

**PEMBUATAN KECAP YANG MENGANDUNG ISOFLAVON
FAKTOR-2 (6,7,4'-TRIHIDROKSI ISOFLAVON)
DARI BAHAN DASAR TEMPE**

TESIS

**Karya Tulis sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Magister dari
Institut Teknologi Bandung**

Oleh

YUDA PURWANA ROSWANJAYA

NIM : 20604016



INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG

2006

**PEMBUATAN KECAP YANG MENGANDUNG ISOFLAVON
FAKTOR-2 (6,7,4'-TRIHIDROKSI ISOFLAVON)
DARI BAHAN DASAR TEMPE**

Oleh
YUDA PURWANA ROSWANJAYA
20604016

Menyetujui
Pembimbing



Dr. Pingkan Aditiawati

ABSTRAK

PEMBUATAN KECAP YANG MENGANDUNG SOFLAVON FAKTOR-2 (6,7,4'-TRIHIDROKSI ISOFLAVON) DARI BAHAN DASAR TEMPE

Oleh

Yuda Purwana Roswanjaya

NIM : 20604016

Telah dilakukan penelitian mengenai pembuatan kecap yang mengandung isoflavon faktor-2 (6,7,4'-Trihidroksi isoflavon) dari bahan dasar tempe menggunakan kultur campuran *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus subtilis*, *Zygosaccharomyces rouxii* dan *Rhodotorula rubra*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan paling optimum dari mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi kecap, mendeteksi kandungan isoflavon faktor-2 pada kecap yang telah dibuat dan membandingkan kualitas kecap dari tempe hasil fermentasi berbagai variasi inokulum *Rhizopus*. Penelitian ini dimulai dengan pembuatan tempe dengan menggunakan inokulum *Rhizopus oligosporus*; *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus stolonifer* serta *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus stolonifer* dan *Rhizopus oryzae* pada suhu 30°C selama 48 jam kemudian dianalisis kandungan protein dan isoflavonnya. Penentuan umur inokulum dilakukan dengan membuat kurva pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* dalam medium MRS, *Bacillus subtilis* dalam medium NA dan *Zygosaccharomyces rouxii* serta *Rhodotorula rubra* dalam medium PDA. Medium fermentasi kecap dibuat dengan cara mencampurkan tempe dengan air dengan perbandingan 1:3 dan ditambahkan garam 10%(b/v) dan gula 5% (b/v). Optimasi inokulum sebesar 10% (v/v) dilakukan dengan perbandingan *Lactobacillus bulgaricus* : *Bacillus subtilis* : *Zygosaccharomyces rouxii* : *Rhodotorula rubra* sebanyak 1:1:1:1; 2:1:1:1; 1:2:1:1; 1:1:2:1 dan 1:1:1:2 dengan parameter pengukuran meliputi nilai pH, kadar protein dan jumlah mikroba, setiap dua minggu selama 2 bulan fermentasi pada suhu 37°C. Kecap yang diperoleh diuji kandungan isoflavon dan nilai uji organoleptiknya. Hasil optimasi diperoleh perbandingan inokulum terbaik adalah *L.bulgaricus* : *B. subtilis* : *Z. Rouxii* : *R.rubra* sebanyak 1:2:1:1, dengan kecap yang dihasilkan memiliki kadar protein sebesar 4,01%, pH akhir 4,75, kandungan Faktor-2 19,6031 mg/100g kecap, daidzein 0,0438 mg/100g kecap dan genistein 0,0015 mg/100g kecap tanpa adanya kandungan glisitein. Langkah selanjutnya adalah menggunakan perbandingan inokulum optimum untuk membuat kecap dari tempe yang difermentasi oleh berbagai variasi inokulum *Rhizopus* dengan parameter pengukuran meliputi nilai pH, kadar protein, kandungan isoflavon dan uji organoleptik. Tempe yang paling baik digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kecap adalah tempe hasil fermentasi *Rhizopus oligosporus* karena menghasilkan kecap dengan kadar protein sebesar 4,17%, kandungan Faktor-2 19,3069 mg/100g kecap, daidzein 0,6377 mg/100g kecap, glisitein 0,1512 mg/100g kecap dan genistein 0,5261 mg/100g kecap. Penelitian terhadap aroma 3,25 (cukup disukai), rasa 3,33 (cukup disukai) dan warna 3,75 (disukai).

Kata Kunci : Kecap, Isoflavon faktor-2, Tempe

ABSTRACT

SOY SAUCE PRODUCTION CONTAINING ISOFLAVONE FACTOR-2 (6,7,4'-TRIHIDROKSI ISOFLAVONE) FROM TEMPE AS BASIC INGREDIENTS

Yuda Purwana Roswanjaya

NIM :20604016

A research concerning soy sauce production containing isoflavone factor-2 (6,7,4'-Trihidroksi Isoflavone) from tempe as basic ingredients has been conducted using mixed culture of *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus subtilis*, *Zygosaccharomyces rouxii* and *Rhodotorula rubra*. The aim of the study was to know the most optimum comparison of microorganisms involved in soy sauce fermentation, to detect the content of isoflavone factor-2 in soy sauce and to compare the quality of soy sauce from tempe that fermented by variation of *Rhizopus*. The research was started with tempe production using *Rhizopus oligosporus* inoculum, *Rhizopus oligosporus* and *Rhizopus stolonifer* inoculum, and also *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus stolonifer* and *Rhizopus oryzae* inoculum at 30°C for 48 hours. Afterwards the protein and isoflavone content of tempe was analyzed. The age of inoculum was determined from growth curve of *Lactobacillus bulgaricus* in MRS medium, *Bacillus subtilis* in NA medium, *Zygosaccharomyces rouxii* and *Rhodotorula rubra* in PDA medium. Fermentation medium of soy sauce was made by mixing tempe and water with 1:3 ratio and added of 10% salt (w/v) and 5% sugar (w/v). The variation of 10% (v/v) inoculum were *Lactobacillus bulgaricus* : *Bacillus subtilis* : *Zygosaccharomyces rouxii* : *Rhodotorula rubra* 1:1:1:1; 2:1:1:1; 1:2:1:1; 1:1:2:1 and 1:1:1:2. The value of pH, the protein content and cell number were measured every 2 weeks for 2 months as parameters for determination of the optimal microorganism comparison in the net of inoculum. The isoflavone content and organoleptic was used as parameters to test the quality of soy sauce. The result of optimisation showed that the best variation of inoculum comparison was *L.bulgaricus* : *B. subtilis* : *Z. rouxii* : *R.rubra* 1:2:1:1, soy sauce which resulted with the content of protein was 4,01%, final pH value was 4,75, the content of Factor-2 was 19,6031 mg/100g of soy sauce, daidzein was 0,0438 mg/100g of soy sauce and genistein was 0,0015 mg/100g of soy sauce without glisitein content. Futhermore, the optimum variation of inoculum comparison was used for producing soy sauce from tempe that fermented by variation of *Rhizopus*. The protein content, isoflavon content and organoleptic were measured as parameters. Tempe from soybeans fermented by *Rhizopus oligosporus* was the best for soy sauce production because resulting soy sauce with best quality. The content of protein was 4,17%, Factor-2 was 19,3069 mg/100g of soy sauce, daidzein was 0,6377 mg/100g of soy sauce, glisitein was 0,1512 mg/100g of soy sauce and genistein was 0,5261 mg/100g of soy sauce. The rating of aroma, taste and colour was 3,25 (average), 3,33 (average) and 3,75 (good), respectively.

Key words : Soy sauce, Isoflavone factor-2, Tempe

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	i
ABSTRAK.....	ii
ABSTRACT.....	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kedelai.....	5
2.2 Tempe dan Kandungan Gizinya.....	7
2.3 Proses Pembuatan Tempe.....	8
2.4 Antioksidan pada Tempe Kedelai.....	10
2.5 Kapang dalam Fermentasi Tempe.....	13
2.6 Kecap.....	15
2.7 Proses Pembuatan Kecap.....	16
2.8 Mikroba yang Berperan dalam Fermentasi Kecap.....	18
2.8.1 Bakteri <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	18
2.8.2 Khamir <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> dan <i>Rhodotorula rubra</i>	18
2.9 Pertumbuhan dan Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme.....	20
2.10 Uji Organoleptik.....	21
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Bahan dan Alat.....	23
3.1.1 Bahan.....	23
3.1.2 Alat.....	23

3.2	Tata Kerja.....	24
3.2.1	Pembuatan Medium dan Persiapan Inokulum.....	24
A.	Pembuatan Medium.....	24
B.	Persiapan Inokulum <i>Rhizopus</i>	24
C.	Sporulasi Biakan <i>R. oligosporus</i> , <i>R. stolonifer</i> dan <i>R. oryzae</i>	24
D.	Penentuan Jumlah Spora Kapang Tempe.....	24
E.	Persiapan Inokulum <i>Bacillus subtilis</i>	25
F.	Persiapan Inokulum <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	25
G.	Persiapan Inokulum <i>Zygosaccaromyces rouxii</i> dan <i>Rhodotorula rubra</i>	26
H.	Pembuatan Kurva Tumbuh.....	27
3.2.2	Pembuatan Tempe.....	28
3.2.3	Pembuatan Kecap.....	29
A.	Pembuatan Medium Fermentasi.....	30
B.	Optimasi Perbandingan Inokulum.....	30
C.	Analisis Kecap Selama Proses Optimasi.....	32
1.	Penentuan pH.....	32
2.	Penentuan Kadar Protein.....	32
3.	Perhitungan Jumlah Mikroba Selama Fermentasi...	32
4.	Analisis Kadar Isoflavon.....	33
3.2.4	Tahap Produksi Kecap.....	35
3.2.5	Analisis Hasil Tahap Produksi Kecap.....	35
3.2.6	Uji Organoleptik.....	35

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Pemeliharaan Kultur Kapang dan Persiapan Inokulum.....	37
4.2	Sporulasi Kultur Kapang <i>Rhizopus</i>	37
4.3	Proses Perolehan Tempe.....	37
4.4	Hasil Analisis Kimia Tempe.....	39
4.5	Proses Pembuatan Kecap.....	44
4.5.1	Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme.....	44
4.5.1.1	Kurva Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i>	44
4.5.1.2	Kurva Pertumbuhan <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	45
4.5.1.3	Kurva Pertumbuhan <i>Rhodotorula rubra</i>	46

4.5.1.4 Kurva Pertumbuhan <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	48
4.5.2 Optimasi Perbandingan Inokulum.....	49
4.5.2.1 Pengamatan Pertumbuhan Mikroba Selama Proses Fermentasi.....	49
4.5.2.1.1 Pola Pertumbuhan Total Mikroba.....	49
4.5.2.1.2 Pola Pertumbuhan Bakteri dan Khamir.....	54
4.5.2.1.3 Pola Pertumbuhan Tiap Mikroba.....	56
4.5.2.2 Pengamatan Perubahan pH.....	61
4.5.2.3 Pengamatan Perubahan Kadar Protein.....	63
4.5.2.4 Analisis Kadar Isoflavon pada Kecap.....	66
4.5.2.5 Uji Organoleptik.....	68
4.6 Tahap Produksi Kecap.....	70
4.6.1 Analisis Kecap Hasil Tahap Produksi.....	70
4.6.2 Uji Organoleptik.....	75
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	78
5.2 Saran.....	78
DAFTAR PUSTAKA.....	80
LAMPIRAN.....	85

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Campuran *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus subtilis*, *Zygosaccharomyces rouxii* dan *Rhodotorula rubra* dapat digunakan sebagai inokulum dalam pembuatan kecap dari bahan dasar tempe yang difermentasi kapang *Rhizopus* dengan hasil yang baik yaitu kandungan protein tinggi, kandungan isoflavon faktor-2 tinggi serta organoleptik yang memadai.
2. Perbandingan inokulum paling optimum antara *L. bulgaricus*, *B. subtilis*, *Z. rouxii* dan *R. rubra* dalam pembuatan kecap adalah 1:2:1:1 karena menghasilkan kecap dengan kadar protein sebesar 4,01%, kandungan Faktor-2 19,6031 mg/100g kecap, daidzein 0,0438 mg/100g kecap dan genistein 0,0015 mg/100g kecap tanpa adanya kandungan glisitein.
3. Isoflavon faktor-2 dapat terdeteksi keberadaannya pada kecap dari bahan dasar tempe hasil fermentasi *R. oligosporus*, *R. oligosporus* dan *R. stolonifer*, serta *R. oligosporus*, *R. stolonifer* dan *R. oryzae* dengan kandungan Faktor-2 masing-masing 19,3069 mg/100g, 8,6031 mg/100g dan 0,0243 mg/100g kecap.
4. Kecap dengan kualitas dan cita rasa paling baik dihasilkan dengan menggunakan bahan dasar tempe hasil fermentasi kapang *R. oligosporus* dengan kadar protein sebesar 4,17%, kandungan Faktor-2 19,3069 mg/100g kecap, daidzein 0,6377 mg/100g kecap, glisitein 0,1512 mg/100g kecap dan genistein 0,5261 mg/100g kecap.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan optimasi terhadap kadar inokulum total yang digunakan dalam proses fermentasi kecap guna menghasilkan kecap dengan kandungan isoflavon faktor-2 lebih tinggi dan kualitas serta cita rasa yang lebih baik
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai cara ekstraksi isoflavon faktor-2 yang lebih efisien selama proses fermentasi kecap, sehingga dapat dihasilkan kecap dengan kandungan isoflavon faktor-2 yang lebih tinggi

3. Untuk penelitian inovatif selanjutnya perlu dilakukan uji antioksidan, antihaemolisis dan antikanker dari kecap berisoflavon faktor-2 pada berbagai hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbey, M., R. King, N. Kerry, A. Owen, I. Record dan P. Nestel. 1997. *Soy Isoflavones : Bioavailability, Antioxidant Activity, Cancer and Cardiovascular Disease Benefits*. Technical Bulletin. American Soybean Association. MITA (P) No:096/11/97
- Ahmad, S.A. 1985. *Kimia Organik Bahan Alam*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Universitas Terbuka. Jakarta.
- Ajam, C dan Cheah, K. 1984. Isolation and Characterisation of Halophilic Yeast and Bacteria Involved in Soysauce Fermentation in Malaysia. *Food Technology in Australia*. 36(5) : 227-232
- Alexopoulos, C. J. dan C. W . Mims. 1979. *Introductory Mycology*. 3rd Edition . John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Arbianto, P. 1995. The Microbial Ecological Approach in the Traditional Fermentation Processes. *Prosiding Simposium Sehari Pengembangan Industri Makanan dari Kedelai*. Jakarta, 23 September.
- Bahri. 2002. *Pembuatan Kecap dari Lumbricus rubellus Hoffmeister (Cacing Tanah Merah) Secara Fermentasi dengan Menggunakan Kultur Campuran*. Tesis Magister Biologi. ITB.
- Barz, W., G. B. Papendorf dan Rehms, H. 1990. *Characterization of Glycohidrolases, Phosphatases and Isoflavone Metabolism in Tempe-Forming Rhizopus strain*. Second Asia Symposium on Non-Salted Soybean Fermentation. Makalah disampaikan dalam Workshop Tempe, Jakarta 16 Februari.
- Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2006. *Biology of Microorganisms*, 11th Edition. Prentice Hall, International, Inc.
- Buchanan, R. E. dan Gibbons, N. E. 1997. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th Edition. The Williams and Wilkins. Baltimore.
- Buckle, K.A., Edward, R.A., Fleet, G.H. dan Wooton, M. 1985. *Ilmu Pangan*. Penerjemah : Hari Purnomo dan Adiono. UI-Press. Jakarta.
- Bushell, M.E., Slater, J.H. 1981. *Mixed Culture Fermentation*. Academic Press. London.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Dachlianti, A. 1990. *Studi Perbandingan Penggunaan Kedelai Pasta dan Biji Sebagai Bahan Dasar pada Proses Pembuatan Kecap*. Skripsi Sarjana Kimia. ITB.
- Ewan, C. dan Seo, A. 1992. Isoflavone Aglicones and Volatil Organic Compound in Soybeans. Effect of Soaking Treatment. *J. Food Sci.* 57 (6) : 173-178

- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1998. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Fauzi, A. 1994. *Studi Pendahuluan Penggunaan R. oligosporus L36 Amobil dalam Pembuatan Susu Kedelai*. Skripsi Sarjana Biologi. ITB.
- Frazier, W.C. dan Westhoff, D.C. 1988. *Food Microbiology*, 4th Edition. McGraw-Hill, Inc. New York.
- Fujimaki, A. dan Yamashita. 1977. *Enzymatic Protein Degradation and Resynthesis for Protein Improvement. Advanced in Chemistry Series*. American Chemical Society. Washington.
- Gilman, J. C. 1957. *A Manual of Soil Fungi*. 2nd Edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. USA.
- Hadioetama, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Hayashi, K. 1993. *Classification of Soy Products. In : Science and Technology of Soy Sauce*. Soy Sauce Res. Inst. Jepang.
- Helferich, W., Westhoff, D. 1998. *All About Yoghurt*. Prentice Hall, Inc. New Jersey.
- Hermana dan M. Karmini. 1995. *Pangan Hasil Olahan Kedelai Generasi Kedua. Simposium Sehari Pengembangan Industri Makanan dari Kedelai*. Jakarta, 23 September.
- Hong, L. G. 1983. *Peranan Makanan Fermentasi Tradisional Dalam Usaha Memperbaiki Gizi Masyarakat*. Mikrobiologi di Indonesia. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Iswendi. 1993. *Pembuatan Kecap Ikan (Sarikan) Secara Fermentasi Dengan Teknik Amobilisasi Sel Dengan Sistem Fluidized Bed Reaktor*. Tesis Magister Kimia. ITB.
- Judoamidjojo, M. 1989. *Biokonversi*. Pusat Antar Universitas-Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Kasmidjo. 1990. *Tempe*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Koswara, S. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadi Makanan Bermutu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Kumalaningsih, S. 1983. *Fermentasi Kecap Ikan Lemuru (Sardinella sp)*. Mikrobiologi di Indonesia. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Laily, N. 2004. *Instruksi Pengujian Senyawa Isoflavon*. Laboratorium Teknologi Bioindustri. Serpong.

- Luckner, M. 1984. *Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants and Animals*. Springer-Verlag. Berlin.
- Madayanti, F. 1986. *Pengembangan Cara Baru untuk Standarisasi Kecap Secara Kromatografi Gas*. Skripsi Sarjana Kimia. ITB.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB. Bandung.
- Moat, A. G., dan Foster, J.W. 1995. *Microbial Physiology. Third Edition*. Wiley-Liss, Inc. New York.
- Murphy, P. A. 1994. Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods. *Journal of Agric. Food Chem.* 42 (3) :282-287
- Narwati, Y. T. 2000. *Pembuatan Soygurt yang Mengandung Faktor-2 (6,7,4'-Trihidroksi Isoflavon) Menggunakan Bahan Dasar Susu Kedelai*. Tesis Magister Biologi. ITB.
- Nunomora dan Sasaki. 1992. *Japanese Soy Sauce Flavour with Emphasis on off Flavours*. Elsevier Publ. B. V. Amsterdam.
- Patricia, P. 2000. *Uji Kehadiran Senyawa Metabolit Sekunder Isoflavon Faktor II pada Fermentasi Kedelai Menggunakan Inokulum Campuran Rhizopus oligosporus dan Rhizopus stolonifer*. Skripsi Sarjana Biologi. ITB.
- Pawiroharsono, S. 1995a. Potensi Tempe dan Pengembangan Industri tempe Generasi III. *Prosiding Simposium Sehari Pengembangan Makanan dari Kedelai*. Jakarta, 23 September.
- Pawiroharsono, S. 1995b. *Metabolisme Isoflavon dan Faktor II (6,7,4'-Trihidroksi Isoflavon) pada Proses Pembuatan Tempe*. Prosiding Pengembangan Tempe dalam Industri Pangan Modern. UGM 15-16 April.
- Pawiroharsono, S. 1997. *Biotransformation of Isoflavone in Tempe (Soybean Fermented) and Its Potential Benefit for Health*. Nutrition Seminar 'The Role of Soybean for Health' Association of medical-nutrition Doctor Indonesian. Jakarta, June 10.
- Pawiroharsono, S. 2003. *Characterization of Microorganisms and For Its Implementation Tempe Improvement*. Proceedings the third International Soybean Processing and Utilization Conference. Jepang 15-20 September.
- Pelczar, J.M., dan E. C. S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI-Press. Jakarta.
- Pusponegoro, L., Tanuwidjaya dan Roestamsjah. 1983. *Pengaruh Peningkatan Skala Percobaan pada Penguraian Protein Selama Fermentasi Kecap*. Mikrobiologi di Indonesia. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Rachman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Depdikbud. DIKTI. PAU Pangan dan Gizi. IPB.

- Restuhadi, F. 1993. *Studi Pendahuluan Biokonversi Isoflavon Pada Proses Fermentasi Kedelai Menggunakan Rhizopus spp L41*. Tesis Program Magister Kimia. ITB.
- Roling, W., Schuumans, F., Timotius, K., Stouthamer, A. dan Versevenld, H. 1994. Influence of Prebrining Treatments on Microbial and Biochemical Changes During the Baceman Stage in Indonesian Kecap (Soy sauce) Production. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 77(4) : 400-406
- Roling, W. dan Prasetyo, A. 1994. Research on the Microbiology on Traditional Indonesia Kecap Production. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 77(2) : 315-320
- Rudiretna, A. 1991. *Studi Pendahuluan Biokonversi Isoflavon Faktor II Pada Proses Fermentasi Tempe Dengan Teknik Fermentasi Perendaman (Submerge)*. Tesis Program Magister Kimia. ITB.
- Sa'id, E. G. 1987. *Bioindustri. Penerapan Teknologi Fermentasi*. Mediyatama Sarana Perkasa. Jakarta.
- Santoso, H.B. 1994. *Kecap dan Tauco Kedelai. Teknologi Tepat Guna*. Kasinius. Yogyakarta.
- Schlegel, H. S. dan Schimdt, K. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shurtleff, W. Dan Aoyagi, A. 1979. *The Book of Tempeh*. Harper & Row Publishers. New York.
- Sudarmadji, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Suliantari dan W. P. Rahayu. 1990. *Teknologi Fermentasi Umbi-umbian dan Biji-bijian*. Depdikbud. DIKTI. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB.
- Suriawiria, U. 1998. *Bioteknologi Agroindustri*. Diktat Mikrobiologi Industri. Departemen Biologi. ITB.
- Susanti, D. A. 2000. *Uji Keberadaan Senyawa Isoflavon Faktor-II (6,7,4'-Trihidroksi Isoflavon) pada Tempe Hasil Fermentasi kedelai dengan Rhizopus arrhizus L39*. Skripsi Sarjana Biologi. ITB.
- Suryaningsih, S. 1997. *Minuman Sari Tempe yang Mengandung Senyawa Faktor-2*. Tesis Magister Kimia. ITB.
- Tanuwidjaja, L. 1983. Pengaruh Substrat Terhadap Daya Simpan Inokulum Tempe. *Kumpulan Makalah Kongres Nasional Mikrobiologi ke III*. Perhimpunan Ahli Mikrobiologi Indonesia.

- Vickery, L. M. dan Vickery, B. 1981. *Secondary Plant Metabolism*. The Macmillan Press LTD. London.
- Wang, D.I.C., Cooney, C.L., Demain, A.L., Dunnill, P., Humphrey, A.E., dan Lilly, M.D. 1979. *Fermentation and Enzyme Technology*. John Wiley & Sons. New York.
- Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wirahadikusumah, M. A. 1985. *Biokimia : Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid*. Penerbit ITB. Bandung.
- Yong, F. M. Dan B. J. B. Wood. 1974. *Microbial and Biochemistry of Soy Sauce Fermentation*. *Advanced in Applied Microbiology*. 17 (157)
- Yuniar, Y. 1994. *Pembuatan kecap dari Tempe dengan Menggunakan Lactobacillus bulgaricus, Bacillus subtilis dan Saccharomyces rouxii*. Skripsi Sarjana Kimia. ITB.