

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tempe

Tempe adalah makanan fermentasi khas Indonesia yang umumnya dibuat dari kedelai. Dalam proses ini, biji kedelai yang sudah direbus dan dikupas dicampur dengan jamur *Rhizopus* sp., proses peragian dan jamur tumbuh selama sekitar dua hari. Jamur ini akan menyatukan biji-biji kedelai menjadi padat dan membentuk struktur khas tempe. Tempe dikenal sebagai makanan sehat karena mengandung protein tinggi, vitamin, mineral, dan senyawa antioksidan yang baik untuk tubuh (Romulo & Surya, 2021).

Proses fermentasi juga membuat zat gizi dalam tempe menjadi lebih mudah dicerna, misalnya protein dipecah oleh enzim jamur menjadi bentuk yang lebih sederhana sehingga mudah diserap tubuh. Tempe memiliki rasa khas yang gurih dan sedikit asam, serta aroma yang unik karena aktivitas jamur (Teoh *et al.*, 2024). Beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa tempe mengandung zat yang dapat membantu mencegah penyakit, seperti isoflavon yang bersifat antioksidan dan mendukung kesehatan jantung serta tulang (Nuriyah *et al.*, 2025).

Seiring meningkatnya minat masyarakat pada makanan sehat dan lokal, berbagai bahan selain kedelai mulai dicoba sebagai bahan dasar tempe. Misalnya, tempe dari kacang tanah, kacang hijau, hingga kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.). inovasi ini tidak hanya untuk variasi rasa dan gizi, tapi juga agar dapat menggunakan bahan lokal yang mudah didapat di daerah masing-masing (Sari & Mardiyah, 2020).

Salah satu contoh inovasi adalah tempe berbahan dasar kacang merah. Kacang merah memiliki protein cukup tinggi, serta kaya akan senyawa antioksidan yang baik untuk tubuh. Akan tetapi, tekstur kacang merah berbeda dengan kedelai sehingga karakteristik tempe yang dihasilkan dapat berbeda. Oleh sebab itu, perlu dicari cara agar fermentasinya tetap berjalan baik, misalnya dengan menambahkan bahan lain seperti pati tapioka. Penambahan pati tapioka ini diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan jamur dan menghasilkan tempe yang memiliki tekstur lebih baik serta layak dikonsumsi (Kusnandar *et al.*, 2020; Syahadi *et al.*, 2022). Dalam penelitian

yang akan dilakukan, variasi takaran pati tapioka digunakan sebagai bahan tambahan untuk mendukung fermentasi kacang merah, guna menghasilkan tempe dengan pertumbuhan kapang yang optimal dan mutu yang baik.

2.2 Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) merupakan tumbuhan semusim dari famili Fabaceae (suku polong-polongan) yang dikenal luas di Indonesia dan di seluruh dunia sebagai salah satu sumber pangan penting (Rodriguez *et al.*, 2022). Tanaman ini tumbuh dengan cara merambat atau tegak, dan umumnya dibudidayakan di lahan kering dengan iklim tropis hingga subtropis. Kacang merah juga memiliki kemampuan adaptasi yang baik di berbagai agroekosistem, mulai dari dataran tinggi hingga rendah. Tanaman ini berasal dari daerah beriklim tropis kering, khususnya wilayah Meksiko dan Amerika Tengah, yang diyakini sebagai pusat domestikasi utama kacang merah. Berdasarkan bukti genetik dan sejarah budidaya, *Phaseolus vulgaris* L. memiliki dua pusat domestikasi, yaitu di Mesoamerika dan Andes, sebelum akhirnya menyebar ke berbagai negara termasuk Indonesia (Frascarelli *et al.*, 2023).

Indonesia memiliki beberapa varietas kacang merah yang dibedakan berdasarkan ukuran dan warna biji, yaitu kacang merah besar yang berciri biji besar berwarna merah tua mengilap, kacang merah kecil dengan biji lebih kecil berwarna agak keunguan, kacang hitam dengan biji berwarna hitam pekat, serta kacang pinto dengan biji cokelat muda bercorak gelap. Berbagai varietas ini telah menjadi objek penelitian dalam pemuliaan tanaman dan pelestarian sifat-sifat unggul, seperti ketahanan terhadap kekeringan dan kandungan gizi. Upaya tersebut penting untuk menjaga keanekaragaman genetik sebagai dasar pengembangan varietas baru yang lebih adaptif terhadap perubahan lingkungan (Gill-Langarica *et al.*, 2011).

Secara taksonomi, kacang merah diklasifikasikan sebagai berikut: (Saleem *et al.*, 2016)

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida

Sub kelas : Rosidae
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Genus : *Phaseolus*
Spesies : *Phaseolus vulgaris* L.

Nama ilmiah *Phaseolus vulgaris* L. diberikan oleh Carl Linnaeus pada tahun 1753 dalam bukunya yang terkenal, 'Species Plantarum', yang menjadi dasar sistem penamaan ilmiah tumbuhan yang digunakan hingga kini.



Gambar 2. 1 Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Sumber: Rignanese (2007)

2.2.1 Morfologi Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) merupakan tanaman semusim yang dapat tumbuh tegak maupun merambat. Tinggi tanaman ini bervariasi tergantung genotipenya, dengan kisaran antara 25,7 cm hingga 56,3 cm (Yohannes *et al.*, 2020). Tanaman ini memiliki sistem perakaran tunggang dengan cabang akar lateral, serta bintil-bintil akar (nodula) yang berperan penting dalam fiksasi nitrogen melalui simbiosis dengan bakteri *Rhizobium* (Athul *et al.*, 2022). Selain itu, batangnya cenderung pendek dan berbentuk silindris. Daunnya majemuk trifoliat, terdiri dari tiga anak daun yang helaianya berbentuk jorong segitiga atau bulat telur lebar. Permukaan anak daun ditutupi bulu-bulu halus, memberikan tekstur sedikit berbulu saat disentuh. Ukuran daun bervariasi, dengan panjang 4-16 cm dan lebar 2,5-11 cm. Anak daun lateral umumnya tidak simetris, dengan pangkal daun berbentuk membulat atau runcing lebar, tepi daun rata, dan ujungnya meruncing tajam. Tanaman ini juga memiliki stipula kecil berbentuk lanset, menyerupai ujung pisau, dengan ukuran sekitar 4 mm (Delin & Thulin, 2010).

Tandan bunganya tumbuh lebih pendek dari daun, biasanya muncul di bagian atas tangkai utama. Setiap bunga memiliki brakteol berbentuk bulat telur yang ukurannya setara atau sedikit lebih panjang dari kelopak, dan tetap melekat (persisten) meskipun bunga telah mekar. Kelopak bunga berbentuk seperti cangkir dengan ukuran sekitar 3-4 mm dan bagian atas yang berlekuk. Mahkota bunga bisa berwarna putih, kuning, ungu, atau merah. Kelopak bunga (sepal) berukuran sekitar 1 cm dan ujungnya melintir seperti pilinan. Ovarium (bakal buah) tertutup oleh bulu-bulu halus (Langran *et al.*, 2010).

Buah kacang merah berupa polong (*legum*) berbentuk lonjong dan sedikit melengkung. Ukurannya berkisar antara panjang 10-15 cm dan lebar 1-1,5 cm. Polong tampak menggelembung, tidak berbulu, dan memiliki ujung menyerupai paruh. Di dalamnya terdapat 4-10 biji dengan ukuran berkisar antara 0,9-2 cm panjang dan 0,3-1,2 cm lebar. Biji kacang merah umumnya berbentuk seperti ginjal (*reniform*), namun beberapa varietas lokal memiliki bentuk lebih memanjang dan meruncing hingga menyerupai bilah pedang (*ensiform*). Warna bijinya bervariasi, seperti merah tua, merah muda keunguan, cokelat, hingga corak belang. Tanaman ini biasanya berbunga pada bulan April hingga Juli di Indonesia (Langran *et al.*, 2010).

2.2.2 Kandungan Gizi dan Manfaat Kacang Merah

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang memiliki nilai gizi tinggi dan banyak dimanfaatkan sebagai sumber protein nabati. Berdasarkan Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI) dari Kementerian Kesehatan RI, setiap 100 g kacang merah kering mengandung 314 kkal energi, sehingga berpotensi sebagai sumber energi alternatif dalam menu sehari-hari (Umami *et al.*, 2021). Kacang merah kering juga mengandung 22,1 g protein, menjadikannya bahan baku yang sangat baik untuk produk fermentasi seperti tempe. Kandungan protein ini berperan penting dalam proses pertumbuhan dan perbaikan jaringan tubuh, serta berfungsi sebagai substrat fermentasi bagi mikroorganisme seperti *Rhizopus* sp. (Rodriguez *et al.*, 2022; Sandoval *et al.*, 2024). Protein yang tinggi mendukung penggunaan kacang merah sebagai alternatif pengganti kedelai dalam produksi tempe.

Kacang merah juga mengandung 56,2 g karbohidrat dan 1,1 g lemak, sehingga berpotensi sebagai sumber energi yang sehat dan rendah lemak. Kandungan serat pangan sebesar 4,0 g juga bermanfaat dalam menjaga kesehatan pencernaan serta membantu mencegah penyakit degeneratif seperti kolesterol tinggi dan diabetes (Umami *et al.*, 2021). Kombinasi kandungan gizi tersebut menjadikan kacang merah sebagai bahan pangan yang sesuai untuk pola makan sehat dan rendah lemak. Kandungan mikronutrien kacang merah kering mengandung 10,3 mg zat besi yang berperan penting dalam pembentukan hemoglobin dan pencegahan anemia. Mineral lain yang terkandung dalam kacang merah meliputi kalsium (502 mg), fosfor (429 mg), kalium (1.265,5 mg), seng (2,6 mg), dan tembaga (0,65 mg) serta vitamin B kompleks seperti tiamin (0,40 mg), riboflavin (0,72 mg), dan niasin (2,2 mg) yang berperan penting dalam metabolisme tubuh (Umami *et al.*, 2021).

Konsumsi kacang merah secara rutin dalam jumlah sesuai Angka Kecukupan Gizi (AKG) harian dapat memberikan berbagai manfaat, di antaranya:

1. Zat besi : mencegah anemia dan mendukung fungsi otak serta daya tahan tubuh.
2. Riboflavin (Vitamin B2): memelihara kesehatan kulit, mata, dan sistem saraf.
3. Kalsium dan fosfor: memperkuat tulang dan gigi, serta menunjang metabolisme energi.
4. Kalium: mengatur tekanan darah dan mencegah kram otot.
5. Tembaga dan seng: menjaga sistem imun, mempercepat penyembuhan luka, dan menjaga kesehatan kulit serta fungsi otak.
6. Protein: membangun dan memperbaiki jaringan tubuh, termasuk otot, hormon, dan enzim.
7. Vitamin B1 dan B3: mendukung metabolisme energi, serta menjaga kestabilan suasana hati.
8. Serat: melancarkan pencernaan, menurunkan kadar kolesterol dan gula darah, serta mencegah kanker usus besar (Alahmari, 2024; Rodriguez *et al.*, 2022).

Dengan kandungan gizi yang lengkap dan manfaatnya yang banyak, kacang merah memiliki potensi besar sebagai bahan pangan fungsional, terutama dalam inovasi produk fermentasi seperti tempe kacang merah.

2.3 Fermentasi Tempe

Fermentasi merupakan salah satu bentuk bioteknologi konvensional yang telah digunakan secara turun-temurun dalam pengolahan pangan tradisional di Indonesia. Salah satu contohnya adalah pembuatan tempe, yang melibatkan mikroorganisme dari genus *Rhizopus* untuk mengubah bahan dasar seperti kedelai atau kacang merah menjadi produk fermentasi yang kaya gizi dan lebih mudah dicerna. Bioteknologi fermentasi ini memanfaatkan kemampuan mikroba untuk menghasilkan enzim yang dapat memecah senyawa kompleks dalam bahan makanan, sehingga menghasilkan perubahan tekstur, aroma, rasa, dan nilai (Kristiadi & Lunggani, 2022; Sari *et al.*, 2024)

Fermentasi tempe melibatkan mikroorganisme yang bekerja secara aerob (membutuhkan oksigen) dan tumbuh membentuk miselium yang menyatukan biji-bijian menjadi padat. Proses ini melibatkan aktivitas enzimatik dari *Rhizopus* sp. seperti protease yang memecah protein menjadi asam amino, dan amilase yang mengubah pati tapioka menjadi gula sederhana. Hasil fermentasi ini tidak hanya meningkatkan nilai gizi, tetapi juga menciptakan cita rasa khas tempe yang disukai masyarakat (Karmini *et al.*, 2012).

Fermentasi tempe termasuk fermentasi padat (*solid-state fermentation*) karena substrat yang digunakan tidak berbentuk cair, melainkan padatan seperti kacang-kacangan (Sudaryatiningsih & Pambudi, 2024). Proses ini biasanya berlangsung selama 24–48 jam pada suhu ruang (30–37 °C) dengan kelembapan tinggi (Astuti *et al.*, 2000). Perubahan pH juga terjadi selama fermentasi akibat aktivitas mikroorganisme, terutama *Rhizopus* sp. (Ishartani *et al.*, 2021). Faktor lingkungan seperti suhu, kadar air, oksigen, pH, dan jenis substrat sangat mempengaruhi keberhasilan fermentasi. Kondisi terlalu kering dapat menghambat pertumbuhan miselium *Rhizopus*, sedangkan kondisi yang terlalu lembap dapat memicu pertumbuhan lain yang tidak (Sudaryatiningsih & Pambudi, 2024). Pemilihan bahan

baku, kontrol lingkungan fermentasi, serta peran mikroba sangat penting dalam menghasilkan proses bioteknologi tempe yang efisien dan berkualitas.

Penelitian yang dilaksanakan menerapkan prinsip bioteknologi fermentasi untuk mengkaji pengaruh penambahan pati tapioka terhadap proses fermentasi tempe berbahan dasar kacang merah. Penambahan bahan berpati dapat mendukung pertumbuhan kapang, meningkatkan aktivitas enzim, dan menghasilkan tempe dengan tekstur serta mutu yang lebih baik. Pendekatan bioteknologi ini tidak hanya mempertahankan produk pangan tradisional, tetapi juga menjadi dasar untuk mengembangkan inovasi tempe berbasis pangan lokal.

2.4 *Rhizopus* sp. sebagai Agen Fermentasi

Rhizopus sp. merupakan jenis kapang (jamur mikroskopis) dari divisi Zygomycota yang berperan penting dalam proses fermentasi tempe. Kapang ini tumbuh membentuk miselium putih kapas yang menyatukan substrat seperti kedelai atau kacang merah menjadi padat dan bertekstur khas. Dalam fermentasi tempe, *Rhizopus* sp. tidak hanya berfungsi sebagai agen penyatu, tetapi juga menghasilkan berbagai enzim seperti amilase, protease, dan lipase yang memecah senyawa kompleks menjadi bentuk sederhana yang mudah diserap tubuh (Rizal *et al.*, 2022).

Secara taksonomi, *Rhizopus* sp. diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Fungi

Divisi : Zygomycota

Ordo: Mucorales

Famili : Mucoraceae

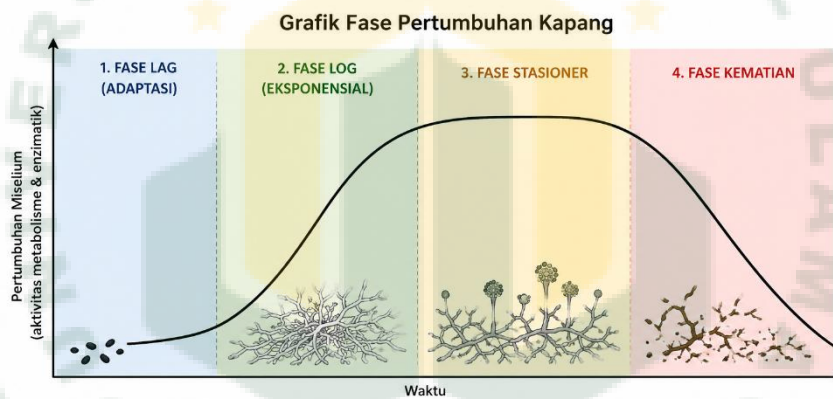
Genus : *Rhizopus*

Spesies : *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae* (Nout & Kiers, 2005).

Morfologi koloni *Rhizopus* sp. berbentuk kapas putih keabu-abuan, dengan sporangiofor bercabang dan ujungnya membentuk sporangium bulat. Sporangium ini berisi spora aseksual yang menyebar ke substrat baru. Suhu dan kelembapan sangat mempengaruhi pertumbuhan miselium, di mana suhu optimum berkisar antara 30-37°C, dengan kelembapan tinggi diperlukan untuk membentuk miselium yang

kompak (Yarlina *et al.*, 2023). Dalam proses fermentasi, *Rhizopus* mengalami empat fase pertumbuhan:

1. Fase lag (adaptasi): spora mulai menyesuaikan diri dengan lingkungan substrat. Belum terjadi pertumbuhan nyata, namun sintesis enzim awal dimulai.
2. Fase log (eksponensial): pertumbuhan miselium cepat, aktivitas metabolisme dan enzimatis sangat tinggi.
3. Fase stasioner: nutrisi mulai menipis, pertumbuhan melambat, dan aktivitas fermentasi mulai menurun.
4. Fase kematian: kapang mulai mati, miselium mengering, dan fermentasi berhenti (Pagarra, 2009). Keempat fase pertumbuhan tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan *Rhizopus* sp. mengikuti pola grafik pertumbuhan mikroorganisme, yang dapat diilustrasikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Grafik Fase Pertumbuhan Kapang

Rhizopus sp. menghasilkan enzim-enzim penting yang memicu pertumbuhan pada substrat selama fermentasi. Amilase memecah pati tapioka menjadi gula sederhana seperti glukosa dan maltosa, yang menjadi energi bagi kapang. Protease menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino, meningkatkan nilai gizi tempe dan menciptakan rasa gurih khas fermentasi. Lipase memecah lemak menjadi asam lemak bebas dan gliserol, membantu pelunakan bahan dan aroma tempe (Rizal *et al.*, 2022).

Aktivitas enzim tertinggi terjadi pada fase log, saat metabolisme kapang berlangsung maksimal. Setelah memasuki fase stasioner, aktivitas ini mulai menurun.

Penambahan substrat kaya pati seperti tapioka dapat mendukung kerja enzim amilase karena memperbanyak sumber karbohidrat, sehingga fermentasi berjalan lebih optimal, (Soccol *et al.*, 1994). Oleh karena itu, pemahaman tentang fase pertumbuhan dan aktivitas enzim ini penting dalam menentukan waktu dan kondisi fermentasi yang ideal untuk memaksimalkan tempe berkualitas tinggi.

2.4.1 Karakter Makroskopis *Rhizopus* sp.

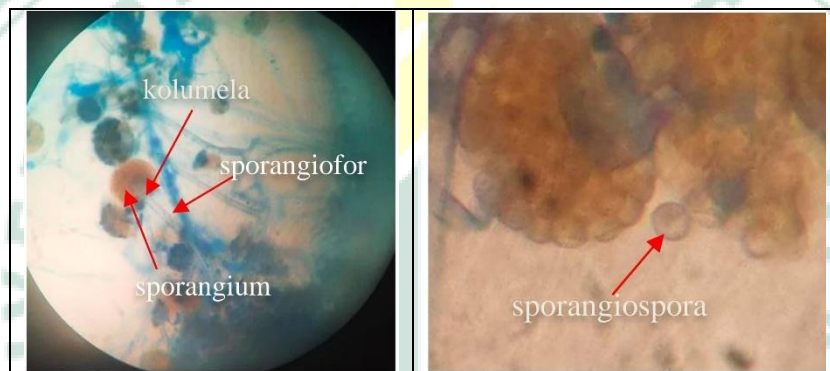
Karakteristik makroskopis *Rhizopus* sp. mencakup ciri-ciri visual koloni jamur yang tampak langsung pada substrat fermentasi. Salah satu parameter penting yang diamati adalah ketebalan miselium, yang menggambarkan seberapa padat dan luas jaringan hifa yang terbentuk selama fermentasi berlangsung. Ketebalan miselium berkaitan langsung dengan laju pertumbuhan dan aktivitas metabolik jamur. Menurut A'yun & Janah (2022), miselium yang tebal dan merata menandakan pertumbuhan *Rhizopus* yang optimal dalam kondisi lingkungan yang sesuai. Sebaliknya, miselium yang tipis atau tidak merata dapat mengindikasikan gangguan pada proses fermentasi, seperti kadar air yang tidak cukup atau suhu yang tidak mendukung.

Karakter pertumbuhan *Rhizopus* sp. tidak hanya ditunjukkan oleh ketebalan koloni, tetapi juga perubahan warna dari putih pada fase awal menjadi keabu-abuan hingga kehitaman seiring terbentuknya sporangium. Tekstur koloni tampak berbulu padat menyerupai kapas, dengan pertumbuhan menyebar dari pusat inokulasi. Menurut Surbakti *et al.* (2022), evaluasi makroskopis seperti ketebalan dan warna miselium dapat digunakan sebagai indikator awal keberhasilan fermentasi tempe, sebelum dilakukan pengamatan mikroskopis lebih lanjut. Ketebalan miselium menjadi salah satu parameter visual yang digunakan dalam menilai intensitas pertumbuhan *Rhizopus* sp. selama fermentasi, dan dapat dipengaruhi oleh jenis substrat, ketersediaan nutrisi, suhu, dan kadar air.

2.4.2 Karakter Mikroskopis *Rhizopus* sp.

Selain pengamatan visual, karakter mikroskopis *Rhizopus* sp. juga penting dalam mengevaluasi struktur dan proses reproduksi jamur. Struktur utama yang diamati secara mikroskopis meliputi:

- Hifa: merupakan struktur seperti benang yang membentuk jaringan miselium. *Rhizopus* bersifat aseptat (tidak bersekat), sehingga tampak seperti tabung bercabang tanpa sekat melintang (*coenocytic*).
- Sporangium: struktur berbentuk bulat (*globose*) yang terletak di ujung sporangiofor. Sporangium berfungsi sebagai tempat pembentukan spora dan akan pecah saat matang untuk melepaskan spora.
- Sporangiofor: tangkai tegak yang menyangga sporangium. Dapat tumbuh secara tunggal atau berkelompok dari permukaan substrat.
- Spora (*sporangiospora*): sel reproduktif aseksual yang dibentuk dalam sporangium. Spora menyebar dan tumbuh menjadi hifa baru ketika berada di lingkungan yang mendukung.



Gambar 2. 3. Bagian-bagian pada kapang yang diamati secara mikroskopis (Sumber: A'yun & Janah, 2022)

Berdasarkan A'yun & Janah (2022) seperti ditunjukkan pada Gambar 2.3 memperlihatkan karakter mikroskopis *Rhizopus* sp. perlakuan tanpa tepung tapioka, sedangkan dalam penelitian yang dilakukan ditambahkan tepung tapioka. Menurut Ardiani *et al.* (2024), sporangium *Rhizopus* ditemukan berbentuk bulat, sporangiofor dapat muncul secara berkelompok atau tunggal, dan hifa bersifat aseptat. Jagat *et al.* (2021) juga menegaskan bahwa struktur mikroskopik seperti rhizoid, sporangiofor, sporangium, spora, dan hifa merupakan parameter utama dalam mengamati pertumbuhan *Rhizopus* sp. Karakter mikroskopis ini menjadi indikator penting dalam keberhasilan fermentasi, karena perubahan struktur morfologi dapat mencerminkan kondisi pertumbuhan dan efektivitas metabolisme kapang selama proses fermentasi.

2.5 Pati Tapioka Sebagai Zat Aditif dalam Fermentasi

Pati tapioka merupakan hasil ekstraksi dari umbi singkong (*Manihot esculenta*) yang sebagian besar terdiri atas karbohidrat, namun memiliki kandungan protein, vitamin, dan mineral yang rendah. Karena itu, tapioka umumnya digunakan sebagai bahan tambahan dalam fermentasi, bukan sebagai sumber zat utama. Meski demikian, beberapa studi menunjukkan bahwa fermentasi pati tapioka dengan mikroorganisme tertentu dapat meningkatkan kandungan gizinya. Sebagai contoh, fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* mampu meningkatkan kadar protein dari 0,28% menjadi 2,17%, serta meningkatkan kandungan mineral dan daya larut pati tapioka (Kustyawati *et al.*, 2013).

Pati tapioka berperan sebagai sumber karbon tambahan yang dapat digunakan oleh mikroorganisme seperti *Rhizopus* sp. untuk tumbuh dan berkembang selama fermentasi tempe. *Rhizopus* sp. mampu menghasilkan enzim amilolitik seperti α -amilase dan glukoamilase yang berfungsi menguraikan molekul pati tapioka menjadi gula sederhana, seperti glukosa dan maltosa, yang kemudian digunakan sebagai energi. Aktivitas ini didukung oleh penelitian (Hafsan *et al.*, 2021), yang berhasil mengisolasi *Rhizopus oryzae* dari limbah cair pati tapioka dan menunjukkan adanya aktivitas tinggi dari enzim amiloglukosidase pada suhu optimum 40°C dan pH 4,5. Studi yang dilakukan oleh Kanti (2017) menunjukkan bahwa *Rhizopus oryzae* dapat memproduksi enzim amilase secara signifikan saat ditumbuhkan pada substrat fermentasi padat berbasis ampas tahu. Hal ini diperkuat pula oleh Martgrita *et al.* (2023), yang melaporkan bahwa *R. oryzae* mampu menghasilkan aktivitas amilase tertinggi saat difermentasi menggunakan limbah padat singkong sebagai substrat pada kondisi kadar air 70% dan suhu 30°C. Temuan tersebut mendukung penggunaan pati tapioka dalam fermentasi tempe non-kedelai.

Penelitian Surbakti *et al.* (2022) menghasilkan dengan penambahan pati tapioka dapat memberikan pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* yang optimal. Pati dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi maltosa dan glukosa yang dimanfaatkan sebagai sumber energi, sehingga mampu mendukung pembentukan miselium yang lebih lebat. Oleh karena itu, penambahan pati tapioka sebagai zat aditif dalam fermentasi berpotensi mendukung pertumbuhan kapang selama proses fermentasi

berlangsung. Meskipun penambahan pati juga dapat memicu pertumbuhan mikroorganisme lain, seperti ragi atau bakteri asam laktat, *Rhizopus* sp. tetap berperan dominan dalam fermentasi tempe sehingga menjaga proses fermentasi berlangsung secara berkelanjutan (Moensaku *et al.*, 2021). Selain itu, pati membantu menjaga kelembapan substrat dan mempermudah penyebaran spora *Rhizopus* sp. di permukaan tempe. Pada fermentasi tempe dari kacang-kacangan non-kedelai seperti kacang merah, tekstur yang dihasilkan cenderung kurang padat dibanding tempe kedelai. Oleh sebab itu, penambahan pati tapioka dinilai efektif untuk meningkatkan kohesivitas atau daya lekat antar biji, sehingga menghasilkan tempe yang lebih padat dan tidak mudah hancur saat dipotong atau dimasak (Salsabilla, 2024). Penambahan tapioka juga membantu menyeimbangkan rasio karbon dan nitrogen (C/N) dalam substrat, yang penting dalam mendukung pertumbuhan dan aktivitas metabolik kapang selama fermentasi (Hanapi *et al.*, 2023).

Penelitian Debora *et al.* (2023) menunjukkan bahwa kombinasi tepung kacang merah dan tapioka dalam pembuatan bakso analog mampu menghasilkan tekstur yang lebih padat, kenyal, dan kohesif, sehingga menguatkan peran pati tapioka terhadap kualitas tekstur produk. Sementara itu, Kusnandar *et al.* (2020) menemukan adanya perubahan kadar air yang signifikan selama fermentasi tempe kacang merah, menunjukkan pentingnya kelembapan dalam mendukung pertumbuhan miselium dan penyebaran spora *Rhizopus* sp.. Namun demikian, informasi tentang pengaruh langsung penambahan pati tapioka terhadap pertumbuhan *Rhizopus* sp. dalam fermentasi kacang merah masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh penambahan pati tapioka dengan berbagai takaran terhadap pertumbuhan *Rhizopus* sp. pada fermentasi kacang merah, sebagai dasar ilmiah untuk optimalisasi proses pembuatan tempe non-kedelai.

2.6 Penelitian Terdahulu

Mengacu pada penelitian sebelumnya, hasil penelitian terdahulu yang memiliki keterkaitan dengan penelitian ini disajikan dalam Tabel 2.1 untuk menunjukkan keterkaitan antara penelitian yang telah dilakukan dengan penelitian ini.

Tabel 2. 1. Perbandingan penelitian terdahulu dengan penelitian yang dilakukan

No	Penulis dan Judul	Tahun dan Sumber Referensi	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1	Liputo <i>et al.</i> “Tempe Kacang Merah dengan Menggunakan Ekstrak Bonggol Nanas”	2022, JITIPARI Vol 7 No 1	Ekstrak bonggol nanas mempercepat fermentasi dan meningkatkan mutu tempe kacang merah	Menggunakan kacang merah dan <i>Rhizopus</i> sp. dalam fermentasi tempe.	Menggunakan ekstrak nanas sebagai bahan tambahan, bukan pati tapioka.
2	Wulan <i>et al.</i> “The effect of Fermentation Time on Protein and Fat Content in The Red Beans (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) Tempeh”	2021, JGK Vol 13 No 2	Fermentasi selama 2-3 hari menghasilkan tempe kacang merah dengan kandungan protein dan lemak terbaik.	Penelitian menggunakan desain eksperimental, bahan utama menggunakan kacang merah dan <i>Rhizopus</i> sp., waktu fermentasi diamati.	Tidak menggunakan bahan tambahan pati tapioka, tidak menilai organoleptik, Takaran ragi dan kacang merah berbeda
3	Moensaku <i>et al.</i> “Isolasi dan Identifikasi Kapang <i>Rhizopus</i> pada Tempe Kacang Merah (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)”	2021, Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha Vol 8 No 2	<i>Rhizopus oligosporus</i> diidentifikasi sebagai kapang dominan dalam fermentasi tempe kacang merah.	Menggunakan bahan kacang merah dan fokus pada <i>Rhizopus</i> .	Tidak menggunakan dan menguji bahan tambahan pati tapioka dan tidak menilai mutu produk akhir.
4	Kusnandar <i>et al.</i> “Prospect of Red Kidney Bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) Processing into a Quality Tempe”	2020, Jurnal Institut Pertanian Bogor Vol 15 No 1	Tempe kacang merah menghasilkan nilai cerna dan protein tinggi, namun	Menggunakan bahan utama kacang merah dan membahas mutu tempe.	Menggunakan cuka sebagai bahan tambahan, bukan pati tapioka.

			penerimaan organoleptik belum optimal.		
5	Hanapi <i>et al.</i> “Sifat Kimia, Fisik, Organoleptik Keripik Tempe Tapioka Pada Berbagai Konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp. dan Lama Fermentasi”	2023, Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian	Penambahan konsentrasi ragi dan lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar air, lemak, dan uji organoleptik.	Menggunakan pati tapioka dan menilai parameter mutu produk.	Penelitian terdahulu menggunakan kedelai dan metode RAK, sedangkan penelitian yang akan dilaksanakan menggunakan kacang merah dan metode RAL
6	Sudaryatiningsih & Pambudi “Optimization of Tempe Fermentation With the Addition of Yeast and Starch Flour”	2024, Int.j. of Integrated Science and Technology Vol 2 No 1	Penambahan kombinasi ragi dan tepung pati mempercepat fermentasi dan memperpanjang masa simpan tempe.	Menggunakan bahan berpati (termasuk pati tapioka) dalam fermentasi tempe.	Tidak menggunakan kacang merah sebagai bahan utama.
7	Rizal <i>et al.</i> “Effect of substrate type and incubation time on microbial viability of tempeh starter”.	2023, AIMS Agriculture and Food Vol 8 No 2	Tepung tapioka sebagai substrat mendukung viabilitas mikroba starter tempe, termasuk <i>Rhizopus</i> .	Mengkaji efek tepung berpati terhadap kelangsungan hidup <i>Rhizopus</i> .	Tidak fokus pada fermentasi tempe kacang merah secara spesifik.

Beberapa penelitian terdahulu belum menunjukkan kajian yang secara khusus menilai pengaruh variasi takaran pati tapioka yang digunakan dalam fermentasi tempe dengan bahan dasar kacang merah terhadap pertumbuhan *Rhizopus* sp., karakter mikroskopis, dan mutu organoleptik tempe. Penelitian terbaru perlu dilakukan untuk mendukung pengembangan inovasi tempe non-kedelai berbahan dasar kacang merah sebagai pangan lokal alternatif.

2.7 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disusun, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

➤ H0 (Hipotesis nol):

Penambahan pati tapioka dengan variasi takaran pada fermentasi tempe berbahan baku kacang merah tidak berpengaruh nyata dan tidak efektif terhadap pertumbuhan *Rhizopus* sp., serta tidak memengaruhi kualitas organoleptik tempe kacang merah.

➤ H1 (Hipotesis alternatif):

Penambahan pati tapioka dengan variasi takaran pada fermentasi tempe berbahan baku kacang merah berpengaruh dan efektif terhadap pertumbuhan *Rhizopus* sp., serta mempengaruhi kualitas organoleptik tempe kacang merah.

Karakter mikroskopis *Rhizopus* sp. pada tempe kacang merah diamati secara deskriptif kualitatif yang meliputi hifa, sporangium, sporangiofor, spora dan tidak dianalisis secara statistik, sehingga tidak dirumuskan dalam bentuk hipotesis.