 6,66 | 6,68 | 6,30 | 6,32 | 6,24 |
| 30 | 6,04 | 6,00 | 6,13 | 5,90 | 5,92 | 5,89 |
| 60 | - | 5,68 | 5,70 | - | 5,80 | 5,76 |
| 90 | - | - | 5,64 | - | - | 5,66 |

Keterangan:
A30: Perendaman suhu konstan 40°C selama 30 menit
A60: Perendaman suhu konstan 40°C selama 60 menit
A90: Perendaman suhu konstan 40°C selama 90 menit
B30: Perendaman suhu awal 40°C selama 30 menit
B60: Perendaman suhu awal 40°C selama 60 menit
B90: Perendaman suhu awal 40°C selama 90 menit
( - ) : Tidak dilakukan pengukuran pH

Berdasarkan Tabel 11, dapat dilihat nilai pH air seduhan tempe menurun pada semua perlakuan suhu seiring dengan waktu perendaman, baik perlakuan suhu perendaman konstan 40°C dan perlakuan suhu awal 40°C. Penurunan pH perlakuan suhu konstan (A) didapati sedikit lebih besar dari pada perlakuan suhu awal (B). pH terendah didapati pada perlakuan perendaman terlama (90 menit), yaitu 5,64 pada perlakuan A dan 5,66 pada perlakuan B.