

**KAJIAN PEMBERIAN TEMPE *MODYFIED Saccharomyces cerevisiae*
TERHADAP PROFIL DARAH MENCIT (*Mus musculus L.*)**

(SKRIPSI)

Oleh:

TEGAR SURYAWAN



JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS LAMPUNG

2023

ABSTRACT

STUDY OF MODYFIED *Saccharomyces cerevisiae* TEMPE ON THE BLOOD PROFILE OF MICE (*Mus musculus* L.)

By

TEGAR SURYAWAN

The purpose of this study was to determine the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in tempeh in vivo in the intestines of mice and to determine the administration of modified *Saccharomyces cerevisiae* tempeh to the blood profile of mice. The study was arranged in a completely randomized design (CRD) with a single factor and five replications. The single factor was the treatment of giving tempeh flour which consisted of three levels, namely the control group, mice were given a standard ration of AIN 93-M: The mice group was fed commercial tempeh flour; and the group of mice were fed modified tempeh. The similarity of data variance was tested by Bartlett's test and the addition of data was tested by Tuckey's test. To find out the differences between treatments, the data were analyzed further with the Least Significant Difference (LSD) test at the 5% level. The results showed that the number of colonies of *Saccharomyces cerevisiae* that lived in the intestines of mice was 6.12 ± 0.051 Log CFU/mL (modified tempe) and 5.78 ± 0.039 Log CFU/mL (commercial tempe). The provision of modified tempe and commercial tempe had a significant effect on the blood hemoglobin levels of mice.

Keywords: *Escherechia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, probiotics, blood profile, tempeh

ABSTRAK

KAJIAN PEMBERIAN TEMPE *MODYFIED Saccharomyces cerevisiae* TERHADAP PROFIL DARAH MENCIT (*Mus musculus L.*)

Oleh

TEGAR SURYAWAN

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui *viabilitas* (kemampuan hidup) *Saccharomyces cerevisiae* pada tempe secara *in vivo* dalam usus mencit dan mengetahui pemberian tempe *modified Saccharomyces cerevisiae* terhadap profil darah mencit. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal dan lima kali ulangan. Faktor tunggal adalah perlakuan pemberian tepung tempe yang terdiri dari tiga taraf yaitu Kelompok kontrol, mencit diberi ransum standar AIN 93-M; Kelompok mencit dicekok tepung tempe komersil; dan Kelompok mencit dicekok tempe *modified*. Kesamaan ragam data diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, data dianalisis lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan jumlah koloni yang *Saccharomyces cerevisiae* yang hidup di usus mencit sebesar $6,12 \pm 0,051$ Log CFU/mL (tempe *modified*) dan $5,78 \pm 0,039$ Log CFU/mL (tempe komersil). Pemberian tempe *modified* dan tempe komersil berpengaruh nyata terhadap kadar hemoglobin darah mencit.

Kata kunci: *Escherechia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, probiotik, profil darah, tempe

**KAJIAN PEMBERIAN TEMPE *MODYFIED Saccharomyces cerevisiae*
TERHADAP PROFIL DARAH MENCIT (*Mus musculus L.*)**

Oleh:

TEGAR SURYAWAN

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2023

Judul Skripsi : **KAJIAN PEMBERIAN TEMPE *MODYFIED*
Saccharomyces cerevisiae TERHADAP
PROFIL DARAH MENCIT (*Mus musculus L.*)**

Nama Mahasiswa : **Tegar Suryawan**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1914051003

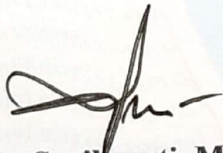
Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

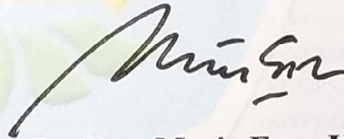
Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

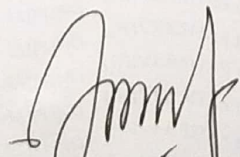


Ir. Susilawati, M.Si.
NIP 19610806 198702 2 001



Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M. Sc.
NIP 19611129 198703 2 010

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

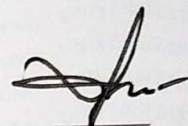


Dr. Erdj Suroso, S.T.P., M.T.A.
NIP 19721006 199803 1 005

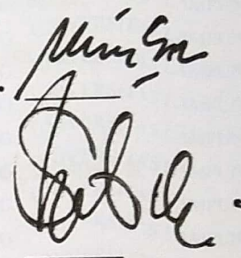
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Ir. Susilawati, M.Si.**



Sekretaris : **Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Subeki, M.Sc.**

2. Dekan Fakultas Pertanian



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **2 Mei 2023**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : TEGAR SURYAWAN

NPM : 1914051003

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil dari plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 13 Mei 2023

Yang membuat pernyataan



TEGAR SURYAWAN
NPM. 1914051003

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kotagajah, Kabupaten Lampung Tengah pada 19 April 2001, sebagai anak ketiga dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Sriyono dan Ibu yang Rini. Penulis mengawali pendidikan di Sekolah Dasar (SD) Negeri 2 Kotagajah yang diselesaikan tahun 2013, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 2 Kotagajah yang diselesaikan tahun 2016, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Kotagajah yang diselesaikan tahun 2019. Tahun 2019, penulis mendaftarkan diri sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Pada bulan Januari-Februari 2022, Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Srikaton, Kecamatan Seputih Surabaya, Kabupaten Lampung Tengah. Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT Indokom Samudra Persada, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung dengan judul “Mempelajari Pengendalian Mutu pada Proses Pengemasan dan Penggudangan Udang Beku Vannamei PTO (*peeled tail on*) Stretch DI PT Indokom Samudra Persada”. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi anggota bidang Kesma BIROHMAH dan anggota bidang Kaderisasi FOSI FP pada periode 2020/2021. Penulis pernah mengikuti kegiatan MBKM Kredensial Mikro Mahasiswa Indonesia (KMMI) pada tahun akademik 2021/2022 di Universitas Hasanudin course Mahasiswa Wirausaha. Penulis pernah menjadi Asisten Dosen mata kuliah Mikrobiologi Terapan dan Mikrobiologi Umum tahun ajaran 2022/2023.

SANWACANA

Alhamdulillah rabbil 'alamiin. Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah karena atas Rahmat, Hidayah, dan Inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Bapak Ir. Susilawati, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Pertama, atas arahan, saran, bantuan, motivasi, dan bimbingan yang telah diberikan selama Perkuliahan dan selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi Penulis.
4. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Kedua, yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Sc., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan saran serta masukan terhadap skripsi penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staf dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung, yang telah mengajari, membimbing, dan juga membantu penulis dalam menyelesaikan administrasi akademik.
7. Kedua orangtua penulis Bapak Sriyono dan Ibu Rini, kakak penulis Yoyok Subagyo dan Ardiyansyah, adik penulis Novita Wulandari, serta keluarga besar penulis yang telah memberikan dukungan material dan semangat, serta do'a yang selalu menyertai penulis selama ini.

8. Teman-teman THP angkatan 2019, terkhusus THP kelas A 2019 yang telah memberikan bantuan, doa, semangat, motivasi, selalu menemani dalam suka maupun duka.
9. Teman-teman kos, Rahmat, Made, Sandi yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada penulis
10. Teman-teman seperjuangan penulis, Afna, Aura, Sela, Al Khasanah, Rifda dll yang selalu setia membantu, menemani, dan mengingatkan penulis dalam dunia perkuliahan dan penelitian.
11. Keluarga besar THP angkatan 2019 terima kasih atas perjalanan, kebersamaan serta seluruh cerita suka maupun dukanya selama ini. Adik-adik dan kakak-kakak yang telah membantu selama perkuliahan, penelitian, sampai penyelesaian skripsi penulis.

Penulis berharap semoga Allah membalas seluruh kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Bandar Lampung, 13 Mei 2023

TEGAR SURYAWAN

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang dan Masalah	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Kerangka Pemikiran	3
1.4. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Tempe	6
2.2. Tempe <i>Modyfied Yeast</i>	8
2.3. Probiotik	9
2.4. <i>Rhizopus oligosporus</i>	10
2.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
2.6. <i>Escherecia coli</i>	13
2.7. Pengujian <i>In Vivo</i>	14
2.8. Hewan Percobaan	15
III. METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2. Bahan dan Alat	18
3.3. Metode Penelitian.....	19
3.4. Pelaksanaan Penelitian dan Pengamatan	20

3.4.1.	Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.4.2.	Pengamatan Penelitian.....	24
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1.	Perhitungan Jumlah Khamir pada Tepung Tempe	27
4.2.	Evaluasi Probiotik Secara <i>In Vivo</i>	29
4.2.1.	Jumlah <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Usus Mencit ...	29
4.2.2.	Jumlah <i>Escherechia coli</i> pada Usus Mencit	31
4.3.	Pengaruh terhadap Profil Darah Mencit	33
4.3.1.	Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit) Mencit	33
4.3.2.	Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit) Mencit.....	34
4.3.3.	Kadar Hemoglobin Darah Mencit.....	36
V.	KESIMPULAN	38
5.1.	Kesimpulan.....	38
5.2.	Saran.....	38
	DAFTAR PUSTAKA	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015	7
2. Kandungan gizi tempe per 100 g	7
3. Konsentrasi kandungan isoflavon dalam bentuk aglikon Genistein, Daidzein, dan Glycitein; Vit B12 dan asam folat, dalam tempe yang difermentasi dengan penambahan yeast.	8
4. Sifat Biologis Mencit (<i>Mus musculus</i> L)	16
5. Pembagian Kelompok dan Perlakuan Mencit	19
6. Komposisi ransum standar AIN 93-M	20
7. Uji lanjut BNT ($\alpha=0,05$) jumlah khamir pada usus mencit.	29
8. Uji lanjut BNT ($\alpha=0,05$) jumlah <i>Escherechia coli</i> pada usus mencit.	31
9. Uji lanjut BNT ($\alpha=0,05$) kadar sel darah merah mencit.	33
10. Uji lanjut BNT ($\alpha=0,05$) sel darah putih mencit.	35
11. Uji Lanjut BNT ($\alpha=0,05$) kadar hemoglobin darah mencit.	36
12. Perhitungan total <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada usus mencit.....	47
13. Uji Homogenitas total <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada usus mencit....	47
14. Analisis ragam total <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada usus mencit.....	47
15. Uji BNT <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada usus mencit	47
16. Perhitungan total <i>Escherechia coli</i> pada usus mencit	48
17. Uji Homogenitas total <i>Escherechia coli</i> pada usus mencit.....	48
18 Analisis ragam total <i>Escherechia coli</i> pada usus menci	48
19. Uji BNT <i>Escherechia coli</i> pada usus mencit	49
20. Perhitungan jumlah eritrosit pada darah mencit.....	49
21. Uji homogenitas jumlah eritrosit pada darah mencit	49
22. Analisis ragam jumlah eritrosit pada darah mencit.....	50
23. Uji BNT jumlah eritrosit pada darah mencit.....	50

24. Perhitungan jumlah leukosit pada darah mencit	50
25. Uji homogenitas jumlah leukosit pada darah mencit	51
26. Analisis ragam jumlah leukosit pada darah mencit.....	51
27. Uji BNT jumlah leukosit pada darah mencit	51
28. Perhitungan kadar hemoglobin pada darah mencit	52
29. Uji homogenitas kadar hemoglobin pada darah mencit.....	52
30. Analisis ragam kadar hemoglobin pada darah mencit	52
31. Uji BNT kadar hemoglobin pada darah mencit	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram alir pembuatan tempe termodifikasi.....	21
2. Diagram alir pembuatan 100 gram ransum mencit (AIN 93-M)	23
3. Koloni dan faktor pengencer tepung tempe	27
4. Jumlah <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dalam usus mencit (a) tempe <i>modyfied</i> , (b) tempe komersil, dan (c) kontrol	30
5. Jumlah <i>Escherechia coli</i> dalam usus mencit (a) kontrol, (b) tempe komersil, dan (c) tempe <i>modyfied</i>	32
6 Perendaman kedelai	53
7. Perebusan kedelai.....	53
8. Pemisahan kulit ari.....	53
9. Penirisan.....	53
10. Penimbangan kedelai	53
11. Pencampuran dengan inokulum	53
12. Tempe <i>modyfied</i> jam ke-0	54
13. Tempe jam ke-36.....	54
14. Pengeringan tempe	54
15. Penggilingan tempe.....	54
16. Tepung tempe.....	54
17. Penimbangan dan pengadukan bahan	54
18. Ransum standar Ain 93-M	54
19. Kondisi lingkungan kandang mencit.....	55
20. Pemberian makan secara <i>ad libitum</i>	55
21. Pencekakan tepung tempe.....	55
22. Mencit dibedah.....	55
23. Proses homogenisasi usus dengan larutan pengencer	55

24. Persiapan media EMBA dan MEA	55
25. Inokulasi	55
26. Inkubasi 24-48 jam.....	55
27. Jumlah <i>S.cerevisiae</i> (kontrol).....	56
28. Jumlah <i>S.cerevisiae</i> (tempe komersil)	56
29. Jumlah <i>S.cerevisiae</i> (tempe modyfied)	56
30. Jumlah <i>E.coli</i> (kontrol).....	56
31. Jumlah <i>E.coli</i> (tempe komersil)	56
32. Jumlah <i>E.coli</i> (tempe modyfied)	56
33. Penghomogenan darah pada EDTA	57
34. Analisis hematologi darah mencit.....	57

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Tempe adalah salah satu makanan yang diolah melalui proses fermentasi kacang kedelai dengan kapang *Rhizopus oligosporus* (Rizal dkk, 2018). Fermentasi tempe merupakan fermentasi dua tahap yaitu fermentasi oleh aktivitas bakteri yang berlangsung selama proses perendaman kedelai, serta dalam proses fermentasi kapang yang berlangsung setelah diinokulasi dengan kapang. Kapang ini (*Rhizopus oligosporus*) menghasilkan senyawa fenol yang berperan sebagai zat anti inflamasi, antioksidan dan antimikroba (Kustyawati, 2009). Tempe merupakan salah satu dari sekian banyak makanan asli Indonesia. Makanan ini memiliki nilai gizi yang tinggi terutama protein, selain harganya lebih murah dibandingkan dengan sumber protein yang berasal dari hewani, selain sebagai lauk pauk untuk makan, sekarang tempe juga dikembangkan menjadi makanan ringan yang banyak digemari oleh berbagai kalangan usia.

Tempe dapat dijadikan sebagai pangan fungsional karena kandungannya. Menurut Susanto dan Kristiningrum (2021), pangan fungsional adalah pangan segar dan/atau olahan yang mengandung komponen yang bermanfaat dalam meningkatkan fungsi fisiologis tertentu, dan/atau dapat mengurangi risiko sakit yang dibuktikan berdasarkan kajian ilmiah, harus menunjukkan manfaatnya dengan jumlah yang biasa dikonsumsi sebagai bagian dari pola makan sehari-hari, yang harus tetap dalam bentuk pangan, bukan dalam bentuk pil atau kapsul. Selama ini tempe diketahui memiliki sifat fungsional seperti antioksidan, antimikroba, dan antidiare. Menurut Kustyawati et al (2020), mengonsumsi makanan berbasis kedelai memiliki manfaat kesehatan karena bahan fungsionalnya, terutama isoflavon. Pada kedelai, isoflavon berada dalam bentuk isoflavon glikosida. Selain itu, fermentasi kacang kedelai menjadi tempe

menggunakan penambahan kultur *Saccharomyces cerevisiae* mengandung vitamin B₁₂ sebesar $3.15 \pm 0.70/\text{Mcg}100 \text{ g}^{-1}$ (Kustyawati et al, 2020).

Saccharomyces cerevisiae adalah khamir sejati tergolong *eukariot* yang secara morfologi hanya membentuk *blastospora* berbentuk silindris, lonjong, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya. Keunggulan lain yang dimiliki oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* adalah mempunyai kemampuan sebagai imunostimulan, yaitu senyawa beta (1,3 dan 1,6) glukukan atau di kenal dengan istilah b-D glukukan yang terkandung pada bagian dinding sel *Saccharomyces cerevisiae*. Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai probiotik yaitu menambah jumlah mikroba yang menguntungkan, tetapi berbeda dengan antibiotik yang dapat membunuh mikroba yang merugikan maupun menguntungkan tubuh, dan mempunyai efek resistensi (Kustyawati, 2020).

Menurut Kavita et al (2015), istilah Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti untuk kehidupan dan digunakan untuk mendefinisikan organisme nonpatogen yang hidup dan efek menguntungkan yang diperolehnya pada inang. Probiotik dapat menyeimbangkan populasi mikroba pada saluran pencernaan, mengendalikan mikroorganisme patogen pada tubuh inang, lingkungan, dan menstimulasi imunitas inang. Probiotik yang efektif harus memenuhi beberapa kriteria seperti, memberikan efek yang menguntungkan pada inang, tidak patogenik dan tidak toksik, mengandung sejumlah besar sel hidup, mampu bertahan dan melakukan kegiatan metabolisme dalam usus, tetap hidup selama dalam penyimpanan dan waktu digunakan, mempunyai sifat sensori yang baik, dan diisolasi dari inang. Pada sisi probiotik terjadi mekanisme molekuler probiotik yang dipicu oleh interaksi mikroba dengan sel epitel. Umumnya mekanisme yang terjadi yaitu dengan menghambat pertumbuhan faktor virulensi, memodulasi mukosal dan respon imun sistemik, mencegah kolonisasi dari bakteri patogen, serta meningkatkan integritas *barrier gastrointestinal* (Kustyawati, 2020).

Pemeriksaan hematologi merupakan pemeriksaan untuk mengetahui keadaan darah dan komponen-komponennya antara lain meliputi kadar hemoglobin, jumlah eritrosit dan jumlah leukosit dan jenis leukosit dalam darah (Handayani et

al, 2013). Pemeriksaan hematologi ini dianggap sangat penting karena berkaitan dengan kondisi atau keadaan pasien secara menyeluruh yang bertujuan untuk mendeteksi adanya infeksi yang disebabkan oleh parasit, virus, bakteri dan berbagai senyawa kimia yang berbahaya bagi tubuh (Rahardjo et al., 2011 dan Widyastuti, 2013). Sejauh ini belum pernah dilaporkan pengaruh pemberian tempe *modyfiead S.cerevisiae* terhadap profil darah dalam kondisi fisiologis tubuh normal. Maka dari itu dari seluruh penjelasan diatas akan dilakukan evaluasi lebih lanjut secara *in vivo* menggunakan mencit dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tempe *modyfied Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus* sebagai makanan probiotik terhadap usus mencit, serta mengetahui profil darah mencit setelah mengkonsumsi tempe *modyfied* tersebut.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Mengetahui *viabilitas* (kemampuan hidup) *Saccharomyces cerevisiae* pada tempe secara *in vivo* dalam usus mencit.
2. Mengetahui pemberian tempe *modyfied Saccharomyces cerevisiae* terhadap profil darah.

1.3. Kerangka Pemikiran

Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi tempe berpengaruh terhadap kandungan beta-glukan tempe dan kandungan beta-glukan tertinggi terdapat pada tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 3% yaitu sebesar 0,25% (Rizal dan Kustyawati, 2019). Menurut Kustyawati dkk (2013), Khamir *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme yang dapat menghasilkan amilase cukup berpotensi selain kapang dan bakteri. Khamir ini dapat dijadikan sumber probiotik yang berfungsi untuk mempermudah dalam meningkatkan hubungan keseimbangan mikroba pada membran usus. *Saccharomyces cerevisiae* tergolong *eukariot* yang membentuk *blastopore*

berbentuk silindris, bulat, lonjong, ogival (berbentuk bulat panjang dan berbentuk runcing pada salah satu bagian ujungnya), yang dipengaruhi oleh strainnya.

Pertimbangan mikroba yang berpotensi untuk menjadi kultur probiotik yaitu ketahanan terhadap garam dan asam empedu. Hal ini dikarenakan kultur dapat tumbuh dan bertahan dalam saluran pencernaan. Kultur probiotik harus melewati beberapa rintangan, misalnya seperti sekresi garam empedu pada usus yang berpengaruh buruk bagi kultur mikroba dan keasaman lambung. Mikroba probiotik yang digunakan secara oral lebih tahan terhadap getah pankreas, mucus pada usus, enzim amilase dan lisozim dalam mulut, pH rendah pada lambung, asam empedu, dan enzim lipase (Dwidjoseputro, 2010).

Menurut Kustyawati (2020), probiotik kebanyakan tergolong dalam kelompok bakteri penghasil asam laktat yang biasanya dikonsumsi di dalam sediaan pangan yogurt, fermentasi susu atau fermentasi makanan lainnya yang memiliki manfaat yaitu meningkatkan kesehatan saluran pencernaan, meningkatkan sintesis dan bioavailabilitas nutrisi, meningkatkan sistem imun tubuh, menurunkan gejala intoleransi laktosa, dan menurunkan bahaya timbulnya kanker tertentu. Manfaat kesehatan probiotik yang paling penting menurut Kustyawati (2020) adalah sebagai pencegahan diare, perubahan dalam konjugasi garam empedu, konstipasi, anti inflamasi, dan peningkatan aktivitas antibakteri. Menurut Rizal dan Kustyawati (2019), penambahan *S.cerevisiae* 3% pada fermentasi tempe menghasilkan β -glukan sebesar 0,25%. β -glukan yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* dapat menjadi anti mikroba terhadap *Escherichia coli*. Maka dari itu, *Saccharomyces cerevisiae* pada tempe yang dikonsumsi manusia dapat hidup dalam usus dan mampu melewati kondisi garam dan asam empedu, sehingga ini dapat menjadi makanan probiotik yang mampu menurunkan jumlah *Escherichia coli* dalam usus.

Skripsi Noviani (2021) yang tidak di publikasi, belum meneliti mengenai profil darah mencit yang telah di cekokan tempe *modified S.cerevisiae*. Berdasarkan penelitian Kustyawati et al (2020), tempe *modified S.cerevisiae* mengandung vitamin B₁₂ sebesar $3.15 \pm 0.70/\text{Mcg}100 \text{ g}^{-1}$. Menurut Nugroho dan Sartika (2018), defisiensi vitamin B₁₂ dapat menyebabkan anemia pernisiiosa yang dikenal

juga sebagai anemia *Biermer's anemia Addison*, atau *Biermer anemia Addison* yang merupakan salah satu dari banyak jenis keluarga besar anemia megaloblask. Selain itu juga, dalam penelitian Kustyawati (2009), pembuatan tempe *modified Saccharomyces boulardii* menghasilkan zat besi sebesar 3,95 gram/100 gram. Menurut Amalia dan Tjiptaningrum (2016), anemia defisiensi besi adalah anemia akibat berkurangnya zat besi dalam darah sebagai bahan utama sintesis hemoglobin. Dengan demikian, pemberian tempe *modified Saccharomyces cerevisiae* yang dikonsumsi mencit mampu memperbaiki profil darah mencit tersebut.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. *Saccharomyces cerevisiae* dapat hidup dan tumbuh pada tempe dan usus mencit sehingga dapat dijadikan makanan probiotik yang mampu menurunkan jumlah *Escherechia coli* pada usus mencit.
2. Tempe *modified Saccharomyces cerevisiae* dapat memperbaiki profil darah mencit..

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tempe

Tempe adalah salah satu makanan khas yang tersebar luar dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Umumnya, di Indonesia tempe yang terbuat dari bahan baku kedelai. Kapang *Rhizopus oligosporus* adalah salah satu kapang yang berperan dalam proses fermentasi kedelai (Kustyawati dkk, 2016). Tempe terbuat dari hasil proses fermentasi kedelai kupas yang sudah direbus dengan kapang tertentu, lalu terbentuk padatan kompak serta dapat mengeluarkan aroma khas dengan ciri fisik berwarna putih atau sedikit keabu-abuan (BSN, 2015). Spesies kapang *Rhizopus* lain yang berada dalam tempe diantaranya *R. oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, dan *R. stolonifer* (Rahayu dkk, 2015). Pembuatan tempe meliputi pencucian kedelai, perebusan, perendaman, pengupasan kulit kedelai, inokulasi, pembungkusan, dan tahapan fermentasi. Jenis pembungkus yang dapat digunakan sebagai pembungkus tempe dan sering digunakan adalah menggunakan daun pisang dan menggunakan plastik polyethylene yang sedikit dilubangi.

Tempe memiliki ciri-ciri, diantaranya yaitu berwarna putih sedikit keabuan, flavor spesifik, dan tekstur kompak. Miselia jamur menyelimuti permukaan biji kedelai ini menyebabkan warna putih pada tempe dan miselia yang saling terhubung antar biji kedelai menyebabkan tekstur tempe lebih kompak. Degradasi berbagai komponen dalam kedelai membentuk flavor spesifik setelah fermentasi. Syarat mutu tempe kedelai menurut Standar Nasional Indonesia 01-3144-2015 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan		
	Bau	-	Bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak
	Warna	-	Putih merata pada seluruh permukaan
	Tekstur	-	Kompak, jika diiris tetap (tidak mudah rontok)
2.	Kadar Air	Fraksi massa %	Maks. 65
3.	Kadar Lemak	Fraksi massa %	Min. 7
4.	Kadar Protein (Nx5,71)	Fraksi massa %	Min. 15
5.	Kadar Serat Kasar	Fraksi massa %	Maks. 2,5
6.	Cemaran Logam		
	Kadmium (Cd)	Mg/kg	Maks. 0,2
	Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks. 0,25
	Timah (Sn)	Mg/kg	Maks. 40
	Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maks. 0,03
7.	Cemaran Arsen	Mg/kg	Maks. 0,25
8.	Cemaran Mikroba		
	<i>Coliform</i>		Maks. 10
	<i>Salmonella sp.</i>	APM/g	Negatif/25 g

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2015)

Berbagai unsur yang terdapat dalam tempe diantaranya protein, vitamin, lemak, serat, dan komponen antibakteri. Kapang yang tumbuh dapat menyebabkan lemak, protein, dan karbohidrat menjadi lebih mudah untuk dicerna tubuh.

Kandungan gizi pada tempe dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan gizi tempe per 100 g

Komposisi	Jumlah
Kalori (kkal)	201
Air (gram)	55,3
Protein (gram)	20,8
Lemak (gram)	8,8
Serat (gram)	1,4
Kalsium (mg)	155
Fosfor (mg)	326
Zat Besi (mg)	4
Abu (gram)	1,6
Vitamin B (mg)	0,19

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2012)

2.2. Tempe *Modified Yeast*

Tempe *modified Yeast* adalah tempe yang dalam pembuatannya ditambahkan kultur murni *Yeast*, seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, dll. Pada penelitian Kustyawati (2009) mengenai kajian yeast dalam pembuatan tempe telah ditemukan bahwa yeast dapat tumbuh bersama dengan *Rhizopus oligosporus*, dan pertumbuhannya dapat mendorong pertumbuhan kapang pada tempe dan mengubah penampakan dan flavor tempe. Pertumbuhan bakteri tidak dipengaruhi oleh yeast. Yeast merupakan bagian dari mikroflora fermentasi pangan yang peranannya bervariasi tergantung jenisnya. Analisis kimiawi pembuatan tempe dengan berbagai penambahan *yeast* menurut penelitian Kustyawati (2009) dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi kandungan isoflavon dalam bentuk aglikon Genistein, Daidzein, dan Glysitein; Vit B12 dan asam folat, dalam tempe yang difermentasi dengan penambahan yeast.

No	Jenis inokulum tempe	Genestein (%)	Daidzein (%)	Glysitein (%)	Vit B12 (Mcg/100g)	Asam Folat (μ g/100g)
1	Kedelai saja tanpa inokulum	0,29	0,71	0,23	3,68	69,23
2	Kedelai + <i>R. oligosporus</i>	0,41	0,77	0,32	3,79	72,76
3	Kedelai + <i>R. oligosporus</i> + <i>S. boulardii</i>	0,38	0,78	0,34	3,95	89,28
4	Kedelai + <i>R. oligosporus</i> + <i>G. candidum</i>	0,38	0,76	0,34	3,76	62,45
5	Kedelai + <i>R. oligosporus</i> + <i>Y. lipolytica</i>	0,36	0,67	0,27	3,92	19,62
6	Kedelai + <i>R. oligosporus</i> + <i>A. pullulans</i>	0,38	0,66	0,37	3,58	20,21

Tempe (tempe kedelai) merupakan sumber isoflavon yang sangat potensial. Isoflavon dalam tempe merupakan bentuk isoflavon bebas atau aglikon genistein, daidzein, dan glisitein karena telah mengalami hidrolisis selama fermentasi.

Mikroba seperti bakteri, algae, lumut, dan jamur tidak mampu mensintesis senyawa tersebut tetapi mikroba tertentu mampu melakukan transformasi (Kustyawati, 2009). Selain itu, pada penelitian Rizal dan Kustyawati (2009), Kandungan beta-glukan tempe yang dimasak dengan cara digoreng dengan penambahan *S.cerevisiae* 1% yaitu sebesar 0,181% w/w berat kering dan penambahan *S.cerevisiae* 3% yaitu sebesar 0,250% w/w berat kering.

2.3.Probiotik

Probiotik merupakan mikroba hidup yang dapat memberikan keuntungan bagi inang yaitu dengan cara mengatur keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan, meningkatkan respon imun, meningkatkan efisiensi dan pemanfaatan pangan, serta memperbaiki kualitas lingkungan. Probiotik memiliki kemampuan merangsang sistem pertahanan tubuh melawan penyakit atau meningkatkan kemampuan penyerapan usus sekaligus menekan populasi patogen (Verschuere et al, 2000). Beberapa bakteri yang telah digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus subtilis*. Umumnya kapang yang digunakan sebagai probiotik adalah *Saccharomyces cerevisiae* dan *Aspergillus oryzae*. Probiotik tidak menimbulkan residu, tidak diserap oleh pencernaan inang dan tidak menyebabkan mutasi pada mikroorganisme lain. Terdapat 3 hal yang harus dipenuhi oleh mikroorganisme probiotik: (1) jumlahnya tercukupi; (2) mikroorganisme dalam kondisi hidup saat dikonsumsi dan mampu berkolonisasi di kolon (usus besar); (3) dapat membawa manfaat terhadap kesehatan tubuh (Rahayu dan Utami, 2019).

Probiotik memberikan efek fisiologis seperti anti hipertensi, anti kolesterol, intoleran laktosa, gangguan saluran pencernaan, anti karsinogenik, serta alergi. Penambahan probiotik harus memperhatikan konsentrasi karena untuk menjaga kesehatan inangnya, yaitu dengan kisaran 10^7 - 10^{11} CFU/g per hari untuk manusia dan 10^7 - 10^9 /g per hari untuk hewan, dengan konsentrasi tersebut maka probiotik dapat berperan untuk menurunkan kadar kolesterol (Ooi dan Min-Tze, 2010). Manfaat probiotik bagi kesehatan tubuh yaitu untuk meningkatkan *imun respons*, mencegah atau mengatasi diare, *inflammatory bowel disease* (IBD), eradikasi oleh *Helicobacter pylori*, *irritable bowel syndrome* (IBS), kanker kolon, *necrotizing*

enterocolitis, *lactose malabsorption*, infeksi sistemik, dan alergi. Saat ini probiotik tidak hanya dikaitkan dengan kesehatan saluran cerna saja, namun juga dengan berbagai penyakit. Di antaranya adalah obesitas dan diabetes tipe II (Rahayu dan Utami, 2019).

Bakteri probiotik yang paling banyak beredar di pasaran adalah strain dari *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Kedua bakteri ini sering dikenal sebagai bakteri penghuni usus yang baik. Makanan probiotik mengandung bakteri baik yang dalam kondisi hidup dapat meningkatkan populasi dalam usus dan dapat menjaga keseimbangan mikrobiota usus (Rahayu dan Utami, 2019). Menurut Budianyah (2004), probiotik dapat menstimulasi mukosa dalam meningkatkan sistem imunitas tubuh hewan inang. Mikroorganisme probiotik mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh hewan inang dengan cara mengeluarkan toksin yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen dalam saluran pencernaan. Berbagai toksin yang dihasilkan adalah antibiotik bagi mikroorganisme patogen, sehingga penyakit yang ditimbulkan oleh mikroorganisme tersebut dapat hilang. Maka dari itu, hal ini memberikan keuntungan terhadap kesehatan inang sehingga tahan terhadap serangan penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen.

2.4. *Rhizopus oligosporus*

Proses fermentasi kedelai menjadi tempe membutuhkan mikroba yang berfungsi menjaga kedelai supaya tidak busuk. Menurut Dewi dan Aziz (2011), *Sporangia globosa* yang pada saat masak berwarna hitam kecoklatan, dengan diameter berkisar 100-180 μm . *Rhizopus oligosporus* termasuk jenis *zygomycota* yang dimanfaatkan dalam pembuatan tempe kedelai (Wahyudi, 2018). *Rhizopus oligosporus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai biru kecoklatan dengan tinggi berkisar 1mm. Diameter *Rhizopus oligosporus* berkisar antara 10-18 μm dengan panjang lebih dari 1000 μm , memiliki *sporangiofor* tunggal atau dalam kelompok dengan dinding halus atau agak sedikit kasar. Ukuran *spongiospora* jamur tidak teratur berupa *globosa* atau *elip* dengan panjang berkisar antara 7-10 μm . Umumnya *Rhizopus oligosporus* sering dikenal sebagai kapang yang mampu

memproduksi enzim lipase yang berfungsi untuk merombak lemak media serta mampu memproduksi asam lemak omega-3 rantai panjang khususnya *linoleat*. *Rhizopus oligosporus* dapat menghasilkan asam *linoleat* pada proses fermentasi cair ampas kelapa sawit.

Proses fermentasi tempe *R. oligosporus* menghasilkan enzim *fitasei* yang memecah fitat membuat komponen makro pada kedelai dipecah menjadi komponen mikro sehingga tempe lebih mudah dicerna dan zat gizinya lebih mudah terserap tubuh (Wahyudi, 2018). Kapang memiliki struktur morfologi yang tersusun atas dua bagian yaitu spora dan miselium. Miselium adalah kumpulan dari hifa yang berupa serabut-serabut halus seperti kapas yang tumbuh diatas atau dibawah permukaan medium. Permukaan hifa berasal dari spora yang melakukan germinasi membentuk *tube germ* yang akan tumbuh menjadi miselium. Suhu perkembangan dan pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* yang baik pada suhu 30-35⁰C dengan waktu berkembang 48 jam dan memiliki ciri-ciri hifa seperti memiliki rhizoid, benang berwarna putih hingga kelabu hitam serta tidak bersekat, dan *sporangiospora*.

2.5. *Saccharomyces cerevisiae*

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* adalah organisme penghasil amilase yang cukup berpotensi, selain bakteri dan kapang. Enzim amilase diproduksi di luar sel oleh beberapa jenis khamir *S.diaticus*, *Saccharomycopsis fibuliger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schwaniomyces occidentalis*, dan *Candida* serta *Pichia* (Kustywati dkk, 2013). *Saccharomyces cerevisiae* tergolong eukariot dengan membentuk blastopore berbentuk lonjong, silindris, bulat, ogival (berbentuk bulat panjang dan memiliki bentuk runcing pada salah satu bagian ujungnya), yang dipengaruhi oleh strainnya. *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai dinding sel yang memiliki potensi sebagai imunostimulan (Kustywati, 2020). Dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* yang masih muda tipis dan lentur, sedangkan yang tua memiliki dinding sel yang tebal dan kaku. Dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* terdiri atas kitin dan berkembang biak secara aseksual dan seksual dengan cepat. Reproduksi khamir ini dipengaruhi oleh

nutrisi, suhu, pH, oksigen, a_w dan antimikroba yang tersedia bagi pertumbuhan sel (Kustyawati, 2016).

Taksonomi *Saccharomyces cerevisiae* menurut Zely (2014), yaitu sebagai berikut:

Super kingdom	: Eukariota
Filum	: Fungi
Subfilum	: Ascomycota
Kelas	: Saccharomycetes
Orde	: Saccharomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang berperan penting dalam industri fermentasi serta mampu memfermentasi berbagai karbohidrat. Mendegradasi pati dan menghasilkan alkohol membuat mikroba ini banyak digunakan dalam industri pangan serta kemampuannya tersebut dapat tercapai dengan optimum jika pada pH rendah (Kustyawati dkk, 2013). Enzim α -amilase dan *glukoamilase* yang dihasilkan *Saccharomyces cerevisiae* berperan untuk mempercepat penguraian pati menjadi glukosa dan maltosa (degradasi pati), sedangkan Enzim ekstraseluler, khususnya α -amilase akan memutus ikatan glikosidik α (1,4) yang merupakan penyusun pati. Aktivitas enzim α -amilase dapat memutus ikatan rantai lurus α (1,4) *glikosidik* pada amilosa sehingga struktur rantai amilosa menjadi lebih sederhana dan hal ini akan mengakibatkan penurunan kadar amilosa.

Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan tempe kedelai dapat memperbaiki kandungan gizi tempe yang dihasilkan. *Saccharomyces cerevisiae* yang ditambahkan dalam fermentasi dapat menghasilkan kandungan beta-glukan (Rizal dan Kustyawati, 2019). Hal ini dibuktikan dengan peningkatan jumlah kandungan beta-glukan seiring dengan meningkatnya jumlah khamir yang ditambahkan. Penelitian yang dilakukan oleh Rizal dan Kustyawati (2019), menghasilkan kandungan beta-glukan sebesar 0,25% pada tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 3%. Tempe modifikasi yang ditambahkan

Saccharomyces cerevisiae 1% dan 2% memiliki tampilan warna putih miselia yang menutupi seluruh tempe dan tekstur yang kompak mirip dengan tempe biasa.

2.6. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri flora normal yang sering dijumpai pada usus manusia, bakteri ini bersifat unik karena dapat menyebabkan infeksi primer seperti diare. Menurut Radji (2011), *Escherichia coli* salah satu bakteri Gram negatif yang termasuk dalam family *Enterobacteriaceae*. Menurut Songer and Post (2005), klasifikasi *Escherichia coli* yaitu sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Proteobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk pada family *Enterobacteriaceae* yang merupakan bakteri gram negative yang berbentuk batang pendek atau sering disebut *kokobasil*. Bakteri ini mempunyai flagel, yang berukuran dengan kisaran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm dan memiliki simpai (Radji, 2011).

E. coli memiliki panjang kurang lebih berkisar 2 μm , lebar 0,4-0,7 μm , diameter 0,7 μm , dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* juga memiliki bentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Hidayati dkk, 2016). Bakteri ini menjadi patogen apabila jumlahnya lebih dari normal yang ada didalam tubuh. Bakteri ini juga dapat menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan diare (Jawetz dkk, 2005). Banyak dari strain *Escherichia coli* yang berevolusi kemudian menghasilkan kemampuan virulens yang dapat menginfeksi inangnya. Pada

beberapa jenis *Escherichia coli* juga yang patogen dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih (Prescott, 2008)

2.7. Pengujian *In Vivo*

Tipe evaluasi pakan *in vivo* adalah suatu metode penentuan kecernaan pakan menggunakan hewan percobaan dengan analisis pakan dan feses. Kecernaan adalah gambaran mengenai kemampuan ternak dalam memanfaatkan pakan. Kemampuan ternak dalam mencerna suatu bahan pakan berbeda-beda tergantung umur dan jenis ternak. Nilai kecernaan yang tinggi dapat menunjukkan bahwa ternak efektif dalam memanfaatkan bahan pakan yang diberikan. Dengan metode *in vivo* dapat diketahui pencernaan bahan pakan yang terjadi di dalam seluruh saluran pencernaan ternak, dengan demikian nilai kecernaan pakan yang diperoleh mendekati nilai sebenarnya. Nilai kecernaan dapat ditentukan dengan dilakukan beberapa teknik antara lain yaitu teknik *in vivo*, *in sacco* dan *in vitro* (Campbell et al, 2003). Dari ketiga teknik tersebut, teknik yang menghasilkan data paling akurat yaitu teknik *in vivo*.

Teknik *in vivo* merupakan suatu pengukuran kecernaan bahan pakan dengan menggunakan ternak secara langsung (Novianti et al., 2014). Keunggulan dari teknik *in vivo* yaitu memiliki tingkat keakuratan yang tinggi serta memberikan hasil yang paling baik, sedangkan kekurangan dari teknik ini yaitu membutuhkan waktu yang lama serta membutuhkan biaya yang mahal. Daya cerna adalah persentase *nutrient* yang diserap dalam saluran pencernaan yang hasilnya akan diketahui dengan melihat selisih antara jumlah *nutrient* yang dikonsumsi dengan jumlah *nutrient* yang dikeluarkan dalam feses.

Menurut Budiman dkk (2006), perhitungan kecernaan (semu) bahan pakan adalah sebagai berikut:

$$\text{Kecernaan} = \frac{\text{Nutrient pakan} - \text{Nutrient feses}}{\text{Nutrient pakan}} \times 100\%$$

Selain metode konvensional, evaluasi pakan berdasarkan sifat anthelmintika saat ini sering dilakukan, artinya selain pertimbangan ketersediaan nutrisi untuk ternak, pada saat yang bersamaan bahan pakan tersebut mempunyai sifat sebagai anti cacing/anti parasit. Dengan metode *in-vivo* dapat diketahui pencernaan bahan pakan yang terjadi di dalam seluruh saluran pencernaan ternak, sehingga nilai pencernaan pakan yang diperoleh mendekati nilai sebenarnya. Koefisien cerna yang ditentukan secara *in-vivo* biasanya 1% sampai 2% lebih rendah dari pada nilai pencernaan yang diperoleh secara *in-vitro*. Dengan demikian, metode *in vivo* lebih akurat daripada metode *in vitro*.

2.8. Hewan Percobaan

Mencit adalah hewan yang termasuk dalam genus *Mus*, sub famili murinae, famili muridae, orde rodentia. Mencit yang sudah dipelihara pada laboratorium sesungguhnya masih satu famili dengan mencit liar. Sedangkan mencit yang paling sering dipakai dalam penelitian biomedis yaitu *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan yang lain, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur 4 minggu berat badannya mencapai kurang lebih antara 18-20 gram. Mencit memiliki karakter lebih aktif pada malam hari daripada siang hari. Diantara spesies hewan lainnya, mencit yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%), hal ini dikarenakan mencit memiliki harga yang murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati, 2004). Mencit dipilih untuk menjadi subyek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Walaupun mencit mempunyai anatomi dan struktur fisik yang jelas berbeda dengan manusia, tetapi mencit merupakan hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokomia yang hampir menyerupai manusia terutama dalam aspek metabolisme glukosa melalui perantaraan hormon insulin. Selain itu, mencit mempunyai jarak gestasi yang pendek untuk berkembang biak (Syahrin, 2006).

Kandang mencit umumnya berupa kotak yang terbuat dari plastik atau metal dengan kawat kasa sebagai penutup bagian atas kandang. Perlengkapan lain yang perlu disiapkan yaitu berupa tempat pakan, tempat minum, dan alas kandang.

Kandang mencit memiliki luas kurang lebih 97 cm²/ekor untuk mencit dewasa sedangkan untuk betina dan anaknya yaitu kurang lebih seluas 390 cm² (Rakhmadi, 2008). Syarat yang harus dipenuhi untuk karakteristik kandang mencit yaitu, kandang harus memiliki luasan yang cukup sehingga mencit bebas bergerak dan mempunyai tempat untuk sarang beranak. Satu kandang biasanya terdiri dari 5-6 ekor mencit. Sebaiknya mencit ditempatkan dalam kondisi yang redup dengan cahaya kurang dari 60 lux terutama untuk mencit albino. Kandang mencit tidak boleh ditempatkan pada daerah yang bising, lembab dan berdebu serta yang paling penting yaitu mencit lebih menyukai tempat yang gelap (Rakhmadi, 2008). Menurut Rakhmadi (2008), konsumsi pakan mencit sangat dipengaruhi oleh aktifitas serta jenis alas yang digunakan dalam kandang mencit. Aktifitas yang tinggi terjadi pada mencit dengan kandang bersekat.

Mencit dapat hidup selama satu sampai tiga tahun, dengan masa kebuntingan yang pendek (18-21 hari) dan masa aktifitas reproduksi yang lama (2-14 bulan) dalam sepanjang hidupnya. Mencit mencapai dewasa pada umur 35 hari dan dikawinkan pada umur 8 minggu (jantan dan betina). Mencit memiliki sifat reproduksi yaitu *poliestrus* yang merupakan siklus estrus (berahi) berlangsung sampai lima hari dan lamanya estrus 12-14 jam. Berat mencit jantan dewasa berkisar antara 20-40 gram sedangkan mencit betina dewasa berkisar antara 18-35 gram. Hewan ini juga dapat hidup pada temperatur 30°C (Smith & Mangkoewidjojo, 1988). Sifat biologis mencit disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Sifat Biologis Mencit (*Mus musculus* L)

Kriteria	Keterangan
Lama hidup	1-3 tahun
Lama produksi ekonomis	9 bulan
Lama bunting	19-21 hari
Lama bunting Kawin sesudah beranak	19-24 jam
Umur saph	21 hari
Umur dewasa kelamin	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu
Siklus estrus	4-5 minggu
Lama estrus	4-5 hari
Berat dewasa jantan	12-14 jam
Berat dewasa betina	20-40 g
Berat lahir	18-35 g

Berat sapih	0,5-1 g
Jumlah anak lahir	6-15 ekor
Jumlah puting susu	5 pasang
Kecepatan tumbuh	1 g/hari
Siklus estrus	4-5 hari

Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988), seekor mencit dewasa dapat mengkonsumsi ransum 3-5 gram setiap harinya dengan abu 5 % dan serat kasar maksimal 4 %. Menurut NRC (1995), kebutuhan zat makanan yang diperlukan dalam pemeliharaan mencit yaitu lemak 5% dan protein kasar 18 %. Kebutuhan mineral mencit dalam sehari berkisar antara 4-8 ml. Anggorodi (1994), menambahkan bahwa ransum seimbang yaitu porsi ransum yang mengandung zat makanan yang cukup untuk pertumbuhan, kesehatan, dan reproduksi.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Laboratorium Bioteknologi Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, serta Laboratorium Patologi dan Laboratorium Bakteriologi, Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Maret 2023.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang kedelai jenis impor (*Soybean* USA no. 1) yang diperoleh dari Way Halim Bandar Lampung, tempe pasaran yang diperoleh dari pasar Untung Suroptai, Bandar Lampung, kultur murni *Rhizopus oligosporus* dan *Saccharomyces cerevisiae*, dan bahan pembantu yang digunakan adalah aquadest, alkohol 70%, *Malt Extract Agar* (MEA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Eosyn Methylen Blue Agar* (EMBA) larutan pengencer (NaCl 0,85%), tabung EDTA, aluminium foil, spiritus, tissue, plastik PP, dan kapas yang diperoleh dari BPPV Bandar Lampung. Pada uji *in vivo*, hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus L.*) jantan strain BALB/C umur 2-3 bulan dengan berat 20g-30g yang diperoleh dari Palembang. Selain itu, bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan ransum adalah pati

jagung, kasein, sukrosa, L-sistein, cholin, minyak kedelai, CMC, vitamin *mix*, dan mineral *mix* yang diperoleh dari *online shoop*.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, batang pengaduk, rak tabung reaksi, baskom, plastik pengemas, lemari pendingin, panci, kompor, mikropipet, pipet tip, bunsen, *vortex*, pipet ukur, *rubber bulb*, timbangan analitik, inkubator, autoklaf, *blood analyzer*, kandang mencit dan alat-alat lain untuk analisis kimia.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan 5 kali ulangan. Penelitian menggunakan 15 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok (Tabel 5). Mencit akan diadaptasikan dalam kandang percobaan selama 7 hari. Setiap kelompok akan diberikan perlakuan komposisi ransum (Tabel 6) dan dipelihara selama 10 hari. Data yang diperoleh diuji keseragamannya dengan menggunakan uji *Bartlett* dan kemenambahan data diuji dengan uji *Tuckey*, selanjutnya data dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan mengetahui pengaruh perlakuan, kemudian data di analisis dengan menggunakan uji BNT pada taraf 5%. Proses perhitungan menggunakan *software* SPSS. Tetapi, untuk uji jumlah khamir pada tepung tempe dilakukan dengan uji deskriptif.

Tabel 5. Pembagian Kelompok dan Perlakuan Mencit

Kelompok	Jumlah Mencit	Perlakuan
I (Kontrol)	5	Mencit tidak dicekok tepung tempe dan diberi ransum standar AIN 93-M.
II	5	Mencit dicekok tepung tempe (tempe yang umum di pasaran) dan diberi ransum standar AIN 93-M.
III	5	Mencit dicekok tepung tempe (kedelai + <i>Rhizopus oligosporus</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>) dan diberi ransum standar AIN 93-M.

Komposisi ransum yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Komposisi ransum standar AIN 93-M

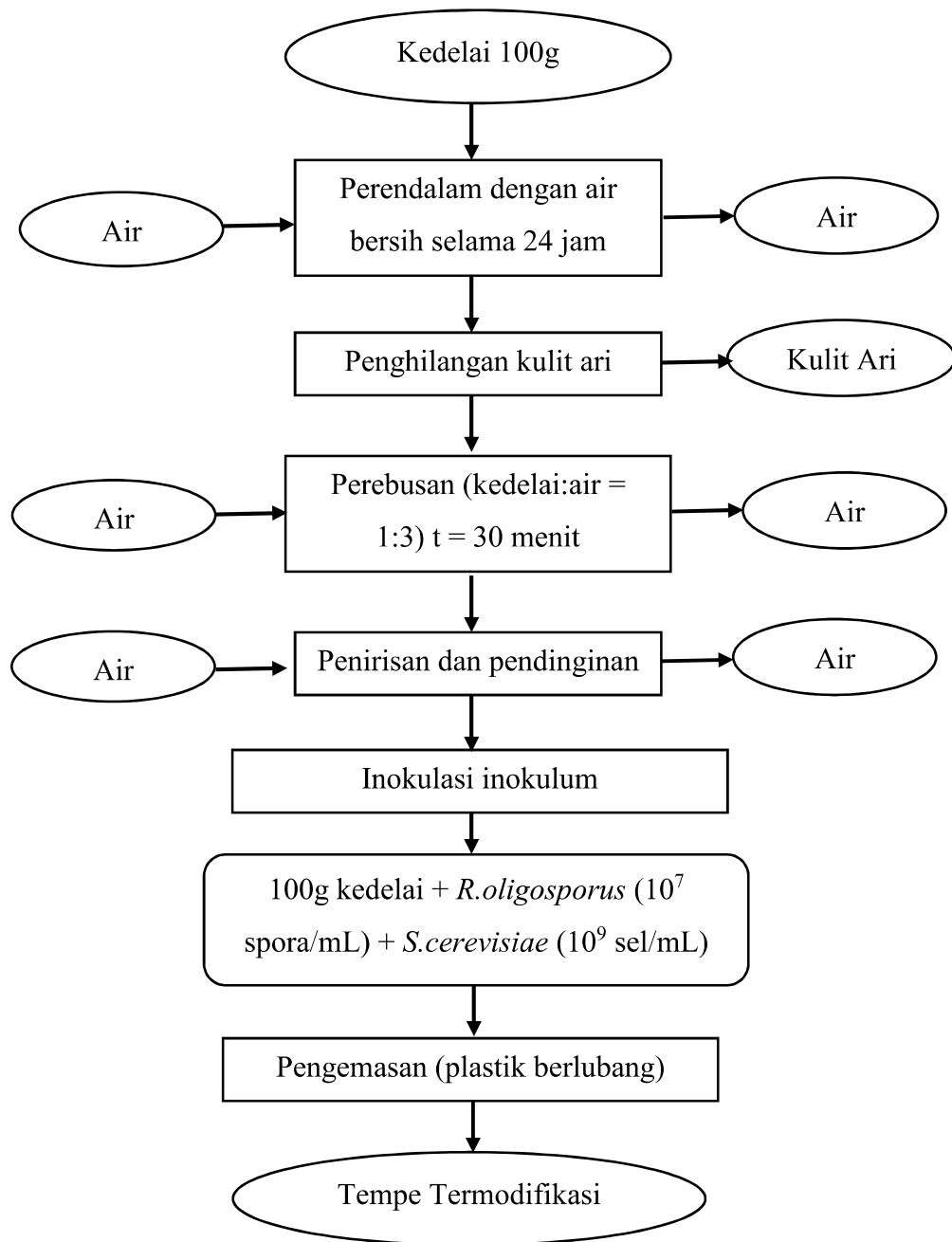
Komposisi (g/100 g)	AIN 93-M
Pati jagung	57
Kasein	14
Minyak kedelai	4
CMC	5
Air	5,07
Mineral mix	3,5
Vitamin mix	1
Sukrosa	10
L-cystine	0,18
Cholin	0,25
Total	100
Kalori	351,6
Protein	12%

3.4. Pelaksanaan Penelitian dan Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan adalah membuktikan potensi probiotik dari tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* pada pengujian *in vivo* yaitu mengetahui kemampuan hidup (*viabilitas*) *Saccharomyces cerevisiae* dalam tempe secara *in vivo* dalam usus mencit dan dapat menurunkan jumlah *Escherichia coli* pada usus mencit serta mengetahui perubahan profil darah pada mencit.

3.4.1. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1.1. Pembuatan Tempe Kedelai

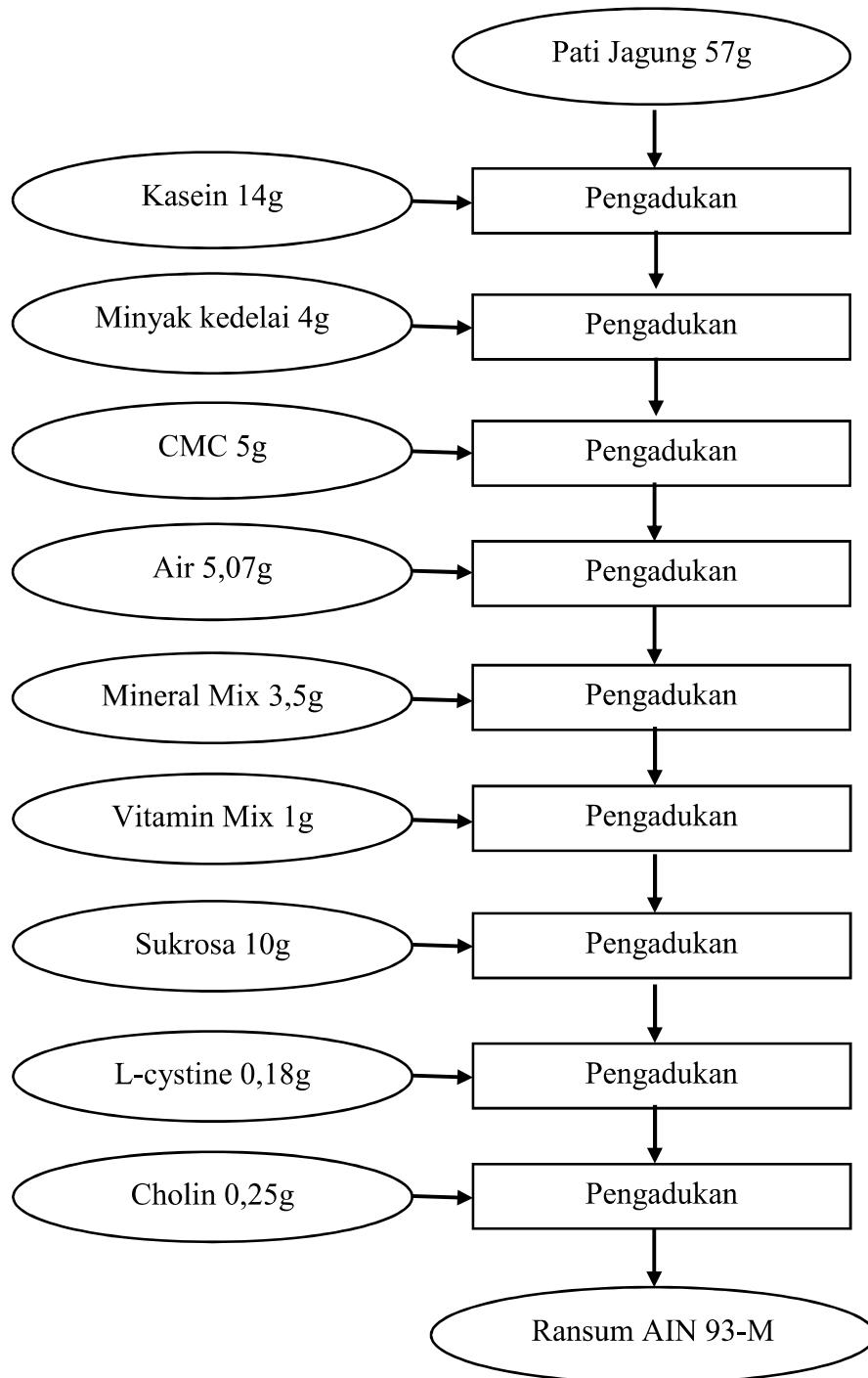


Gambar 1. Diagram alir pembuatan tempe termodifikasi

Sebanyak 100g kedelai direndam dalam air bersih pada suhu ruang selama semalam dan dihilangkan kulit arinya. Setelah itu, kedelai direbus dengan perbandingan 1:3 (kedelai:air bersih) selama waktu 30 menit, lalu ditiriskan dan dikering-anginkan sampai suhu ruang dan siap diinokulasi dengan biakan tertentu. Inokulasi dilakukan sebagai berikut: 100g berat basah kedelai diinokulasi dengan sejumlah 1 mL suspensi 10^7 spora/ml. *R.oligosporus* dan sejumlah 1 mL sel suspensi 10^9 sel/mL khamir *S.cerevisiae*. Setelah tercampur rata, biji kedelai dimasukan dalam plastik pengemas yang telah dilubangi kecil-kecil menggunakan jarum secara teratur untuk tujuan aerasi, kemudian diinkubasi pada suhu 32°C selama 36 jam (Kustyawati, 2009). Setelah tempe jadi lalu tempe di potong kecil-kecil untuk di oven pada suhu 60°C selama 6 jam setelah itu dihaluskan menggunakan *grinder* untuk dijadikan tepung tempe yang akan di cekokan pada mencit. Diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 1.

3.4.1.2. Pembuatan 100 gram Ransum Mencit (AIN 93-M)

Sebanyak 57 gram pati jagung (merk maizenaku) dituang kedalam wadah/baskom. Kemudian ditambahkan kasein (merk susu dancow) sebanyak 14 gram, minyak kedelai (merk sania) sebanyak 4 gram, CMC (merk butterfly) sebanyak 5 gram, air kemasan sebanyak 5,07 gram, mineral mix dan vitamin mix (merk renovit) sebanyak 4,5 gram, sukrosa (merk gulaku) sebanyak 10 gram, *L-cystine* sebanyak 0,18 gram, dan *Cholin* sebanyak 0,25 gram. Kemudian diaduk hingga merata dengan tujuan untuk mendapatkan data yang lebih akurat dan pastikan pakan mencit jangan sampai menggumpal karena supaya mencit dapat mudah memakannya. Diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram alir pembuatan 100 gram ransum mencit (AIN 93-M)

3.4.1.3. Uji Profil Darah Mencit

15 ekor mencit (*Mus musculus L*) jantan strain BALB/C umur 2 - 3 bulan dengan berat 20g - 30g yang diperoleh dari Palembang. Mencit mendapat perlakuan pakan berupa ransum standar AIN 93-M secara *ad libitum* (selalu tersedia) dan air minum. Adaptasi mencit dilakukan selama 7 hari, selanjutnya mencit ditimbang dan dibagi dalam 3 kelompok (Tabel 5). Perbedaan berat badan antar mencit dalam satu kelompok tidak lebih dari 10g, dan perbedaan berat badan mencit antar kelompok tidak lebih dari 5g. Perlakuan diberikan selama 10 hari. Selama 10 hari perlakuan, mencit diberi ransum standar AIN 93-M dan air minum secara *ad libitum* (selalu tersedia). Dosis tepung tempe yang diberikan pada mencit sebanyak 0,25g tepung tempe/kg BB/hari yang diencerkan dengan aquadest menjadi 1 mL. Rata-rata berat mencit pada kandang 1 (perlakuan tempe *modified*), 2 (Perlakuan tempe komersil), dan 3 (kontrol) berturut turut yaitu 23,4g (dicekakan 0,0059 g tepung tempe *modified*/mencit), 24g (dicekakan 0,0060 g tepung tempe komersil/mencit), 24,2g (tidak dicekakan tepung tempe). 1mL larutan tepung tempe decekakan 2 tahap. Pagi dicekakan sebanyak 0,5mL dan sore 0,5mL. Setelah 10 hari perlakuan, mencit diterminasi dan darah diambil melalui *vena ventranalis* dengan cara menyembelih bagian leher mencit menggunakan *cutter*. Darah ditampung dalam tabung *venoject BD Vacutainer K₂ EDTA* 5,4 mg, selanjutnya dilakukan pengujian terhadap parameter yang diuji.

3.4.2. Pengamatan Penelitian

3.4.2.1. Perhitungan Jumlah khamir pada Tepung Tempe

Sampel tepung tempe ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam larutan pengencer (NaCl 0,85%), dan dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} . Pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} diambil 1 mL dan dilakukan penanaman khamir dengan menggunakan metode *spread plate* pada media *Malt Extract Agar* (MEA). Inkubasi pada suhu 32°C selama 24-48 jam. Setelah itu, dihitung dengan metode *Total Plate Count* (TPC).

3.4.2.2. Perhitungan Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* dalam Usus Mencit

Mencit percobaan dalam uji ini dibagi dalam 3 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit (Tabel 5). Dosis tepung tempe yang diberikan pada mencit sebanyak 0,25g tepung tempe/kg BB/hari yang diencerkan dengan aquadest menjadi 1 mL. Dosis yang diberikan mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Hana (2007) yang mengevaluasi ekstrak gula talas untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat dan evaluasi *in vivo* potensi prebiotik. Rata-rata berat mencit pada kandang 1 (perlakuan tempe *modified*), 2 (Perlakuan tempe komersil), dan 3 (kontrol) berturut turut yaitu 23,4g (dicekakan 0,0059 g tepung tempe *modified*/mencit), 24g (dicekakan 0,0060 g tepung tempe komersil/mencit), 24,2g (tidak dicekakan tepung tempe).

Setiap ekor mencit diberi sebanyak 1 mL setiap hari dengan cara dicekok sesuai dengan dosis perlakuan selama 10 hari. 1mL larutan tepung tempe decekakan 2 tahap. Pagi dicekakan sebanyak 0,5mL dan sore 0,5mL. Setelah 10 hari perlakuan, mencit yang akan dibedah diberi bius menggunakan *chloroform*, mencit disembelih menggunakan gunting dan pingset khusus bedah pada bagian perut dan diambil usus besar mencit. Sebelum dilakukan pengambilan usus, terlebih dahulu disiapkan tabung reaksi steril. Usus besar mencit yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril. Dilakukan pengenceran menggunakan larutan pengencer (NaCl 0,85%) hingga 10^{-6} . Pada pengenceran 10^4 , 10^{-5} , dan 10^{-6} diambil 1 mL dan dilakukan penanaman khamir dengan menggunakan metode *spread plate* pada media *Malt Extract Agar* (MEA) dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 24-48 jam. Setelah itu, dilakukan perhitungan khamir dengan metode TPC. Variabel yang diamati adalah adanya bakteri probiotik ditandai dengan terdapat khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam media *Malt Extract Agar* (MEA) yang menunjukkan tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* berperan sebagai makanan probiotik secara *in vivo*.

3.4.2.3. Perhitungan Jumlah Bakteri *Escherichia coli* dalam Usus Mencit

Metode yang digunakan untuk menghitung populasi *Escherichia coli* pada usus mencit adalah metode BAM (*Bacteriological Analytical Methods*) dengan media pertumbuhan *Eosyn Methylene Blue Agar* (EMBA). Mencit yang akan dibedah diberi bius menggunakan *chloroform*, mencit disembelih menggunakan gunting dan pinset khusus bedah pada bagian perut dan diambil usus besar mencit. Sebelum dilakukan pengambilan usus, terlebih dahulu disiapkan tabung sentrifus steril.

Usus besar mencit yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung *reaksi steril*. Selanjutnya dilakukan pengenceran menggunakan larutan pengencer (NaCl 0,85%) hingga 10^{-6} . Kemudian diambil 1 mL dari masing-masing pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dan dilakukan penanaman *E.coli* dengan metode *spread plate* pada media EMBA. Cawan petri kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dan diletakkan dengan posisi terbalik serta diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah *E.coli* dengan metode TPC. Koloni *Escherichia coli* dihitung dengan karakteristik koloni berwarna hijau metalik.

3.4.2.4. Pengamatan Profil Darah Mencit

Parameter yang diamati adalah jumlah sel darah merah (*eritrosit*), jumlah sel darah putih (*leukosit*), dan kadar hemoglobin dengan menggunakan *Blood Analyzer* dilakukan terhadap tempe "*Modified Saccharomyces cerevisiae*" yang digunakan sebagai bahan baku utama uji *in vivo*.

V. KESIMPULAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan yaitu sebagai berikut:

1. *Saccharomyces cerevisiae* dapat hidup dan tumbuh dalam usus mencit.
2. Pemberian tempe *modified* dan tempe komersil berpengaruh nyata terhadap kadar hemoglobin darah mencit.

5.2. Saran

Saran yang diajukan pada penelitian ini adalah perlu dilakuakn penelitian lebih lanjut mengenai profil lipid pada serum darah mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboderin, F.I. and V.O. Oyetayo. 2006. Haematological studies of rats fed different doses of probiotic, *Lactobacillus plantarum*, isolated from fermenting corn slurry. *Pakistan J. Nutr.* 5:102-105.
- Agarwal, N., Kamra, D.N., Chaundhary, L.C., Sahoo, A., and Pathak, N.N. Selection of *Saccharomyces cerevisiae* strains for use as a microbial feed additive. *Letters in Applied Microbiology.* 31: 270-273.
- Ahmad, R.Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk Ternak. *Wartazoa.* 15(1): 1-15.
- Amelia, A., dan Tjiptaningrum, A. 2016. Diagnosis dan Tatalaksana Anemia Defisiensi Besi. *Majority.* 5(5): 166-169.
- Astuti, S., Muchtadi, D., Astawan, M., Purwantara, B., dan Wresdiyati, T. 2009. Kualitas spermatozoa tikus yang diberi tepung kedelai kaya isoflavon, seng (Zn) dan vitamin E. *Media Peternakan.* 32(10): 12-21.
- Budiman, A., Dhalika, T., dan Ayuningsih, B. 2006. Uji Kecernaan Serat Kasar dan Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen (BETN) dalam Ransum Lengkap Berbasis Hijauan Daun Pucuk Tebu (*Saccharum officinarum*). *Jurnal Ilmu Ternak.* 6(2): 132-135.
- Campbell, J. R., M. Douglas Kenealy and Karen L. Campbell. 2003. *Animal Sciences.* 4th Edition. McGraw-Hill, New York.
- Cizek, A., Literak, I., dan Scheer, P. 2000. Survival of *Escherichia coli* 0157 in faeces of experimentally infected rats and domestic pigeons. *Letters in Applied Microbiology.* 31: 349-352.

- Dewi, E., Khairil., dan Mudatsir. 2013. Analisis Potensi Antibakteri The Rosela terhadap Paparan Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 13(2): 77-85.
- Djamil, R., dan Anelia, T. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 7(2): 65-71.
- Douglas J.W, and Wardrop K.J. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Wiley-Blackwell. p852-887.
- Dwidjoseputro. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djembatan. Jakarta. 1-67 hlm.
- Etim, N.N., M.E. Williams, U. Akpabio, E.E.A. Offiong, 2014. Haematological Parameters and Factors Affecting Their Values. *Agricultural Science*. 2(1): 37-47.
- FAO/WHO. 2001. *Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. Amerian Córdoba Park Hotel, Córdoba, Argentina.
- Fahrimal, Y., Eliawardani., Rafina, A., Azhar, A., dan Asmilia, N. 2014. Profil Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* dan Diberikan Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrasperma Roxb*). *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8(2): 164-168.
- Fatimah. 2018. Pola Pertumbuhan Khamir dan Aktivitas Antibakteri Pada tempe dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 29-38 hlm.
- Feng, X.M. 2006. *Microbial dynamics during barley tempeh fermentation*. Uppsala University. Sweded (SE).
- Feng, X.M, Passoth V, Eklund-Jonsson C, Alminger, M.L, and Schnürer J. 2007. *Rhizopus oligosporus* and yeast co-cultivation during barley tempeh fermentation-nutritional impact and real time PCR quantification of fungal growth dynamics. *Food Microbiol*. 24(4): 393-402.

- Fitria, L., Sarto M. 2014. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu. *Biogenesis*. 2: 94-100.
- Gibson. 2005. *Principles of Nutritional Assessment*. Oxford University Press. New York.
- Hana. 2007. Pengaruh Pemanasan terhadap Kemampuan Ekstrak Gula Talas (*Coloscaisia esculenta (L) Schott*) untuk Mendukung Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dan Evaluasi *In Vivo* Potensi Prebiotik. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Handayani, L., Irianti, N., dan Yuwono, E. 2013. Pengaruh pemberian minyak ikan lemuru terhadap kadar eritrosit dan trombosit pada ayam kampung. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. 1(1): 39-46.
- Hidayati, S.N., Darmawi., Rosmaidar., Armansyah, T., Dewi, M., Jamin, F., dan Fakhurrazi. 2016. Pertumbuhan *Escharichia Coli* Yang Diisolasi Dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (*Sygyium Polyanthum*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 10(2): 101-104.
- Jawetz., Melnick., and Adelbergs. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Salemba Medika. Jakarta. 358 hlm.
- Kanifah, F. 2018. Analisis Kadar Protein Total pada Tempe Fermentasi dengan Penambahan Ekstrak Nanas (*Ananascomosus (L.) Merr*). *Jurnal Nutrisia*. 20(1):34-37.
- Kavita, R. Pandey., Naik, S.R., and Vakil, B.V. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol*. 52(12): 7577–7587.
- Klingberg, T. D and Budde, B.B. 2006. The Survival and Persistence in the Human Gastrointestinal Tract of Five Potential Probiotic Lactobacilli Consumed as Freeze dried Cultures or as Probiotic Sausage. *Intl. J.Food. Microbiol*. 109 : 157-159.

- Kompiang, I.P. 2002. Pengaruh Ragi: *Saccharomyces Cerevisiae* dan Ragi Laut sebagai Pakan Imbuhan Probiotik terhadap Kinerja Unggas. *JITV*. 7(1). 18-21.
- Kusmiati., Thontowi, A., dan Nuswantara, S. 2011. Efek Sumber Karbon Berbeda terhadap Produksi α -Glukan oleh *Saccharomyces Cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. *Jurnal Natur Indonesia*. 13(2): 138-145.
- Kustyawati, M.E. 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. *Agritech*. 29(2): 64-70.
- Kustyawati, M. E. 2016. *Signifikansi Khamir dalam Pangan*. Plantaxia. Yogyakarta. 88 hlm.
- Kustyawati, M.E. 2020. Mikrobiologi Hasil Pertanian. Pusaka Media. Bandar Lampung. 248 hlm.
- Kustyawati, M.E., Sari, M., dan Haryati, T. 2013. Efek Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. *Agritech*. 33(3): 281-287.
- Kustyawati, M.E., Nawansih, O., and Nurdjanah, S. 2017. Profile of aroma compounds and acceptability of modified tempeh. *International Food Research Journal*. 24(2): 734-740.
- Kustyawati, M.E., Subeki., Murhadi., Rizal, S., and Astuti, P. 2020. Vitamin B12 Production in Soybean Fermentation for Tempeh. *Agricultur and Food*. 5(2): 262-271.
- Kusumawati, D., 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 118 hlm.
- Lubis, T.M., Zuhrawati, Susanti F., Rusli, Asmilia N.M. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap penurunan kadar hemoglobin dan nilai hematokrit pada tikus wistar. *Jurnal Medika Veterineria*. 10: 141-143.
- Maysaroh, L. 2010. Evaluasi Darah (Glukosa Darah, Hb, Leukosit, dan Nilai Hematokrit) Mencit Betina (*Mus musculus L.*) setelah Dicekok dengan

- Ekstrak Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Midleton, E., Kandaswami., and Theoharis. 2000. *The Effect of Plant Flavonoids on Mamalian Cells: Implication for Inflammation, Heart Disease & Cancer*. Farmac
- Noviani, S.D. 2021. Kajian Tempe Termodifikasi sebagai Makanan Probiotik Secara In Vivo. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 57 hlm.
- Nugroho, M.R., dan Sartika, R.A.D. 2018. Asupan Vitamin B12 Terhadap Anemia Megaloblastik Pada Vegetarian di Vihara Meitriya Khirti Palembang. *Jurnal Kesehatan Komunitas*. 4(2):40-45.
- Pavan, S., P. Desreumax dan A. Mercenier. 2003. Use of Mouse Models To Evaluate the Persistence, Safety and Immune Modulation Capacities of Lactic Acid Bacteria. *American Society for Microbiology*. 10(4): 696–701.
- Pinasti, L., Nugraheni, Z., dan Wiboworini, B. 2020. Potensi Tempe Sebagai Pangan Fungsional Dalam Meningkatkan Kadar Hemoglobin Remaja Penderita Anemia. *Jurnal Action: Aceh Nutrition Journal*. 5(1): 19-26.
- Prado, F.C., Parada, J.L., Pandey, A., and Soccol, C.R. 2008. Trends in Non-Dairy Probiotic Beverages. *Food Research Internaional*. 41(2):111-123.
- Prescott., Harley., and Klein's. 2008. *Microbiology 7th Edition*. McGraw-Hill Book Company. USA. 1222 hlm.
- Queiroz, A.O., P.A. Legey, S.C.C. Xavier, and A.M. Jansen. 2001. Specific antibody levels and antigenic recognition of wistar rats inoculated with distinct isolates of *Trypanosoma evansi*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 96:965-967.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Penerbit Buku kedokteran EGC. Jakarta. 194 hlm.

- Rahardjo, T., Nurhayati, S., dan Darlina. 2011. Pengamatan hematologi pada mencit pasca infeksi plasmodium berghei iradiasi gamma stadium eritrositik. *Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan dan Lingkungan*. 7: 107-118.
- Rahayu, E.S., dan Utami, T. 2019. *Probiotik dan Gut Microbiota Serta Manfaatnya Pada Kesehatan*. PT Kanisius. Depok. 206 hlm.
- Rakhmadi, I. 2008. Performa mencit jantan (*Mus musculus*) umur 28-63 hari pada kandang tanpa sekat dan bersekat dengan alas kandang yang berbeda. *Jurnal Zeolit Indonesia*. 8(2): 53-65.
- Renova, R.N. 2005. Gambaran Sel Darah Putih Akibat Pemberian Kapsul Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) pada Kelinci. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rizal, S., Kustyawati, M. E. 2019. Karakteristik Organoleptik dan Kandungan Beta-Glukan Tempe Kedelai dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 20(2):127-138
- Rizal, S., Kustyawati, M. E., Murhadi., Hasnudin, U., dan Marniza. 2018. Pengaruh Konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Kadar Abu, Kadar Protein, Kadar Lemak dan Kandungan Beta-Glukan Tempe. *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS*. 2(1): 96-103.
- Sabrina, N. 2005. Respon Eritrosit, Leukosit, Kadar Hemoglobin, dan Nilai Hematokrit Darah Kelinci yang Diberi Kapsul Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Songer, J.G., and Post, K.W. 2005. *Veterinary Microbiology*. Elsevier. St Louis. 434 hlm.
- Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia, Jakarta.

- Syahrin, A. 2006. *Kesan ekstrak etanol andrographis Paniculata (burm. F.) Nees ke atas Tikus betina diabetik aruhan streptozotosin*. Universiti Sains Malaysia. Malaysia. 50 hlm.
- Suliantari., Suryaatmadja, S.L., dan Kusumaningrum, H. 2015. Kandungan dan Keberagaman Mikrob Beberapa Tempe dari Daerah Bogor. *Prosiding Seminar Hasil-hasil PPM IPB*. 1 : 229–237.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Susanto, D.A., dan Kristiningrum, E. 2021. Pengembangan Standar Nasional Indonesia (SNI) Definisi Pangan Fungsional. *Jurnal Standarisasi*. 23 (1): 53-64.
- Van der Maarel, M.J.E.C., Van der Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Leemhuis, H. and Dijkhuizen, L. 2002. Properties and Applications of Starch-Converting Enzymes of the α -amylase Family. *Journal of Biotechnology*. 94 : 137–155.
- Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P., and Verstraete W. 2000. A Probiotic Bacteria As Biological Control Agents In Aquaculture. *Microbiology And Molecular Biology Review*. 64: 2527- 2533.
- Widyastuti, D. A. 2013. Profil darah tikus putih wistar pada kondisi subkronis pemberian natrium nitrit. *JS*. 31(2): 201-215.
- Yoshari, R.M., Aini, A.N., Prangdimurti, E., Wresdiyati, T., dan Astwan, M. 2019. Pengaruh Konsumsi Tempe dari Kedelai Germinasi dan Non-Germinasi terhadap Profil Darah Tikus Diabetes. *Pangan*. 28(2): 136-144.
- Zuhra, C.F., Tarigan, J.B., dan Sihotang, H., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr. *Jurnal Biologi Sumatera*. 3(1): 7-10.