

**POTENSI TEMPE SEBAGAI SUMBER PREBIOTIK TERHADAP
PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* Dan
*Escherichia coli***

(Skripsi)

Oleh

Safiratul Mardiah

1914231021



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

POTENTIAL OF TEMPE AS PREBIOTIC SOURCE ON THE GROWTH OF Lactobacillus casei, Saccharomyces cerevisiae and Escherichia coli

By

SAFIRATUL MARDIAH

Tempeh contains oligosaccharides which have the potential to act as prebiotics. The ability of probiotic microbes to grow well in tempeh extract is an indication of the presence of probiotic bacteria. The research is to monitor the growth of *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Escherichia coli* in tempeh extract growth media with different concentrations, to determine the effect of added concentration of tempeh on the growth of *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli*, to determine the comparison of the growth of *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli* modified tempeh extract with commercial tempeh extract. The experimental design was carried out using a Complete Randomized Block Design (CRBD) analyzed using analysis of variance (Anova) and followed by a follow-up BNT test at the 5% level. The observations made were growth tests for *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Escherichia coli*. Modified tempeh has the potential to support the growth of *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces cerevisiae* but inhibits the growth of *Escherichia coli* bacteria. Further tests at the 5% level on the total growth of *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli* were each significantly different at the 5% level, but the concentration of modified tempeh extract had no significant effect on the growth of these three microbes. *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces cerevisiae* grow more optimally in substrates containing modified tempeh extract, but *Escherichia coli* does not grow in modified tempeh extract substrates and grows optimally in substrates containing glucose. Except for substrates containing commercial tempeh extract, *Escherichia coli* can grow at a 2% tempeh extract concentration of (4.456 Log CFU/mL).

Key words: *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei*, Oligosaccharides, *Saccharomyces cerevisiae* and Tehmpeh

ABSTRAK

POTENSI TEMPE SEBAGAI SUMBER PREBIOTIK TERHADAP PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* Dan *Escherichia coli*

Oleh

SAFIRATUL MARDIAH

Tempe mengandung oligosakarida yang berpotensi sebagai prebiotik. Kemampuan mikroorganisme probiotik untuk tumbuh subur pada ekstrak tempe menjadi salah satu tanda adanya bakteri prebiotik. Tujuan penelitian ini ialah, memonitor pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* pada media tumbuh ekstrak tempe dengan konsentrasi yang berbeda, mengetahui pengaruh konsentrasi penambahan tempe terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli*, mengetahui perbandingan pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* ekstrak tempe termodifikasi dengan ekstrak tempe komersil. Rancangan percobaan dilakukan dengan tata letak RAKL, dianalisis dengan ANOVA, dan ditindaklanjuti dengan BNT pada taraf signifikansi 5%. Tes pertumbuhan untuk *Lactobacillus casei* dilakukan, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli*. Tempe termodifikasi berpotensi mendukung pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan *Saccharomyces cerevisiae* namun menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Uji lanjut dengan taraf 5% terhadap pertumbuhan total *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* masing-masing berbeda nyata pada taraf 5%, namun konsentrasi ekstrak tempe termodifikasi tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan ketiga mikroba tersebut. *Lactobacillus casei* dan *Saccharomyces cerevisiae* lebih optimal tumbuh dalam substrat yang mengandung ekstrak tempe termodifikasi, namun *Escherichia coli* tidak tumbuh dalam substrat ekstrak tempe termodifikasi, dan tumbuh optimal dalam substrat yang mengandung glukosa. Kecuali pada substrat yang mengandung ekstrak tempe komersil, *Escherichia coli* dapat tumbuh pada konsentrasi ekstrak tempe 2% sebesar (4,456 Log CFU/mL).

Kata kunci : *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei*, Oligosakarida,
Saccharomyces cerevisiae dan Tempe.

**POTENSI TEMPE SEBAGAI SUMBER PREBIOTIK TERHADAP
PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* Dan
*Escherichia coli***

**Oleh
Safiratul Mardiah**

**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
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : POTENSI TEMPE SEBAGAI SUMBER
PREBIOTIK TERHADAP PERTUMBUHAN
Lactobacillus casei, *Saccharomyces cerevisiae* Dan
Escherichia coli

Nama : Safiratul Mardiah

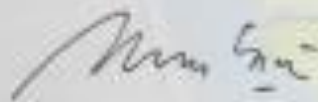
Nomor Pokok Mahasiswa : 1914231021


Program Studi : Teknologi Industri Pertanian

Fakultas : Pertanian

Menyetujui,


1. Komite Pembimbing


Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustiyawati, M.Sc.
NIP.19710930 199512 2 001


Esa Ghanim Fadhullah, S.PL, M.Si.
NIP.19910129 201903 1 014

Mengetahui


2. Ketua Jurusan

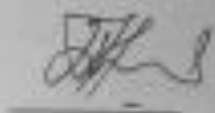

Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.
NIP. 19721006 199805 1 005

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji



Ketua : Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc. 

Sekretaris : Esa Ghanim Fadhallah, S.Pi., M.Si 

Penguji Bukan Pembimbing : Prof. Ir. Neti Yuliana, M. Si., Ph.D. 

2. Dekan Fakultas Pertanian



 
Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

196410201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 Oktober 2023

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Safiratul Mardiah

NPM : 1914231021

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, 12 Oktober 2023

Yang membuat pernyataan,



Safiratul Mardiah

NPM. 1914231021

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Gisting pada 01 Juli 2001, sebagai anak pertama dari Bapak Sugeng suharto (Alm) dan Ibu Rahmawati S,Ag. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Muhammadiyah Gisting (2007 – 2013), Sekolah Menengah Pertama di SMP Muhammadiyah Boarding school Sabilil Muttaqien Gisting (2013 – 2016), Sekolah Menengah Akhir di SMA Muhammadiyah Gisting (2016 – 2019). Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2019 melalui jalur Penerimaan Mahasiswa Perluasan Akses Pendidikan (PMPAP).

Pada bulan Januari – Februari 2022, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Banjar Negro, Kecamatan Wonosobo, Kabupaten Tanggamus, Lampung. Pada bulan Juli – Agustus tahun 2022, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di CV.Panda Alami, Gedong tataan, Pesawaran, Lampung. dengan judul “Mempelajari Penggunaan Alat Pelindung Diri (APD) Pada Proses Pembuatan Keripik Pisang Muli *Vacuum Frying* di Cv. Panda Alami”. Selama menjadi mahasiswa aktif, penulis aktif dalam kegiatan kemahasiswaan yaitu menjadi Anggota Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung (HMJ THP FP Unila). Bendahara umum PK IMM Saintek Universitas Lampung pada tahun 2020 sampai 2021. Wakil bendahara umum UKM Tapak Suci Universitas Lampung tahun periode 2020. Bendahara umum UKM Tapak Suci Universitas Lampung tahun periode 2021. Wakil bendahara umum UKM Pencak Silat Universitas Lampung tahun periode 2022. Sekertaris departemen keorganisasi UKM Tapak Suci Universitas Lampung tahun periode 2022. Dewan pembina UKM Tapak Suci Universitas Lampung periode 2023. Ketua Umum PK IMM Saintek Universitas Lampung dan sebagai

Duta Kartu Petani Berjaya (KPB) Provinsi Lampung serta penerima beasiswa KPB tahun 2020 sampai dengan 2023.

SANWACANA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh, Puji syukur penulis panjatkan atas ke hadirat Allah SWT, atas berkat dan rahmat-Nya. Shalawat serta salam penulis haturkan kepada Nabi Muhammad S.A.W. beserta keluarga, para sahabat, dan pengikutnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “POTENSI TEMPE SEBAGAI SUMBER PREBIOTIK TERHADAP PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* Dan *Escherichia coli*” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian pada Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, motivasi, serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, perkenankan penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Bapak Ir. Harun Al Rasyid, M.T., selaku Kepala Program Studi Teknologi Industri Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
4. Ibu Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku Pembimbing Akademik dan pembimbing utama yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, serta saran kepada penulis selama perkuliahan, penelitian, hingga penyelesaian skripsi penulis.
5. Bapak Esa Ghanim Fadhallah, S.Pi., M.Si selaku pembimbing kedua yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan, serta saran kepada penulis selama penelitian hingga penyelesaian skripsi penulis.
6. Ibu Prof. Ir Neti Yuliana, M, Si., Ph.D. selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran serta masukan kepada penulis selama penyusunan proposal hingga penyelesaian skripsi penulis.

7. Bapak dan Ibu dosen pengajar, staf, dan karyawan yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat dan membantu penulis selama menjadi mahasiswa di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
8. Ayahanda Sugeng Suharto (Alm) yang berperan penting dalam penyelesaian study penulis, mejadi motivasi penulis untuk menjalankan study dengan baik dan benar agar dapat meraih cita-cita dan kesuksesan yang diinginkan.
9. Ibunda Rahmawati, S.Ag yang berperan penting dalam penyelesaian study penulis, memberi dukungan moril, finansial, kasih sayang, serta saran dan do'a yang tak pernah terputus untuk kesuksesan penulis.
10. Adik-adik tercinta Amanina Asyahidah dan Nabildiyaul Haq yang senantiasa menguatkan, menghibur dan menjadi salah satu alasan penulis untuk menjalankan study dengan baik agar menjadi contoh bagi adik-adik.
11. Keluarga besar mbah Tukiyem (Alm) dan keluarga besar mbah Sobirin (Alm) yang berperan penting dalam penyelesaian study penulis, memberi dukungan moril, kasih sayang, serta saran dan do'a yang tak pernah terputus untuk kesuksesan penulis.
12. Sahabat-sahabat tersayang, Rifqi, Liza, Salma, Rahma, Paun, Berti, Ajeng, Triya, Fadia Shaffa, Indah, Zatira, Mia, Lela, Anty yang telah memberikan saran, dukungan, dan menjadi tempat keluh kesah penulis.
13. Sahabat-sabat tersayang Desi, Widya, Desti, Leony, Nabila, Desca, Marcella dan keluarga besar TAPAK SUCI Universitas Lampung yang telah memberikan dukungan, bantuan dan semangat kepada penulis.
14. Keluarga besar Ikatan Mahasiswa Muhammadiyah Universitas Lampung semua pihak yang telah memberikan semangat kepada penulis.
15. Keluarga besar Teknologi Industri Pertanian angkatan 2019 dan semua pihak yang telah memberikan dukungan, dan semangat kepada penulis

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak terlepas dari kekurangan dan masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan dipergunakan sebaik-baiknya. Aamiin.

Bandar Lampung, 12 Oktober 2023

Penulis

Safiratul Mardiah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
1.3. Kerangka Pemikiran	3
1.4. Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tempe.....	5
2.2. Mikrobiologi Tempe	8
2.3. Prebiotik.....	10
2.4. Probiotik.....	10
2.5. Bakteri Asam Laktat (<i>Lactobacillus casei</i>).....	11
2.6. Pemiakan <i>Lactobacillus casei</i>	13
2.7. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13
2.8. Pemiakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
2.9. <i>Escherichia coli</i>	15
2.10. Metode Maserasi	17
III. METODE PENELITIAN	18
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
3.2. Alat dan Bahan.....	18
3.3. Metode Penelitian	19
3.3.1. Penelitian Pendahuluan.....	19
3.3.2. Penelitian Utama.....	19
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	19
3.4.1. Ekstraksi Oligosakarida dari Tempe	19
3.4.2. Persiapan Kultur Bakteri	21

3.4.4. Persiapan Media Pertumbuhan	24
3.4.5. Pengujian Prebiotik Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri <i>Lactobacillus casei</i> , Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan Bakteri <i>Escherichia coli</i>	26
3.5. Pengamatan	29
3.5.1. Total Bakteri Asam Laktat (<i>Lactobacillus casei</i>).....	29
3.5.2. Total Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30
3.5.3. Total Bakteri <i>Escherichia coli</i>	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1. Total <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , dan <i>Escherichia coli</i> pada Ekstrak Tempe Termodifikasi.....	32
4.2. Total <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , dan <i>Escherichia coli</i> pada Ekstrak Tempe Komersial.	36
4.3. Perbandingan Total Mikroba Tempe Termodifikasi dengan Tempe Komersial.	41
V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1. Kesimpulan.....	44
5.2. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat Mutu Tempe.....	6
2. Komposisi nilai gizi kedelai dan tempe kedelai.....	7
3. Pertumbuhan <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan <i>Escherichia coli</i> pada ekstrak tempe termodifikasi	32
4. Uji BNT _{5%} <i>Lactobacillus casei</i> Tempe Termodifikasi	34
5. Uji BNT _{5%} <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Tempe Termodifikasi	35
6. Uji BNT _{5%} <i>Escherichia coli</i> Tempe Termodifikasi	36
7. Jumlah total <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan <i>Escherichia coli</i> pada ekstrak tempe komersil	37
8. Uji BNT _{5%} <i>Lactobacillus casei</i> ekstrak tempe komersil.....	38
9. Uji BNT _{5%} <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ekstrak tempe komersil.....	39
10. Uji BNT _{5%} <i>Escherichia coli</i> ekstrak tempe komersil.....	40
11. Ekstraksi Kandungan Oligosakarida pada Tempe Termodifikasi dengan Metode Maserasi	55
12. Total <i>Lactobacillus casei</i> pada Tempe Termodifikasi	55
13. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (Bartlett's test) <i>Lactobacillus casei</i> Tempe Termodifikasi	55
14. Analisis Ragam <i>Lactobacillus casei</i> Tempe Termodifikasi.....	56
15. Uji BNT <i>Lactobacillus casei</i> Tempe Termodifikasi	56
16. Total <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Termodifikasi	56
17. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (Bartlett's test) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Termodifikasi.....	57
18. Analisis Ragam <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Termodifikasi	58
19. Uji BNT <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Termodifikasi	58

20. Total <i>Escherichia coli</i> Tempe Termodifikasi	58
21. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (Bartlett's test) <i>Escherichia coli</i> Tempe Termodifikasi	59
22. Analisis Ragam <i>Escherichia coli</i> Tempe Termodifikasi	59
23. Uji BNT <i>Escherichia coli</i> Tempe Termodifikasi.....	60
24. Ekstraksi Kandungan Oligosakarida pada Tempe Komersil dengan Metode Maserasi	60
25. Total <i>Lactobacillus casei</i> pada Tempe Komersil.....	60
26. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (Bartlett's test) <i>Lactobacillus casei</i> Tempe Komersil	61
27. Analisis Ragam <i>Lactobacillus casei</i> Tempe Komersil	61
28. Uji BNT <i>Lactobacillus casei</i> Tempe Komersil.....	62
29. Total <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Komersil.....	62
30. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (Bartlett's test) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Komersil	62
31. Analisis Ragam <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Komersil....	63
32. Uji BNT <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Tempe Komersil.....	63
33. Total <i>Escherichia coli</i> Tempe Komersil	64
34. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam (Bartlett's test) <i>Escherichia coli</i> Tempe Komersil	64
35. Analisis Ragam <i>Escherichia coli</i> Tempe Komersil	65
36. Uji BNT <i>Escherichia coli</i> Tempe Komersil.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Stakiosa (a) dan Rafinosa (b).....	8
2. Mikroskopis tempe.....	9
3. Morfologi sel bakteri <i>Lactobacillus casei</i>	12
4. Morfologi sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
5. Morfologi sel bakteri <i>Escherichia coli</i>	16
6. Ekstraksi tempe dengan cara maserasi.....	21
7. Diagram alir pembuatan kultur <i>Lactobacillus casei</i> (Fardiaz, 1989)....	22
8. Diagram alir pembuatan kultur <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Febryanti et al, 2017)	23
9. Diagram alir pembuatan kultur <i>Escherichia coli</i> (Franklin et all, 2012).....	24
10. Persiapan Media MRSB (Fardiaz, 1989).	24
11. Persiapan Media PDA (Sa'adah, 2018).....	25
12. Persiapan Media NB (Fardiaz, 1989).....	25
13. Diagram alir pengujian sifat prebiotik ekstrak tempe terhadap bakteri <i>Lactobacillus casei</i> (Figueroa-gonzález et al., 2019).....	27
14. Diagram alir pengujian sifat prebiotik ekstrak tempe terhadap khamir <i>S. cerevisiae</i> (Figueroa-gonzález et al., 2019)	28
15. Diagram alir pengujian sifat prebiotik ekstrak tempe terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> (Figueroa-gonzález et al., 2019).....	29
16. Perbandingan pertumbuhan bakteri <i>Lactobacillus casei</i> pada ekstrak tempe termodifikasi dengan ekstrak tempe komersial.....	41
17. Perbandingan pertumbuhan bakteri <i>S. cerevisiae</i> pada ekstrak tempe termodivikasi dengan ekstrak tenpe komersial.....	42

18. Perbandingan pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> pada ekstrak tempe termodifikasi dengan ekstrak tempe komersil	43
19. Kacang kedelai kuning	66
20. Perendaman kacang.....	68
21. Perebusan kacang kedelai	68
22. Penirisan kacang kedelai	68
23. Penimbangan dan penambahan ragi.....	68
24. Fermentasi kacang kedelai menjadi tempe	68
25. Tempe setelah dikeringkan	69
26. Tempe setelah dihaluskan	69
27. Ekstraksi tempe dengan cara maserasi menggunakan shaker	69
28. Penyaringan ekstrak tempe	69
29. Proses evaporasi ekstrak tempe.....	69
30. contoh ekstrak tempe.....	69
31. Pemiakan kultur lactobacillus casei	70
32. Pemiakan kultur murni <i>S. cerevisiae</i>	70
33. Pemiakan kultur <i>E.coli</i>	70
34. Inokulasi lactobacillus casei pada ekstrak tempe.....	70
35. Inokulasi <i>S. cerevisiae</i> pada ekstrak tempe.....	70
36. Inokulasi <i>E.coli</i> pada ekstrak tempe.....	70
37. Pengenceran bertingkat	71
38. Spead plate	71
39. Spread plate <i>E. coli</i>	71
40. Pour plate	71
41. Perhitungan jumlah koloni	71
42. Koloni <i>L.casei</i>	71
43. Koloni khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada media PDA.....	72
44. Koloni bakteri <i>E. coli</i> pada media EMBA	72

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tempe digolongkan sebagai bahan pangan fungsional dari hasil fermentasi kedelai menggunakan mikroorganisme *Rhizopus sp.* Tempe mengandung beberapa senyawa seperti, genestein, daidzein, pitosterol, asam fitat, asam fenolik, lesitin, serta protease inhibitor yang merupakan bahan kimia antibakteri dan antioksidan yang ditemukan dalam tempe. (Dwinaningsih, 2010). Menurut Espinosa and Ruperez (2006), Biji kedelai mengandung oligosakarida yaitu galaktosaoligosakarida (GOS), kandungan GOS pada biji kedelai yaitu sebesar 21–53%. GOS termasuk jenis serat yang memberi makan bakteri baik dalam usus besar. GOS yang terdapat pada tempe memiliki kegunaan praktis sebagai prebiotik. Dengan menggunakan kandungan prebiotik tempe sebagai substrat, pertumbuhan bakteri probiotik dapat dirangsang.

Kedelai adalah contoh makanan nabati yang secara alami mengandung oligosakarida. Oligosakarida, juga dikenal sebagai oligosakarida kedelai yang dapat berfungsi sebagai sumber prebiotik. Fermentasi oligosakarida menghasilkan Asam lemak rantai pendek (SCFA), yang dapat menurunkan pH usus dan meningkatkan populasi bakteri bermanfaat sekaligus menurunkan populasi bakteri berbahaya (Krismaputri, 2019). Menurut Huebner dkk. (2007) menyatakan bahwa aktivitas prebiotik suatu substrat dapat diukur dari kapasitasnya untuk mendorong pertumbuhan mikroba dibandingkan dengan mikroorganisme lain dan substrat non-prebiotik seperti glukosa.

Prebiotik umumnya bermanfaat untuk meningkatkan bakteri baik didalam usus seperti bakteri asam laktat dan *Bifidobacteria* (Nursalam, 2013). Penyerapan

nutrisi usus kecil meningkat dapat disebabkan oleh berkurangnya bakteri patogen di sistem pencernaan (Andriani et al., 2020). Bakteri lainnya yaitu khamir *Saccharomices cerevisiae*, bakteri ini digunakan untuk meningkatkan kesehatan serta sebagai sumber prebiotik dan imonistimulan bagi system pencernaan (Ahmad, 2005). Mancini dan Paci (2021) mendapatkan hasil positif dari pemberian *S. cerevisiae* pada kelinci dalam penurunan bakteri berbahaya dan peningkatan bakteri anaerob baik di usus kecil.

Kedelai yang merupakan bahan baku tempe mengandung oligosakarida berupa rafinosa dan stakiosa yang berpotensi sebagai prebiotik (Aritonang, 2019). Penelitian ini menggunakan dua jenis tempe yaitu tempe termodifikasi dengan penambahan khamir *Saccharomices cerevisiae* dan tempe komersil. Potensi tempe Penelitian mengenai potensi bahan ini sebagai sumber prebiotik masih banyak yang bisa dilakukan. Keberadaan mikroba probiotik dapat dipastikan jika tumbuh dan berkembang pada ekstrak tempe merupakan indikasi adatnya potensi tempe sebagai prebiotik. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai potensi tempe sebagai sumber prebiotik terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli*.

1.2. Tujuan Penelitian

Ada beberapa tujuan dari penelitian ini:

1. Memonitor perkembangan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* pada media tumbuh ekstrak tempe dengan konsentrasi yang berbeda
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi penambahan tempe terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli*
3. Mengetahui perbandingan pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* ekstrak tempe termodifikasi dengan ekstrak tempe komersil

1.3 Kerangka Pemikiran

Tempe yang berbahan dasar kedelai memiliki kandungan oligosakarida yaitu rafinosa dan stakiosa, oligosakarida merupakan serat yang tidak dapat dicerna oleh tubuh sehingga menyebabkan kembung dan rasa tidak nyaman. Mukosa usus manusia tidak memiliki enzim pencernaan yaitu α -galaktosidase. Karena itu, oligosakarida kurang diserap oleh tubuh (Sukardi, 2001). Oligosakarida yang terdapat pada ekstrak tempe ini memiliki manfaat lain dalam sistem pencernaan manusia yaitu sebagai sumber prebiotik, terutama bagi orang-orang yang kesulitan mencerna laktosa karena kekurangan bakteri menguntungkan di usus kecil (*Bifidobacteria dan Lactobacillus*) (Mahmud, 2004). Manfaat dari pemberian probiotik termasuk menekan produksi toksin bakteri patogen, meningkatkan enzim pencernaan, dan meningkatkan produksi vitamin dan zat antibiotik, yang semuanya berkontribusi terhadap peningkatan kesehatan (Sumarsih et al., 2012).

Tempe yang diteliti terdiri dari dua jenis tempe yaitu tempe termodifikasi dengan penambahan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan tempe komersil yang diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan *Saccharomyces cerevisiae* serta mencegah pertumbuhan *Escherichia coli*. Tempe perlu diekstrak terlebih dahulu untuk mendapatkan kandungan oligosakarida yang dapat digunakan sebagai sumber prebiotik. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut air. Budhisatria et al., (2017) melaporkan bahwa oligosakarida dalam pisang lebih efektif merangsang perkembangan *Lactobacillus casei* dibandingkan *Escherichia coli*. Penambahan konsentrasi yang berbeda-beda diduga dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan perkembangan *Lactobacillus casei* dibandingkan *Escherichia coli* dengan penambahn ekstrak tempe sebagai sumber prebiotik.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* pada ekstrak tempe dengan konsentrasi yang berbeda

2. Tedapat pengaruh konsentrasi penambahan tempe terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli*
3. Tedapat total mikroba tertinggi antara ekstrak tempe termodivikasi dengan tempe komersil

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tempe

Tempe merupakan produk pangan yang berbahan dasar kedelai yang di fermentasi dengan jamur *Rhizopus sp.* Karbohidrat, lemak, protein, serat, vitamin, enzim, daidzein, serta genisten merupakan beberapa dari sekian banyak zat bermanfaat yang ditemukan dalam satu potong tempe. Karakteristik antimikroba tempe berguna untuk penderita diare, terutama anak kecil (Nurhidajah, 2010). Kualitas tempe seperti yang dijelaskan oleh Winanti dkk. (2014), memiliki permukaan berwarna putih cerah dan merata, strukturnya padat dan konsisten, memiliki rasa dan aroma khas tempe. BSN (2009) menetapkan persyaratan mutu tempe sebagaimana disajikan Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Tempe (SNI, 3144-2009)

No	Kriteria Uji	Satuan	persyaratan
1	Keadaan		kompak, jika diiris tetap utuh tidak (tidak mudah rontok)
1.1	Warna	-	putih merata pada seluruh permukaan
1.2	Bau	-	bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak
1.3	Rasa	-	
2	kadar air	fraksi massa %	Maks,65
3	Kadar abu	fraksi massa %	Maks, 1,5
4	kadar lemak	fraksi massa %	Min 10
4	kadar protein (Nx5,71)	fraksi massa %	Min, 16
5	Kadar serat kasar	fraksi massa %	Maks, 2,5
6	Cemaran Logam		
6.1	Kadmium (Cd)	mg/kg	Maks, 0,2
6.2	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks,0,25
6.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks, 40
6.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks,0,03
7	Cemaran arsen (As)	mg/kg	Maks,0.25
8	Cemaran mikroba		
8.1	<i>Ciliform</i>		Maks, 10
8.2	<i>Salmonella sp.</i>	AMP/g	Negatif/25 g

Sumber : Badan Standarisasi Nasional Indonesia (2009)

Uunsur yang bermanfaat bagi kesehatan yang terdapat Nutrisi seperti protein, serat, dan bahkan isoflavon seperti daidzein dan genestein dapat ditemukan dalam tempe, serta zat antioksidan dan komponen antibakteri yang memiliki kemampuan sebagai obat (Astawan et al, 2013). Kadar protein tempe kedelai meningkat saat dilakukan proses perebusan dan pengukusan. Pada penggorengan dan pemanggangan mengalami penurunan, Karena sebagian minyak goreng akan mengisi ruang menggantikan air yang menguap, maka konsentrasi protein akan menurun sehingga menyebabkan kadar protein rendah (Nurhidajah, 2009). Kapang dan beberapa mikroorganisme yang lain, selama proses fermentasi tempe, terlibat dalam aktivitas pertumbuhan sehingga terjadi penguraian protein, lemak, dan karbohidrat yang menghasilkan senyawa sederhana sehingga lebih mudah dicerna oleh tubuh. Menurut Rahayu et al (2015), protein pada tempe akan diuraikan enzim proteolitik menjadi protein dan asam amino. Komposisi nilai gizi kedelai dan tempe kedelai disajikan pada Tabel 2.

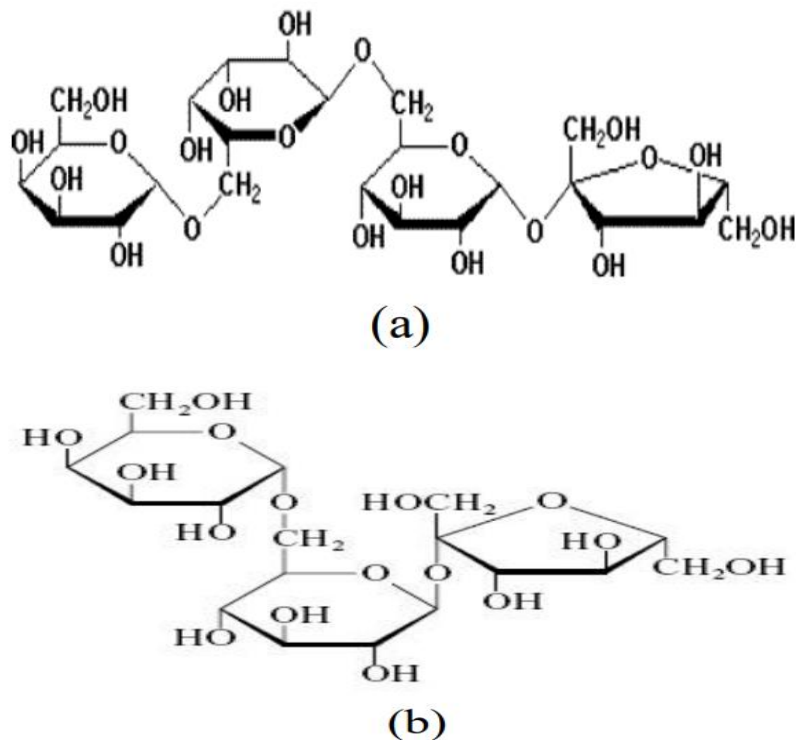
Table 2. Komposisi nilai gizi kedelai dan tempe kedelai

Komposisi Gizi	Kedelai	Tempe Kedelai
Air % (bb)	10,09	61,42
Abu % (bk)	5,8	2,43
Protein & (bk)	37,1	48,07
Lemak %(bk)	19,41	33,09
Karbohidrat (bk)	37,68	17,81

Sumber : Astawan et al. (2013).

Tempe digolongkan pangan fungsional karena memiliki banyak manfaat seperti, anti alergi (Kasmidjo, 1990), antioksidan, antibakteri, anti kanker, anti hemolitik (Pawiroharsono, 1997), anti infeksi (Karyadi dan Hermana, 1995). Kolesterol darah dapat diturunkan dengan adanya serat pada tempe (Brata dan Arbai, 1999). Menurut Espinosa dan Ruperez (2006), kandungan GOS pada kedelai yang digunakan untuk membuat tempe berkisar antara 47% hingga 53%. GOS merupakan prebiotik yang dapat ditemukan pada tempe. Menurut Gibson dan Ruberfroid (2008), prebiotik berfungsi sebagai makanan bagi bakteri probiotik dan mendorong pertumbuhannya. Salah satu manfaatnya adalah bakteri probiotik dapat membantu mencegah bakteri berbahaya berkembang biak di usus.

Oligosakarida pada tempe yaitu rafinosa dan stakiosa adalah gula yang tidak dapat dicerna yang dapat menyebabkan pembentukan gas serta ketidak nyamanan pada saluran cerna. Manusia kekurangan enzim pencernaan galaktosidase, yang diperlukan untuk memecah kandungan oligosakarida dalam kacang-kacangan, khususnya kelompok rafinosa. Karena masalah ini, tubuh tidak dapat menyerap oligosakarida. (Sukardi, 2001). Menurut Salahudin dan Utomo (2012) stakiosa merupakan senyawa tetrasakarida nonreduktif terdiri dari 1 molekul fruktosa (α - 1-2 fruktosa) dan 3 molekul galaktosa (α -1-6 galaktosa). Rafinosa merupakan dua unit gula galaktosa dan satu unit gula fruktosa yang membentuk trisakarida nonreduktif. Struktur stakiosa dan rafinosa disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Stakiosa (a) dan Rafinosa (b)

Sumber : Salahudin & Utomo (2012)

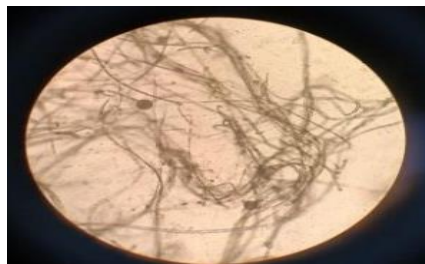
Galaktooligosakarida adalah oligosakarida yang terdiri dari 3-10 molekul galaktosa dan glukosa, yang terbentuk dari reaksi transgalaktosilasi dengan bantuan enzim β -galaktosidase. Galaktooligosakarida setara dengan oligosakarida lainnya dalam hal kemampuan prebiotik, immunomodulasi dan sifat fungsional dalam makanan. Selain mampu meningkatkan pertumbuhan dan aktivitas mikroflora, GOS juga dapat menghambat serangan bakteri patogen dalam usus besar. (Shoaf et al, 2006). GOS memiliki nilai kalor yang rendah, manis, tahan suhu tinggi dan lingkungan asam, serta mudah larut. (Sangwan et al., 2011). Penelitian ini menggunakan tempe yang sudah diekstraksi agar mempermudah dalam proses penumbuhan mikroba pada media pertumbuhan bakteri.

2.2 Mikrobiologi Tempe

Fermentasi dalam pembuatan tempe melibatkan beragam jenis mikroorganisme. Sejumlah Inokulum tempe merupakan spora kapang yang digunakan dalam proses fermentasi. Inokulum tempe sangat penting fungsinya dan mempengaruhi mutu

tempe. *R. oligosporus* merupakan kapang terpenting dalam proses fermentasi tempe. (Kustyawati et al., 2014). Namun Rahayu et al (2015) menambahkan jika terdapat kapang lainnya dari jenis *Rhizopus* ditemukan dalam tempe selain *R. oligosporus*, antara lain adalah *R. arrhizus*, *R. oryzae* *R. stoloniferous*. *Rhizopus* yang digunakan untuk membuat tempe mengandung Enzim yang mengkatalisis proses proteolisis dan melepaskan substrat asam aminonya serta peptida.

Fermentasi kedelai oleh kapang tempe dapat meningkatkan mutu nutrisi dari kedelai. *Rhizopus oligosporus* meningkatkan nutrisi kedelai dengan menghasilkan produksi protease dan α -amilase mensintesa vitamin B (Wipradnyadewi et al., 2004) dan menghasilkan Zat dengan sifat antibiotik yang efektif melawan berbagai macam patogen (Roubous et al., 2010). Konsumsi tempe secara terus-menerus diketahui dapat mencegah gangguan pencernaan (Babu et al., 2009). Antibiotik yang dihasilkan oleh jamur *Rhizopus sp* bersifat melawan terhadap berbagai mikroorganisme patogen penyebab penyakit yang menjadi sumber gangguan usus dan disentri (Roubous et al., 2010). Sifat antibakteri tempe dikaitkan dengan kemampuannya meredakan diare. Menurut Bintari et al (2008), Glikoprotein pada tempe yang merupakan sumber sifat antibakteri mampu melawan bakteri patogen. Mikroskopis tempe disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Mikroskopis tempe
Sumber : Rosidah (2023)

Beberapa penelitian menghasilkan temuan bahwa selain kapang, terdapat mikroba lain seperti bakteri dan khamir yang ikut terlibat dalam fermentasi tempe. Menurut Kustyawati (2009) bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme yang sering ditemukan dan tumbuh selama fermentasi kedelai menjadi tempe yang memegang peranan penting. Efrwati dkk. (2013) menambahkan bahwa sering ditemukan bakteri asam laktat dalam fermentasi tempe dan berperan dalam menghasilkan

tekstur dan aroma yang baik, sedangkan khamir mempunyai peran penting dalam meningkatkan kualitas serta gizi tempe yang menyehatkan bagi tubuh.

2.3. Prebiotik

Tidak dapat dicerna oleh usus kecil, prebiotik asam lemak rantai pendek (SCFA) dan gas (CO₂, metana, dan hidrogen) diproduksi melalui fermentasi oleh bakteri didalam usus besar, kemudian asam lemak tersebut akan diabsorpsi oleh tubuh (Ngatirah, 2009). Menurut FAO (2007) prebiotik merupakan komponen pangan yang dapat memberi keuntungan untuk kesehatan inang. Bahan pangan prebiotik juga telah diklasifikasikan sebagai *Generally Recognized as Safe* (GRAS). Inulin, *fruktooligosakarida (FOS)*, *oligosakarida kedelai*, *isomaltooligosakarida*, *transgalaktooligosakarida*, *laktulosa*, *piro-dekstrin*, *xylo-oligosakarida*, *laktosukrosa*, dan *xylo-oligosakarida* merupakan contoh senyawa prebiotik. (Azhar, 2009). Wang (2009) mengklaim bahwa serat adalah bentuk prebiotik yang paling umum dikonsumsi manusia. Selain itu, menurut Hardisari et al. (2016) Karbohidrat juga termasuk dalam prebiotik yang paling menjanjikan. Sayuran, umbi-umbian, dan buah-buahan merupakan sumber prebiotik yang baik untuk dikonsumsi.

Prebiotik adalah salah satu jenis bahan tambahan makanan yang tidak dapat dipecah oleh sistem pencernaan manusia, namun dikaitkan dengan manfaat kesehatan karena mendorong pertumbuhan bakteri baik di usus besar. Jika suatu bahan makanan ingin dianggap sebagai prebiotik, maka harus memenuhi beberapa kriteria, termasuk ketahanan terhadap hidrolisis dan penyerapan di kerongkongan dan lambung, fermentasi di usus, mampu mempertahankan pH asam, dan selektif terhadap bakteri dan jamur tertentu yang bermanfaat di usus besar (Brownawell et al., 2012).

2.4. Probiotik

Mikroorganisme yang bermanfaat bagi system cerna dapat disebut sebagai probiotik dan meningkatkan kesejahteraan inangnya (Salminen, 1999). Efek

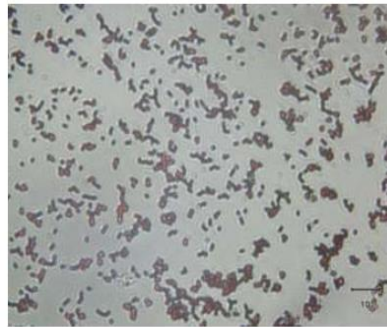
positif dari aktivitas probiotik terbagi dalam tiga aspek, yaitu nutrisi, fisiologi, dan antimikroba. Aspek nutrisi berasal dari penyediaan enzim yang membantu metabolisme penyerapan laktosa (laktase), sintesis beberapa jenis vitamin (vitamin K, asam folat, piridoksin, asam pantotenat, biotin, dan riboflavin), serta dapat menghilangkan racun hasil metabolit komponen makanan di usus. Aspek fisiologis meliputi kemampuan untuk menjaga keseimbangan komposisi mikrobiota usus sehingga menekan resiko infeksi penyakit dan menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Aspek kemampuan antimikroba dinyatakan melalui kemampuan memperbaiki ketahanan terhadap patogen (Naidu dan Clemens, 2000). Aktivitas terhadap patogen ini juga dapat berasal dari kemampuan adhesi yang dimiliki probiotik (Collado et al., 2007).

Probiotik menurut FAO/WHO (2007) adalah mikroorganisme hidup yang masuk dalam jumlah yang cukup sehingga dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inang. Jumlah yang cukup yang dimaksud oleh FAO/WHO (2007) ini adalah 10^6 - 10^8 CFU/g dan diharapkan dapat berkembang menjadi 10^{12} CFU/g di dalam kolon. *International Dairy Federation* (IDF) memberikan standar jumlah minimum probiotik hidup sebagai acuan adalah 10^6 koloni/ml pada produk akhir (Indratingsih et al., 2004). Jumlah probiotik hidup harus mampu untuk melewati kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti terekspos asam lambung dan garam empedu, sehingga masih memiliki aktivitas fisiologis (Charteris et al., 1998).

2.5. Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus casei*)

Bakteri Asam laktat merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk batang atau bulat, dan menghasilkan asam laktat dalam fermentasi karbohidrat (Pato, 2003) Bakteri asam laktat (BAL) disebut bakteri anaerob fakultatif karena dapat hidup dengan atau tanpa oksigen. (McDonald et al., 2002). Bakteri asam laktat pada umumnya digunakan untuk meningkatkan kesehatan pada beberapa macam makanan, atau dapat disebut sebagai agen makanan fungsional, hal ini berdasarkan pada karakteristik mikroorganisme probiotik

(Marteu et al. 1993). Morfologi sel *Lactobacillus casei* bisa diketahui pada gambar 3.



Gambar 3. Morfologi sel bakteri *Lactobacillus casei*

Sumber : Subakti (2016)

Probiotik *Lactobacillus casei* adalah anggota genus *Lactobacillus* (Fuller, 1992 pada Shahravy, 2012). *Lactobacillus casei* yaitu bakteri gram positif berbentuk batang (basil), tak mempunyai spora, tak memiliki alat gerak dan biasanya anaerob (Fuller, 1997). Berikut merupakan klasifikasi dari bakteri *L. casei*:

Filum : *Firmicutes*
 Kelas : *Bacili*
 Ordo : *Lactobacillales*
 Famili : *Lactobacillaceae*
 Genus : *Lactobacillus*
 Spesies : *Lactobacillus casei* (Garrity et al., 2004)

Lactobacillus casei dapat merombak rantai glukosa (karbohidrat) menjadi komponen yang lebih sederhana. Aktivitas *L. casei* dalam berbagai medium fermentasi menyebabkan meningkatnya jumlah asam keseluruhan dalam medium yang terakumulasi menjadi suatu produk akhir fermentasi (Prastyaharasti et al., 2014). Tingginya kadar Selama fermentasi, asam laktat terbentuk dan menyebabkan media terasa asam karena derajat pH yang sangat rendah, sehingga dapat menekan populasi bakteri lain yang bersifat patogen (Jenie, 1996). Proses pembiakan bakteri asam laktat ialah menggunakan proses inokulasi, yang

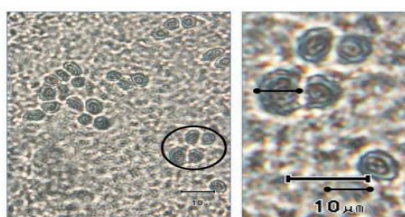
merupakan proses pemindahan bakteri secara teliti dari satu media ke media lainnya (Aritonang et al., 2019).

2.6 Pembiakan *Lactobacillus casei*

Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus casei* didefinisikan sebagai jumlah koloni bakteri probiotik *L. casei* yang tumbuh pada medium *Lactobacilli deMan, Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C yang sebelumnya ditumbuhkan pada medium *Lactobacilli deMan, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) yang telah disuplementasi dengan ekstrak inulin pada berbagai konsentrasi yang berbeda masa inkubasi 24 jam, rotasi 150 rpm pada suhu 37°C (Ayu, 2015).

2.7. *Saccharomyces cerevisiae*

Strain ragi *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kapasitas luar biasa untuk memfermentasi gula menjadi etanol. Ragi roti adalah mikroorganisme yang dipelajari dengan baik dengan profil metabolisme yang dipahami secara menyeluruh. Etanol, karbon dioksida, dan air merupakan produk metabolit utama, dengan sejumlah senyawa tambahan yang dihasilkan dalam jumlah sedikit. Ragi dapat tumbuh di lingkungan bebas oksigen tetapi lebih suka tumbuh di lingkungan non-oksigen. Kondisi optimal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* adalah 30°C dan pH 4,0 hingga 4,5. Panas dihasilkan selama proses fermentasi, proses fermentasi akan terhambat dan suhu akan naik apabila pendinginan tidak dilakukan (Khodijah & Ahmad, 2015). Morfologi *Saccharomyces cerevisiae* bisa diketahui pada Gambar 4.



Gambar 4. Morfologi sel *Saccharomyces cerevisiae*

Sumber : Simbolon (2018)

Peneliti Nurhariyati dkk. (2004) menemukan bahwa sel *Saccharomyces* mempunyai bentuk bulat, oval pendek, atau oval, mengalami tunas multilateral, berukuran antara [(2,5-) x (3,5-)] - [(3-6) x (5-7,5)] mikrometer, dan tidak memiliki pseudohifa. dan hifa. *Saccharomyces* memiliki bentuk sel tidak ogival, asci tidak mudah pecah, memiliki askospora berbentuk bulat-oval dan tidak memiliki ballistopora. Khamir ini dapat dimanfaatkan sebagai prebiotik dan imunostimulan dan kegunaan lainnya di dalam meningkatkan kesehatan (Ahmad, 2005). Mancini dan Paci (2021) mengamati pemberian *S. cerevisiae* pada mikroba usus kelinci dalam menurunkan bakteri berbahaya serta peningkatan bakteri aerobik dan anaerobik yang menguntungkan.

2.8 Pemiakan *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae dapat diperoleh dari ragi atau *yeast*. *Yeast* adalah sejenis jamur uniseluler yang bertanggung jawab untuk fermentasi. Ragi merupakan media budidaya yang sering mengandung mikroorganisme yang melakukan fermentasi. Cairan nutrisi dapat berfungsi sebagai media pertumbuhan ragi. Ragi umumnya digunakan dalam produksi roti, bir, dan makanan serta minuman fermentasi lainnya. *Yeast* berkembang biak dengan suatu proses yang dikenal dengan istilah pertunasan, yang menyebabkan terjadinya peragian. Sebagian besar *yeast* berasal dari mikroorganisme jenis *Saccharomyces cerevisiae* (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

Ragi mengandung beberapa enzim yang berbeda, seperti protease, invertase, maltase, dan zymase, sebagaimana dinyatakan oleh US Wheat Association (1981). Ragi bergantung pada invertase, maltase, dan zymase, tiga enzim penting. Proses fermentasi dimulai oleh enzim invertase yang ditemukan dalam ragi. Sukrosa yang dilarutkan dalam air dipecah oleh enzim ini menjadi glukosa dan fruktosa, dua jenis gula sederhana. Karbon dioksida dan alkohol adalah produk sampingan dari pemecahan karbohidrat sederhana. Enzim amilase tepung dapat mengubah glukosa menjadi maltosa, yang kemudian digunakan ragi sebagai bahan bakar untuk fermentasi lebih lanjut.

Saccharomyces cerevisiae dikembangkan dalam berbagai media cair untuk propagasi.. Isolasi Khamir *S.cerevisiae* dapat dilakukan secara komersial menggunakan Fermipan. (Febriyanti et al., 2017). Isolasi khamir dipakai dengan memasukkan 1 gram ragi roti kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air suling steril, dan campuran dihomogenisasi. Langkah selanjutnya adalah mengencerkan homogenat sebanyak 10^2 dengan menambahkan air suling steril 9 mL. Prosedur ini diulangi berulang kali hingga faktor pengenceran mencapai, kemudian 1 mL larutan di ambil menggunakan pipet dan disebarakan secara merata ke seluruh media PDA, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama dua hari. Penerapan metode kultur cair memperbanyak *S. Cerevisiae* dengan ditumbuhkan pada media Yeast Malt Broth (YMB)..

2.9 *Escherichia coli*

Bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dapat ditemukan pada kotoran mamalia (Verdier et al., 2012). *Escherichia coli* adalah sejenis bakteri yang termasuk dalam gram negative. Menurut Radji (2011) *Escherichia coli* terdapat dalam tubuh manusia yaitu pada system pencernaan usus besar yang berfungsi mengurai makan menjadi feses dan termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Organisme berbentuk batang pendek yang bergerak dengan flagela dan sering disebut dengan *coccobacilli*. Morfologi sel bakteri *Escherichia coli* disajikan di Gambar 5.



Gambar 5. Morfologi sel bakteri *Escherichia coli*

Sumber : Trisno (2019)

Menurut Songer dan Post (2005), klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

E. coli sering dikenal sebagai *coccobacillus*, adalah sejenis mikroorganisme yang bersifat gram negatif dan berbentuk batang. Dimensi flagel 0,4-0,7 m × 1,4 m telah terlihat pada bakteri ini (Radji, 2011). Koloni *E. coli* memiliki bentuk lingkaran, cembung, serta halus dengan tepian bening (Hidayati et al, 2016) dan berukuran panjangnya 2 mikrometer, diameter 0,7 mikrometer, dan lebar 0,4-0,7 mikrometer. *E. coli* adalah sejenis bakteri yang disebut anaerob fakultatif, artinya bakteri ini dapat bertahan hidup di lingkungan anaerobik atau aerobik. Untuk pertumbuhan oksidatif, oksigen digunakan sebagai pasokan karbon eksogen dan sumber energi. Fermentasi merupakan sumber energi utama bagi organisme anaerobik (Sutiknowati, 2011). Terdapat 150 antigen O berbeda pada *E. coli*, 50 antigen H berbeda, dan 90 antigen K berbeda. Mikroorganisme selain inang dapat mengangkut antigen O tertentu. Infeksi saluran kemih dan diare merupakan dua kelainan yang dikaitkan dengan antigen O (Karsinah, 2011)..

Keberadaan bakteri *E. coli* yang ada di lingkungan membantu menguraikan bahan organik dan menyuplai unsur hara bagi tanaman (Trisno, 2019). Bakteri yang dikenal sebagai *Escherichia coli* ditemukan di saluran pencernaan dan akhirnya dikeluarkan dari tubuh melalui tinja. Penyakit menular disebarkan oleh bakteri patogen yang ditemukan dalam tinja. Virus dapat hidup berminggu-minggu pada suhu serendah 10°C hanya dalam satu gram kotoran (Zikra, 2018). Menurut Widhyari (2014), menyatakan bahwa infeksi *E.coli* berpotensi mematikan dan menyebabkan kematian septikemia, serta keberadaannya Akibatnya, penyakit bisa menjadi lebih parah. Laporan yang tersebar luas menunjukkan adanya bakteri *E. coli* melebihi batas yang diizinkan menimbulkan gangguan Kesehatan pada

manusia seperti diare, meningitis, serta Hemolytic Uremic Syndrome (HUS). (Ivarez-Astorga et al., 2002)

2.10 Metode Maserasi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan senyawa aktif dari jaringan tumbuhan menggunakan pelarut tertentu. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi, yaitu bahan tanaman yang digunakan, pemilihan pelarut, dan metode yang digunakan. Bahan tanaman yang digunakan dapat berupa bagian tanaman utuh atau yang telah melalui proses pengeringan. Pemilihan metode dan pelarut yang digunakan harus tepat untuk mendapatkan hasil yang maksimal (Rompas et al, 2012). Maserasi merupakan metode yang paling mudah dilakukan karena pengerjaannya sederhana dan alat-alat yang digunakan mudah didapat (Wardhani & Sulistyani, 2012).

Metode maserasi dipilih karena dapat mengekstrak senyawa dengan baik dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Prinsip ekstraksi maserasi adalah pengikatan atau pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*Like Dissolved Like*). Pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel tumbuhan, sehingga isi sel akan larut dalam pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut akan berlangsung secara terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Wahdaningsih et al., 2014). Hasil maserasi tempe berupa filtrat berwarna kuning. Kemudian diuapkan *menggunakan rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian, Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Pengolahan Limbah Agroindustri Jurusan Teknologi Hasil Pertanian dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2023 sampai bulan Juni 2023.

3.2. Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah tempe komersial yang didapat dari pasar swalayan Bandar Lampung, kedelai didapat dari pasar swalayan Bandar Lampung, ragi tempe merek raprima, ragi roti merek fermipan, kultur Bakteri Asam Laktat (BAL) *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, MRSA (de Mann Rogosa Sharpe Agar), MRSB (de Mann Rogosa Sharpe Broth), PDB (Potato Dextrose Broth), YEA (Yeast Ekstrak Agar), NB (Nutrient Broth), EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*), bakteri patogen *Escherichia coli*, kertas saring, aquadest, inulin, NaCl, dan alkohol.

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik merek Mettler PJ3000 ketelitian dua angka dibelakang koma, grinder, baskom, kompor, talenan, pisau, autoklaf merek 3M kapasitas 18 liter, inkubator merek Innotech, kain saring, *shaker* merek Lab-Shaker, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, aluminium foil, gelas ukur, beaker glass, pipet tetes, mikropipet merek Dragon 1000-5000 μL , batang pengaduk, bunsen, pengaduk kaca, hotplate, jarum ose, laminar air flow merek BCS Class II Adan rak tabung reaksi.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengekstrak kandungan oligosakarida pada tempe dengan metode maserasi.

3.3.2. Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dan tiga kali pengulangan dengan faktor yang diteliti, yaitu: Faktor perlakuan konsentrasi penambahan ekstrak tempe (P) dengan 7 taraf, yaitu:

P0 = 0 jam sebagai kontrol netral (tanpa penambahan)

P1 = Glukosa sebagai kontrol negatif (glukosa 1%)

P2 = Inulin sebagai kontrol positif (2%)

P3 = Ekstrak tempe (2%)

P4 = Ekstrak tempe (4%)

P5 = Ekstrak tempe (6%)

P6 = Ekstrak tempe (8%)

P7 = Ekstrak tempe (10%)

Percobaan diulang 3 kali ulangan, sehingga total unit percobaan $24 \times 3 = 71$ unit percobaan. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam (Anova) dan dilanjutkan uji lanjut BNT pada taraf 5%. Pengamatan yang dilakukan adalah uji pertumbuhan *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Ekstraksi Oligosakarida dari Tempe

a. Pembuatan Tempe Termodifikasi

Proses pembuatan tempe mengikuti prosedur Kustyawati (2009) yang dimodifikasi. Tahapan yang dilakukan yaitu, kedelai sebanyak 100 gram direndam dalam air bersih selama semalam pada suhu ruang, kemudian dicuci dan

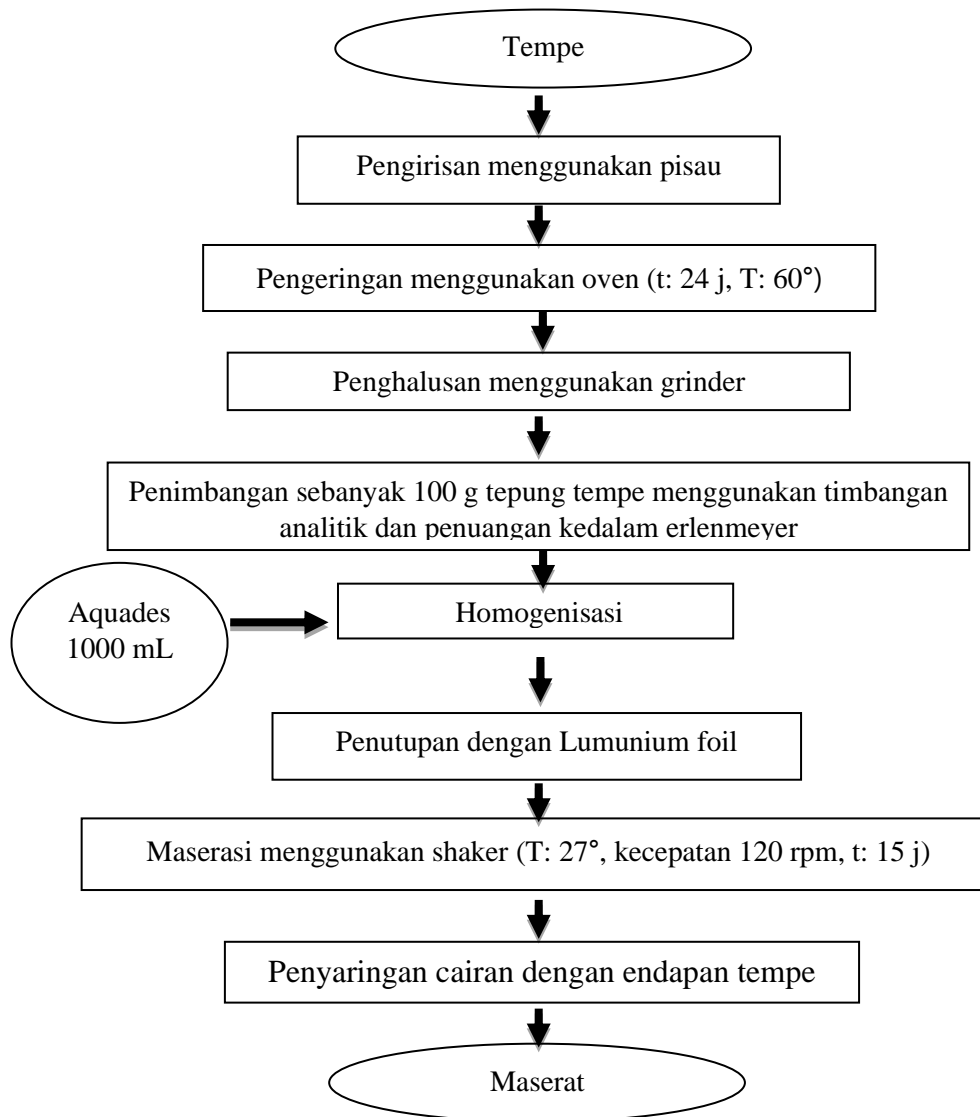
dihilangkan kulit arinya secara manual. Selanjutnya kedelai direbus dalam air bersih dengan perbandingan 1:3 (kedelai:air) selama 30 menit, kemudian ditiriskan dan diangin-anginkan sampai kedelai mencapai suhu ruang. Selanjutnya tahap peragian dilakukan dengan cara kedelai yang sudah mencapai suhu ruang ditambahkan ragi tempe sebanyak 0,6 gram diaduk sampai rata dan ditambahkan ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* (bubuk fermipan) sebanyak 3 gram sedikit demi sedikit dan aduk sampai merata. Setelah tercampur rata, kedelai dimasukkan ke dalam plastik pengemas yang telah dilubangi secara teratur untuk tujuan aerasi dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

b. Preparasi Sampel

Preparasi sampel diawali dengan pembuatan ekstrak tempe menggunakan cara maserasi. Tempe yang telah difermentasi dengan ragi tempe *Rhizopus sp* dan ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* selama 48 jam diiris menggunakan pisau, dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 24 jam, kemudian dihaluskan dengan grinder sehingga berbentuk serbuk halus. Selanjutnya serbuk ditimbang untuk mengetahui berat setelah dikeringkan (Ayu, 2015).

c. Pembuatan Ekstrak Tempe

Tepung tempe ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer kemudian ditambahkan 1 liter aquades steril dengan perbandingan 1:10, lalu diaduk hingga homogen. Larutan tempe ditutup dengan aluminium foil, kemudian dimaserasi selama 15 jam, dengan menggunakan *shaker* 120 rpm pada suhu ruang. Selanjutnya kertas saring digunakan untuk memisahkan endapan dan maserat. Maserat yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstraksi tempe dengan cara maserasi disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Ekstraksi tempe dengan cara maserasi

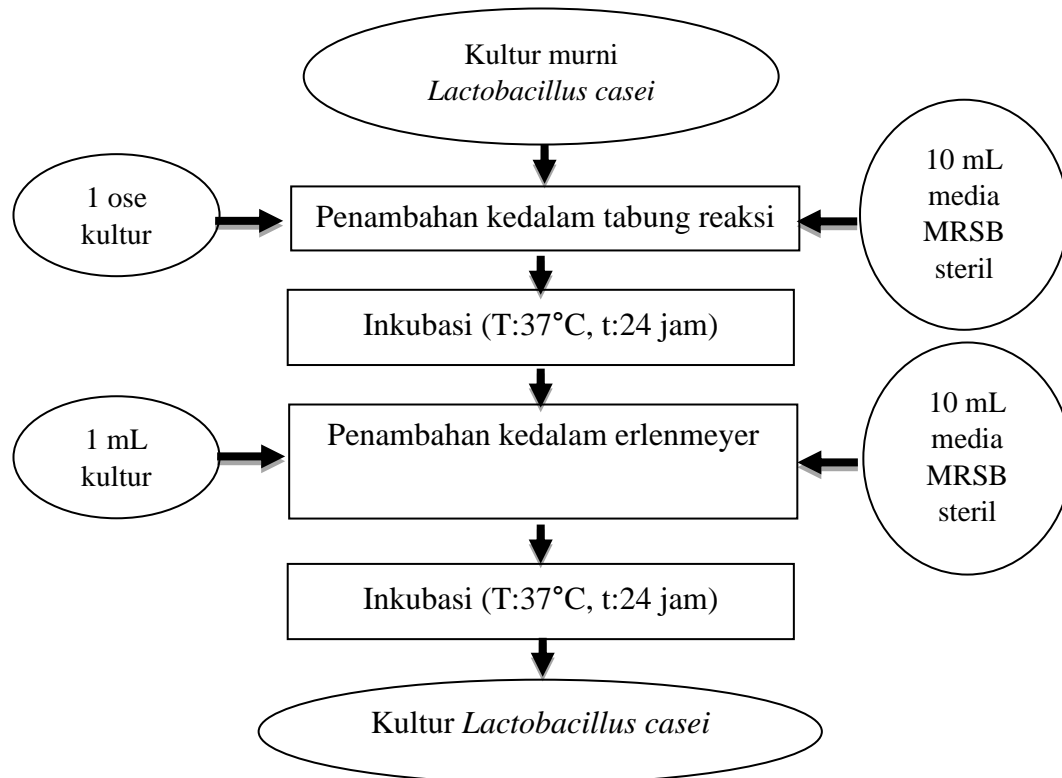
3.4.2 Persiapan Kultur Bakteri

Persiapan kultur bakteri uji adalah sebagai berikut :

a. Persiapan *Lactobacillus casei* (Fardiaz, 1989).

Kultur murni *Lactobacillus casei* diambil sebanyak 1 ose. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL media MRSB steril. Kemudian MRSB tersebut dimasukkan ke dalam inkubator 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, *Lactobacillus casei* kembali disegarkan dengan mengambil 5 mL kultur murni steril dari tabung MRSB lama ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 mL media

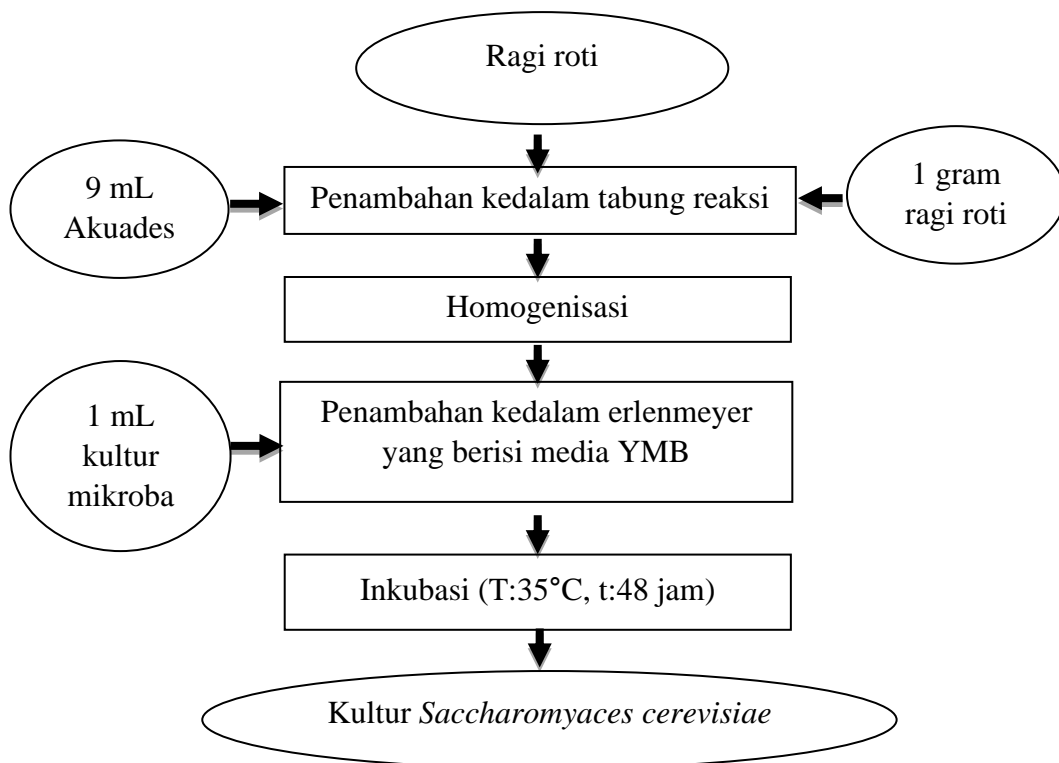
MRSB baru. Selanjutnya, MRSB diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu 37°C. Adapun diagram alir pembuatan kultur *Lactobacillus casei* dapat dilihat pada Gambar 7 berikut :



Gambar 7. Diagram alir pembuatan kultur *Lactobacillus casei* (Fardiaz, 1989).

b. Persiapan *Saccharomyces cerevisiae* (Febriyanti et al., 2017)

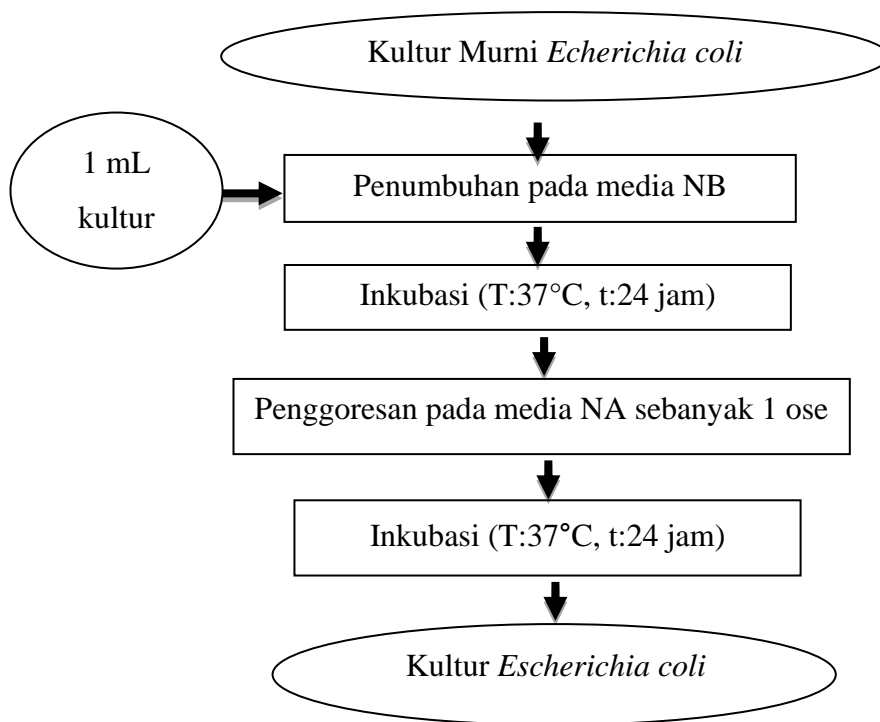
Sebanyak 1 gram ragi roti merek fermipan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 9 mL akuades steril lalu dikocok hingga menjadi homogen. Inokulun dibiakkan pada medium YMB dengan mengambil 1 ml larutan menggunakan pipet, lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 48 jam. Adapun diagram alir pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae* disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae* (Febryanti et al, 2017)

c. Persiapan *Escherichia coli* (Franklin et all, 2012)

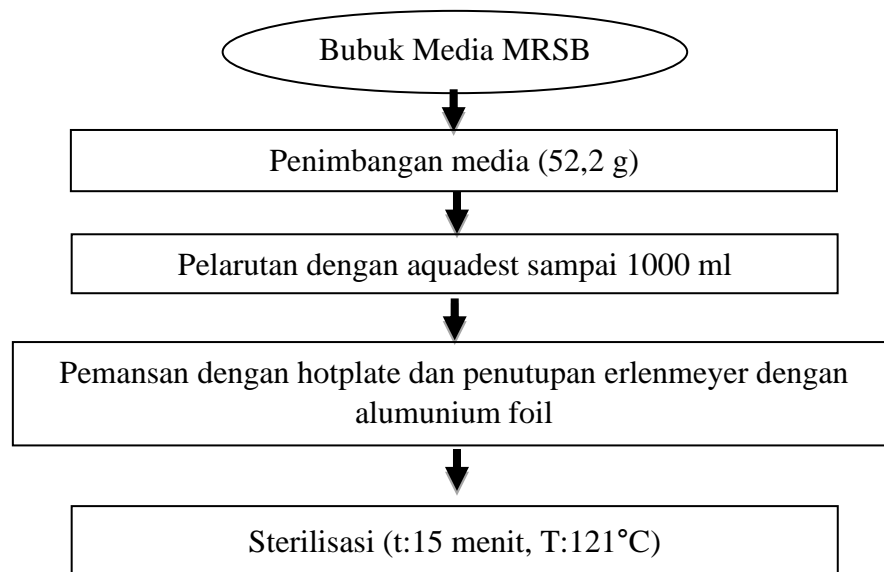
Persiapan *Escherichia coli* menggunakan media Nutrient Broth, dan media Nutrient Agar miring. *Echerichia coli* sebanyak 1 ose ditumbuhkan pada media Nutrient Broth (NB), selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian, diambil 1 ose dan digores pada permukaan medium Nutrient Agar (NA) agar miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adapun diagram alir pembuatan kultur *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir pembuatan kultur *Escherichia coli* (Franklin et all, 2012)

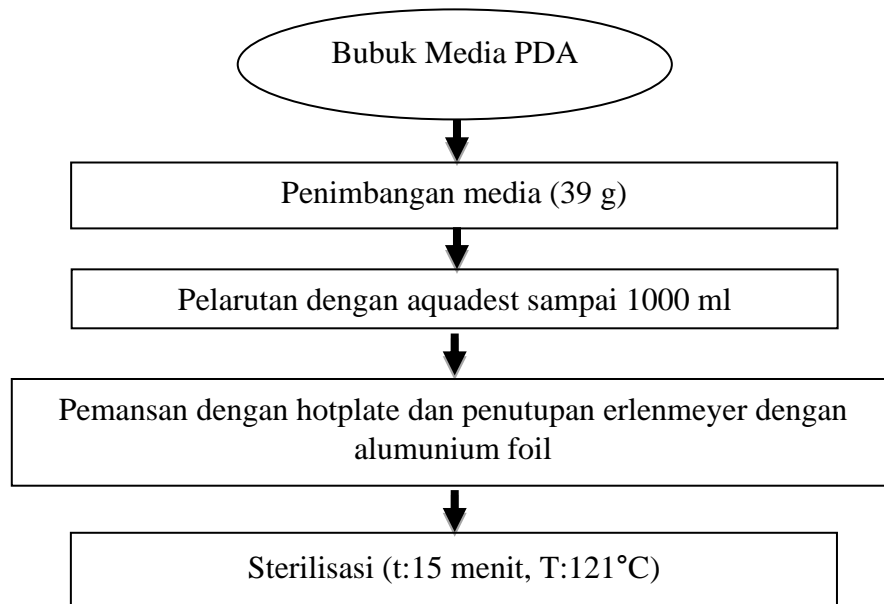
3.4.4. Persiapan Media Pertumbuhan

a. Persiapan Media MRSB



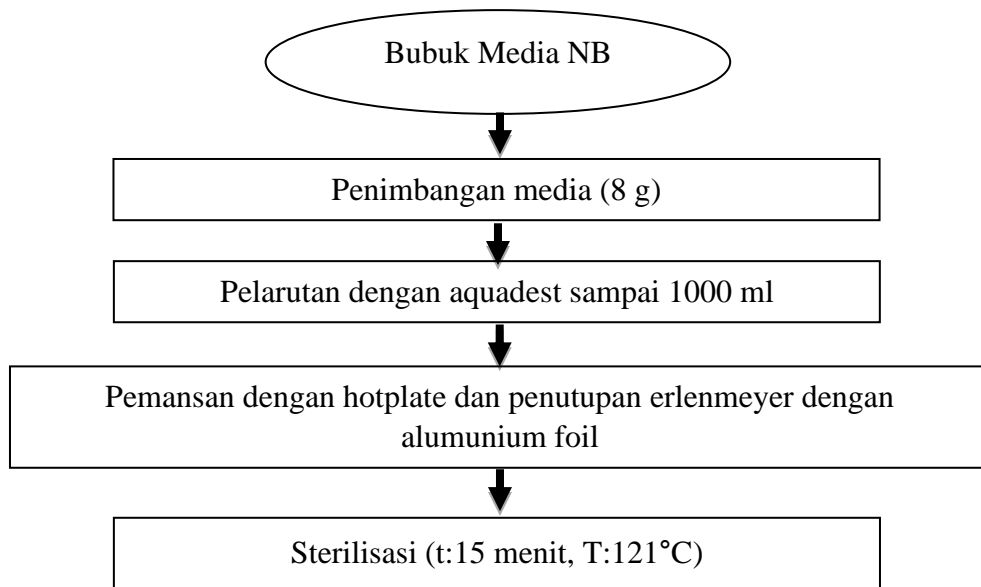
Gambar 10. Persiapan Media MRSB (Fardiaz, 1989).

b. Persiapan Media PDA (Sa'adah, 2018)



Gambar 11. Persiapan Media PDA (Sa'adah, 2018)

c. Persiapan Media NB (Fardiaz, 1989).

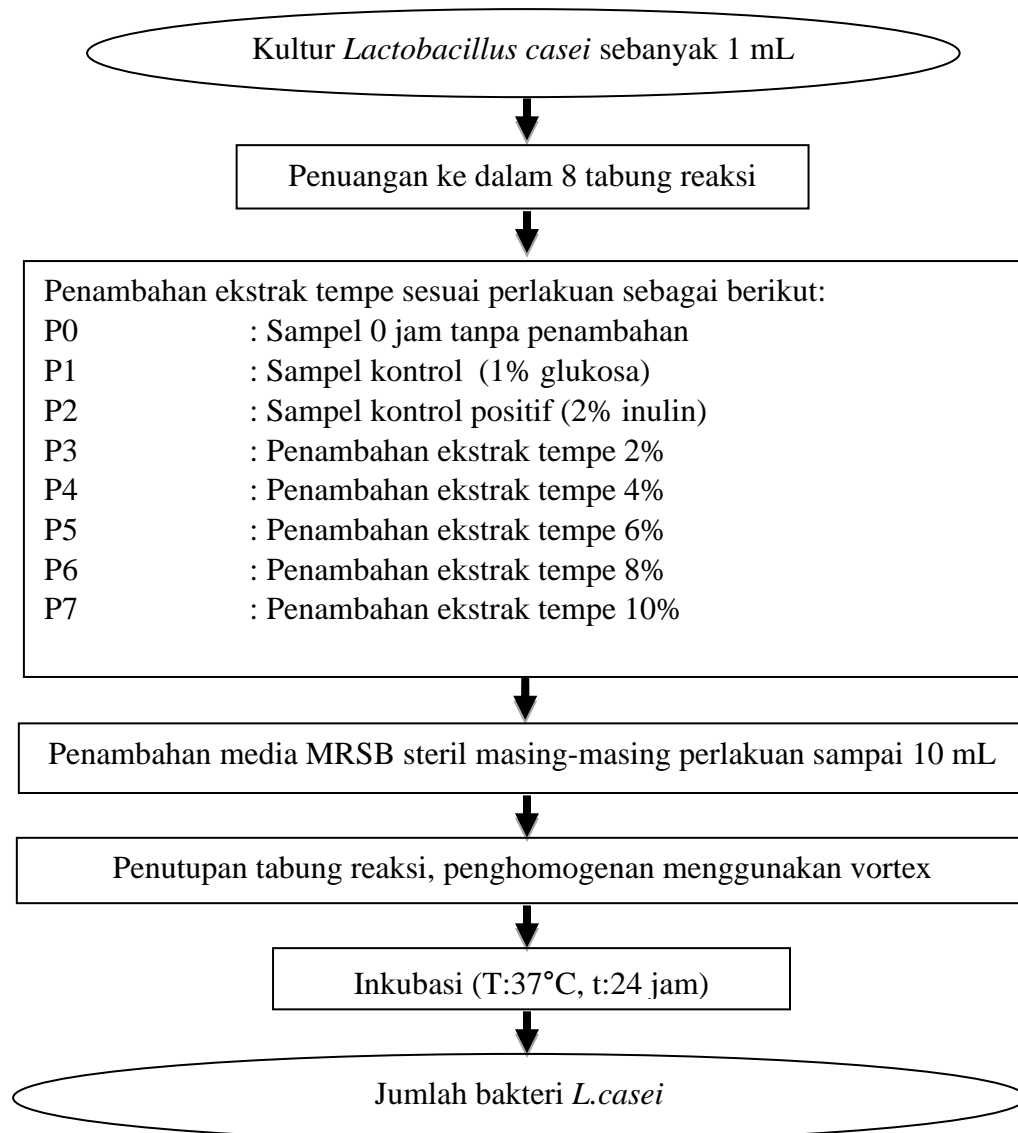


Gambar 12. Persiapan Media NB (Fardiaz, 1989).

3.4.5. Pengujian Prebiotik Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Lactobacillus casei*, Khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan Bakteri *Escherichia coli*

a. Pengujian Prebiotik Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Lactobacillus casei*

Delapan tabung reaksi 1 mL diisi dengan kultur *Lactobacillus casei*. Kemudian ditambahkan ekstrak tempe sesuai perlakuan sebagai berikut : P0 media tumbuh mikroba tanpa penamabahn substrat, (P1) substrat glukosa 1%, (P2) inulin 2%, (P3) ekstrak tempe 2%, (P4) ekstrak tempe 4%, (P5) ekstrak tempe 6%, (P6) ekstrak tempe 8 %, (P7) ekstrak tempe 10%. Setiap perlakuan diisi dengan media MRSB steril hingga volume total 10 mL. Selanjutnya tabung reaksi ditutup dan dihomogenkan menggunakan vortex. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C secara anaerobik dan diperoleh prebiotik ekstrak tempe. Pengujian prebiotic ekstrak tempe terhadap bakteri *Lactobacillus casei* disajikan pada Gambar 13.

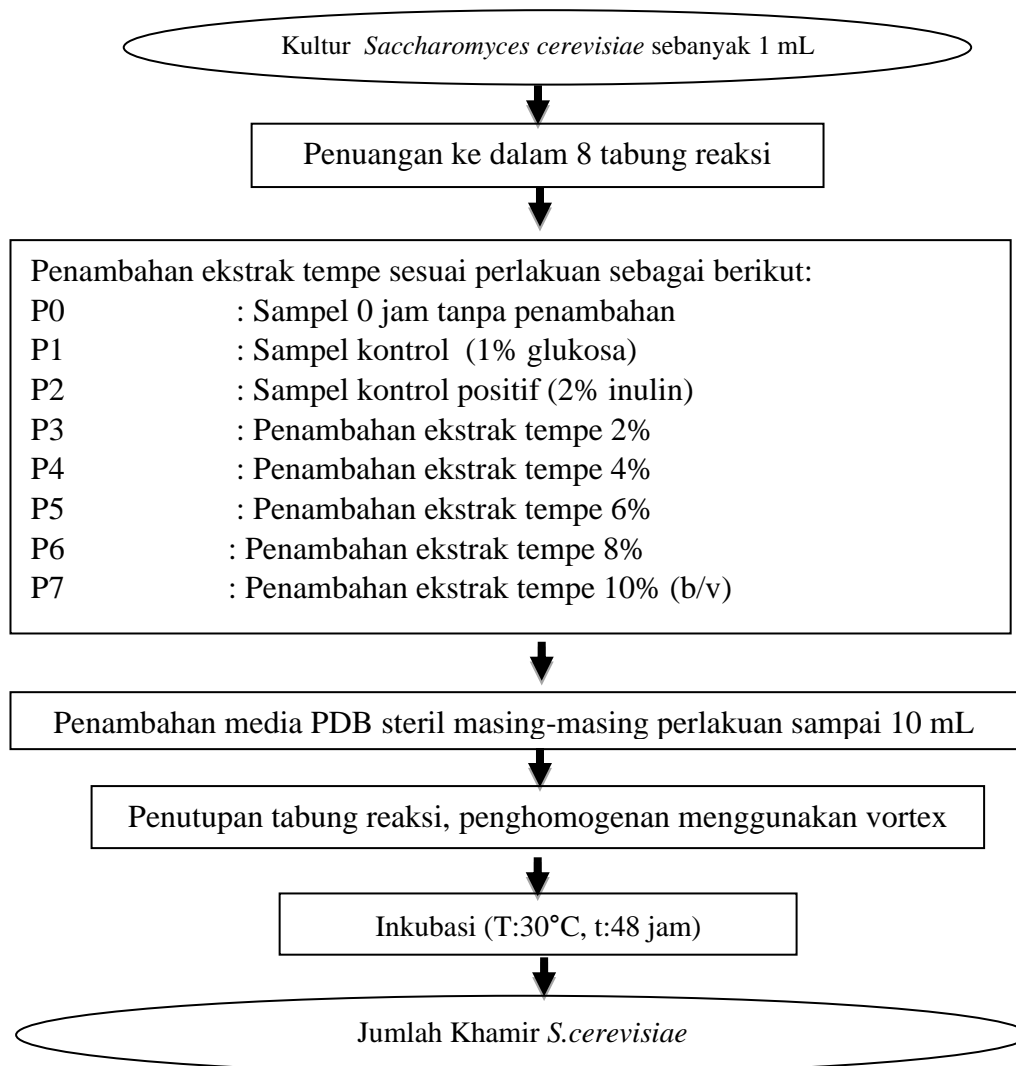


Gambar 13. . Diagram alir pengujian sifat prebiotik ekstrak tempe terhadap bakteri *Lactobacillus casei* (Figuroa-gonzález et al., 2019 dimodifikasi)

b. Pengujian Prebiotik Ekstrak Tempe Terhadap *Saccharomyces cerevisiae*

Delapan tabung reaksi 1 mL diisi dengan kultur *Saccharomyces cerevisiae* Kemudian ditambahkan ekstrak tempe sesuai perlakuan sebagai berikut : P0 media tumbuh mikroba tanpa penamabahn substrat, (P1) substrat glukosa 1%, (P2) inulin 2%, (P3) ekstrak tempe 2%, (P4) ekstrak tempe 4%, (P5) ekstrak tempe 6%, (P6) ekstrak tempe 8 %, (P7) ekstrak tempe 10%. Setiap perlakuan diisi dengan media PDB steril hingga volume total 10 mL. Selanjutnya tabung reaksi ditutup dan

dihomogenkan menggunakan vortex. Sampel diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam secara anaerobik dan diperoleh prebiotik ekstrak tempe. Pengujian prebiotik ekstrak tempe terhadap bakteri *Saccharomyces cerevisiae* disajikan pada Gambar 14.

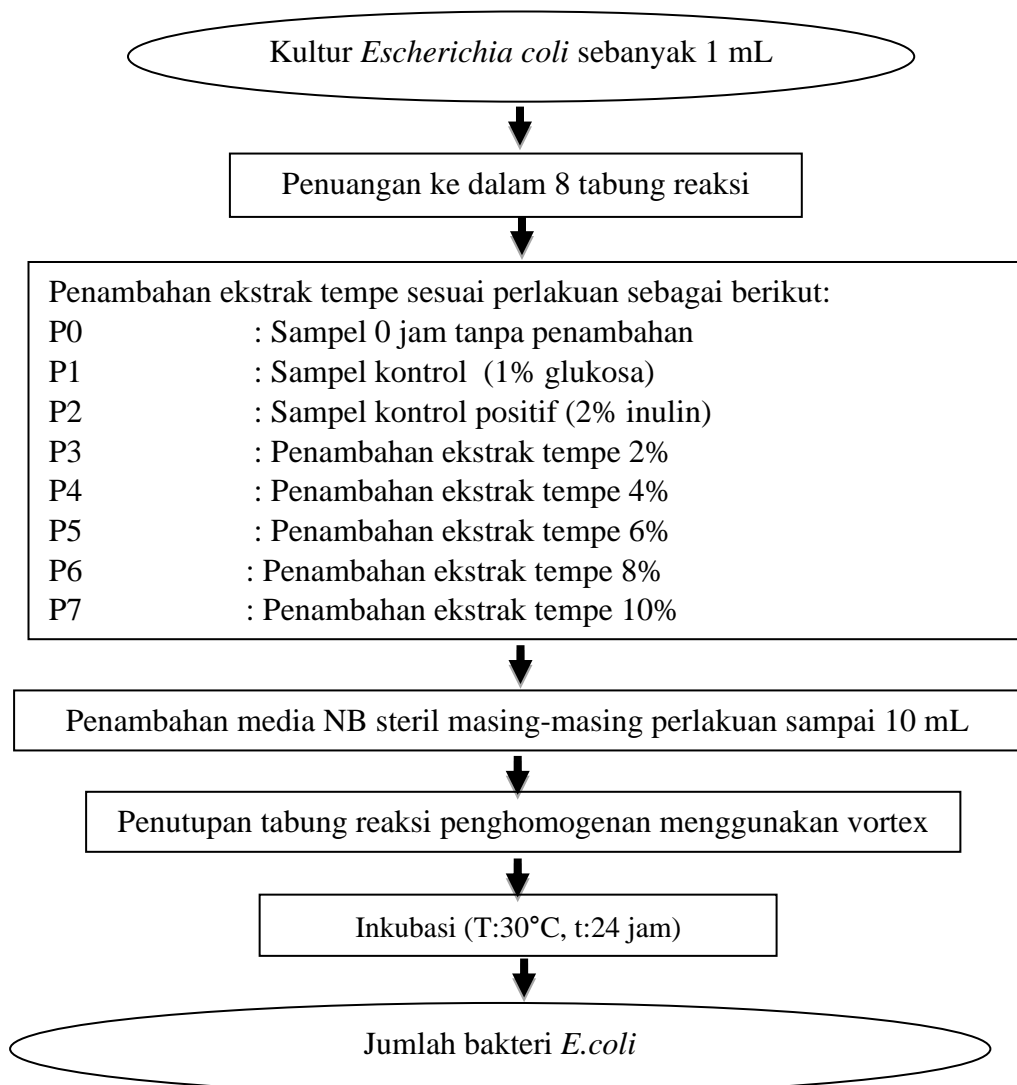


Gambar 14. Diagram alir pengujian sifat prebiotik ekstrak tempe terhadap khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Figuroa-gonzález et al., 2019 dimodifikasi)

c. Pengujian Prebiotik Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Delapan tabung reaksi 1 mL diisi dengan kultur *Escherichia coli*. Kemudian ditambahkan ekstrak tempe sesuai perlakuan sebagai berikut : P0 media tumbuh mikroba tanpa penamabahn substrat, (P1) substrat glukosa 1%, (P2) inulin 2%, (P3) ekstrak tempe 2%, (P4) ekstrak tempe 4%, (P5) ekstrak tempe 6%, (P6) ekstrak tempe 8 %, (P7) ekstrak tempe 10%. Setiap perlakuan diisi dengan media

NB steril hingga volume total 10 mL. Selanjutnya tabung reaksi ditutup dan dihomogenkan menggunakan vortex. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam secara anaerobik dan diperoleh prebiotik ekstrak tempe. Pengujian prebiotik ekstrak tempe terhadap bakteri *Escherichia coli* disajikan pada Gambar 15.



Gambar 15. Diagram alir pengujian sifat prebiotik ekstrak tempe terhadap bakteri *Escherichia coli* (Figueroa-gonzález et al., 2019 dimodifikasi)

3.5. Pengamatan

3.5.1. Total Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus casei*)

Total BAL siukur menggunakan metode *spread plate*, Satu mililiter sampel ditambahkan ke sembilan mililiter larutan garam fisiologis steril. Campuran tersebut diperoleh pengenceran 10^1 , kemudian dihomogenkan dan diambil 1 mL

sampel dari tabung pertama dan ditambahkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis dalam tabung reaksi berikutnya, menghasilkan pengenceran 10^2 , dan seterusnya, hingga pengenceran yang diinginkan (10^7 hingga 10^9). Sampel diambil sebanyak 0,1 mL dengan menggunakan mikropipet dan dituangkan ke dalam cawan petri steril yang berisi sekitar 10-15 mL media MRS Agar yang telah padat, ratakan menggunakan batang pengaduk, biarkan sampai permukaan agar mengering. Selanjutnya diinkubasi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam, diamati pertumbuhan dan jumlah koloni bakteri dihitung menggunakan perhitungan manual. Jumlah koloni harus antara 30 dan 300 per cawan petri agar dapat memenuhi standar *International Commission Microbiology Food* (ICMF).

$$\text{Koloni per mL (CFU/mL)} = \text{Jumlah Koloni terhitung} \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

3.5.2. Total Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

Total *Saccharomyces cerevisiae* diukur menggunakan metode *pour plate*, Satu mililiter sampel ditambahkan ke sembilan mililiter larutan garam fisiologis steril. Campuran tersebut diperoleh pengenceran 10^1 , kemudian dihomogenkan dan diambil 1 mL sampel dari tabung pertama dan ditambahkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis dalam tabung reaksi berikutnya, menghasilkan pengenceran 10^2 , dan seterusnya, hingga pengenceran yang diinginkan (10^6 hingga 10^8). Sampel diambil sebanyak 0,1 mL dengan menggunakan mikropipet dan dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian ditambahkan media PDA sekitar 10-15 mL, ratakan dengan cara digoyangkan secara perlahan, biarkan sampai agar mengering. Selanjutnya diinkubasi terbalik pada suhu 30°C selama 48 jam, diamati pertumbuhan dan jumlah koloni bakteri dihitung menggunakan perhitungan manual. Jumlah koloni harus antara 30 dan 300 per cawan petri agar dapat memenuhi standar *International Commission Microbiology Food* (ICMF)

3.5.3. Total Bakteri *Escherichia coli*

Total *Escherichia coli* diukur menggunakan metode *spread plate*, Satu mililiter sampel ditambahkan ke sembilan mililiter larutan garam fisiologis steril.

Campuran tersebut diperoleh pengenceran 10^1 , kemudian dihomogenkan dan diambil 1 mL sampel dari tabung pertama dan ditambahkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis dalam tabung reaksi berikutnya, menghasilkan pengenceran 10^2 , dan seterusnya, hingga pengenceran yang diinginkan (10^7 hingga 10^9). Sampel diambil sebanyak 0,1 mL dengan menggunakan mikropipet dan di tuangkan kedalam cawan petri steril yang berisi sekitar 10-15 mL media MRS Agar yang telah padat, ratakan menggunakan batang pengaduk, biarkan sampai permukaan agar mengering. Selanjutnya diinkubasi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam, diamati pertumbuhan dan jumlah koloni bakteri dihitung menggunakan perhitungan manual. Jumlah koloni harus antara 30 dan 300 per cawan petri agar dapat memenuhi standar *International Commission Microbiology Food* (ICMF).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan berikut dibuat berdasarkan temuan yang disajikan di atas:

1. Tempe termodifikasi berpotensi mendukung pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan *Saccharomyces cerevisiae* namun menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*
2. Uji lanjut dengan taraf 5% terhadap pertumbuhan total *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* masing-masing berbeda nyata pada taraf 5%, namun variasi konsentrasi ekstrak tempe termodifikasi tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan ketiga mikroba tersebut. Sama halnya dengan uji lanjut dengan taraf 5% terhadap pertumbuhan total *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* dengan penambahan substrat ekstrak tempe komersil tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan ketiga mikroba tersebut.
3. *Lactobacillus casei* dan *Saccharomyces cerevisiae* lebih optimal tumbuh dalam substrat yang mengandung ekstrak tempe termodifikasi, namun *Escherichia coli* tidak tumbuh dalam substrat ekstrak tempe termodifikasi, dan tumbuh optimal dalam substrat yang mengandung glukosa. Kecuali pada substrat yang mengandung ekstrak tempe komersil, *Escherichia coli* masih dapat tumbuh pada konsentrasi ekstrak tempe 2% sebesar (4,456 Log CFU/mL).

5.2 Saran

Kemungkinan rekomendasi timbul pada penelitian ini ialah hasil ekstrak tempe dengan metode maserasi perlu Analisis fitokimia digunakan untuk mengidentifikasi komponen tambahan ekstrak tempe.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan khamir *saccharomyces cerevisiae* untuk ternak. *WARTAZOA*. 15(I): 49–55.
- Álvarez-Astorga M.R., Capita J,C., Alonso B., Moreno M,C., García. 2002. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. *Jurnal Meat Science*. 62(1): 45-50.
- Amalia,S., Wahdaningsih,S., Utari, E.K. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus Britton & Rose*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 1(2): 61-64.
- Andriani, A. D., Lokapirnasari, W. P., Karimah, B., Hidanah, S., Al-arif, M. A., dan Harijani, N. 2020. Efektifitas Probiotik *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus rhamnosus* Sebagai Pengganti *Antibiotic Growth Promoter* Terhadap Total Kolesterol , Low Density Lipoprotein dan High Density Lipoprotein Ayam Broiler. *Jurnal Medik Veteriner*. 3(1): 114–122.
- Aritonang, S. N., Roza, E., dan Rosi, E. 2019. *Probiotik dan Prebiotik Dari Kedelai untuk Pangan Fungsional In Pedoman Gobal Gastroenterologi Dunia..* Indomedia Pustaka, Sidoarjo. 25-118 hlm.
- Astawan, M., Wresdiyati, T., dan Ichsan, M. 2016. Karakteristik Fisikokimia Tepung Tempe Kecambah Kedelai (*Physicochemical Characteristics of Germinated Soybean Tempe Flour*). *Jurnal Pangan Dan Gizi*, 11(1) : 35–42.
- Ayu P, L. 2015. *Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Tempe Kedelai (Glycine max. L) Sebagai Agen Pemutih Kulit Alami.* (Skripsi). Universitas Jember. 4–153.
- Azhar, M. 2009. Inulin sebagai prebiotik. *Jurnal Sainstek*, 12(1): 1–8.
- Babu, P.D., Bhakyaraj, R., and Vidhayalakshmi, R. 2009. Low Cost Nutritious “Tempeh”. *Word Journal Daily Food Science*. 4: 22-27.

- Bintari, S. H., Dyah, A., Eka, V., dan Rivana, C. 2009. Efek Inokulasi Bakteri *Micrococcus luteus* Terhadap Pertumbuhan Jamur Benang dan Kandungan Isoflavon pada Proses Pengolahan Tempe (Effect Inoculation of *Micrococcus luteus* to Growth of Mold and Content Isoflavone at Tempe Processing). *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 1(1), 1–9.
- Brata, A.M., Arbai. 1999. *Cholesterol Lowering Effect of Tempe. The Complete Handbook of Tempe: The Unique Fermented Soyfood of Indonesia*. American Soybean Association, Singapura. 51-70 hlm.
- Brownawell, A. M., Caers, W., Gibson, G. R., Kendall, C. W. C., Lewis, K. D., Ringel, Y., and Slavin, J. L. 2012. Prebiotics and the health benefits of fiber: Current regulatory status, future research, and goals. *Journal of Nutrition*, 142(5): 962–974.
- BSN. 2009. *Standar Mutu Tempe Kedelai SNI 3144*. Badan Standar Nasional, Jakarta. 17 hlm.
- Budhisatria, R.. 2017. In Vitro and In Vivo Prebiotic Activities of Purified Oligosaccharides Derived from Various Local Bananas (*Musa sp.*): Tanduk , Uli , Raja Sereh , and Cavendish. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 11(2) :55-61.
- Collado, M. C., E. Isolauri., S. Salmien., and Sanz. 2009. The impact of probiotic on gut health. *Jurnal Curr Drug Metab*. 10(1):68-78.
- Charteris, W. P., P. M. Kelly., L. Morelli., and J. K. Collins. 1998. Ingredient selection criteria for probiotic microorganism in functional dairy product. *Internasional jurnal Dairy Technology*. 51(4): 123-136
- Dhurhania, C. E., and Istantini, E. 2021. Analisis Kadar Flavonoid Total Tempe Kedelai Secara Spektrofotometri Visibel. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 17(2): 72-88
- Dwinaningsih, E. A. 2010. *Karakteristik Kimia Dan Sensori Tempe Dengan Variasi Bahan Baku Kedelai / Beras Dan Penambahan Angkak Serta Variasi Lama Fermentasi*. (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. 5(3) : 27–78.
- Efriwati, Suwanto, A., Rahayu, G., and Nuraida, L. 2013. Populations Dynamic of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB) during Tempeh Production. *Hayati Journal of Biosciences*. 20(2): 57-64.

- Egra, S. Mardhiana, Mut R, Muhammad A, Nur J, Harlinda K, Tohr M. 2019. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *GROVIGOR*. 12(1): 26–31.
- Espinosa dan Ruperez. 2006. Soybean oligosaccharides . Potential as new ingredients in functional food. *Nutr Hosp*. 21(9):2-6.
- FAO/WHO. 2007. *The Role of Carbohydrates in Nutrition*. Chapter dalam FAO/WHO Expert Consultation on Carbohydrates in Human Nutrition, Roma. 1-9.
- Fardiaz, S. 1987. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi*. FATETA IPB. Bogor. 102 hlm.
- Febriyanti, A. E., Sari, C. N., dan Adisyahputra, A. 2017. Efektivitas Media Pertumbuhan Khamir Komersial (*Saccharomyces Cerevisiae*) Untuk Fermentasi Bioetanol Dari Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*). *Bioma*. 12(2) : 112.
- Figuroa-gonzález, I., Rodríguez-serrano, G., Gómez-ruiz, L., García-garibay, M., and Cruz-guerrero, A. 2019. Prebiotic effect of commercial saccharides on probiotic bacteria isolated from commercial products. *Food Science and Technology* 2061(3) : 747–753.
- Franklin, *et all*. 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard - Eleventh edition. *Jurnal Clinical and Laboratory Standards Institute*. 32(1): 2-11.
- Fuller, R. 1992. *Probiotics The Scientifif Basis*. Chapman and Hall. London. 398 hlm.
- Fuller, R. 1997. *Probiotic 2: Applications and Practical Aspects*. Great Britain: Chapman and Hall. 439-442.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., and Lilburn, T.G. 2004. *Taxonomic Outline of the Procaroyotes*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edition, Release 5.0, Springer-Verlag, New York 191-356.
- Gibson, G. R., and B. Roberfroid. 1995. Dietary Modulation Of The Human Colonic Microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Jurnal. Nutri*. 125 : 1401-1412.

- Hardisari, R., Amaliawati, N. 2016. Manfaat Prebiotik Tepung Pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypica*) terhadap Pertumbuhan Probiotik *Lactobacillus casei* secara In Vitro. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 5(2) : 64–67.
- Hartawan, M.B. 2009. *Kajian Sifat Prebiotik Susu Jagung Manis Kacang Hijau*. (Skripsi) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Lampung. 01-63.
- Hidayati, S.C, et al. 2016. Pertumbuhan *Escherichia Coli* Yang Diisolasi Dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* [Wight.] Walp.). *Jurnal Medika Veterinaria*. 10(2): 101-104.
- Huebner, J., R.L. Wehling, and R.W. Hutkins. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*. 17 : 770-775.
- Indratingsih, W. S., Salasia, S., dan E. Wahyuni. 2004. Produksi Yoghurt Shiitake (Yohsitate) Sebagai Pangan Kesehatan Berbasis Susu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 15(1) : 54-60.
- Indonesia, P. D. dan I. K. K. R. 2013. *Peta Kesehatan Indonesia Tahun 2012*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 1689–1699.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Alih Bahasa: Huriwati Hartono dkk. Jakarta. 862 hlm.
- Jenie, B. S. L. 1996. Peranan Bakteri Asam Laktat sebagai Pengawet Hayati Makanan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 1(2) : 60-73.
- Jumiyati, S. H. Bintari, I. Mubarak. 2012. Isolasi dan Identifikasi Khamir Secara Morfologi di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Jurnal Biosaintifika*. 4(1): 27-35.
- Karsinah, Lucky, H.M., Suharto, Mardiasuti, H.W. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran : Batang Negatif Gram Escherichia*. Binarupa Aksara, Tangerang. 8- 195 hlm.
- Karyadi D, Hermana H. 1995. *Potensi Tempe Untuk Gizi dan Kesehatan*. Puslitbang Gizi, Bogor. 1940 hlm.
- Kasmidjo, R.B. 1990. *Tempe: Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan Serta Pemanfaatannya*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta. 133 hlm.

- Khodijah, S., & Ahmad, A. 2015. (*Saccharomyces cerevisiae*) Dan Waktu Pada Proses Fermentasi Dalam Pemanfaatan Duckweed. *Jurnal Neutrino*, 7(2) : 71–76.
- Krismaputri, M. E., N. Suthama, dan Pramono, Y. B. 2019. Pemberian prebiotik *soybean* oligosakarida dari ekstrak bungkil dan kulit kedelai terhadap perlemakan dan bobot daging pada ayam broiler. *Jurnal Pengembangan Penyuluhan Pertanian*. 13(24): 99-105.
- Kustyawati, M,E,. 2009. Kajian peran yeast dalam pembuatan tempe. *Jurnal Agritech*. 29(2) : 64–70.
- Kustyawati, M,E, Pratama, F., Saputra, D., dan Wijaya, A. 2014. Modifikasi Warna, Tektur Dan Aroma Tempe Setelah Diproses Dengan Karbon Dioksida Superkritik. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. 25(2) : 168–175.
- Mahmud, F.K. 2004. *Aplikasi Fluidized Bed Reactor Dengan Galaktisidase Amobil Dari Escherichia coli Untuk Produksi Senyawa Prebiotik Galaktoligosakarida*. (Skripsi). Universitas Jember. 1-84.
- Mancini, S., dan Paci, G. 2021. Probiotics in rabbit farming: Growth performance, health status, and meat quality. *Animals*, 11(12) : 3388
- Marteau,P., P. Pochard., Y. Bouhnik dan J.C Rainbaud. 1993. *The Fate and Effects of Transiting Non-Pathogenic Microorganisms in the Human Intestine*. World Review Of Nutrition And Dietetics. 74 hlm.
- Mawaddah,N., Fakhrurrazi, Rosmaidar. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *JIMVET*. 2(3):230-241
- McDonald, P., R. Edwards dan J. Greenhalgh. 2002. *Animal Nutrition*. 6th. New york. 479 hlm.
- Mudjajanto, S.E. dan L.N.Yulianti. 2004. *Membuat Aneka Roti*. Penerbit Swadaya, Jakarta. 80 hlm.
- Naidu, A.S. and R.A. CLEMENS. 2000. *Probiotics*. In: *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC Press, LLC. 431-462.
- Ngatirah, N. 2009. Probiotik, prebiotik dan sinbiotik. *Agroteknose*, 4(2), 46–48.
- Nurhariyati T, Ni'matuzahroh dan Surtiningsih T. 2004. Keanekaragaman khamir

- pendegradasi minyak hasil isolasi dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. *Jurnal Berkala Penelitian Hayati*. 9(2): 87-91.
- Nurhidajah, N. 2010. Aktivitas Antibakteri Minuman Fungsional Sari Tempe Kedelai Hitam Dengan Penambahan Ekstrak Jahe. *Jurnal Pangan Dan Gizi*. 1(2): 116194.
- Nursalam, 2016. (2013). Probiotik. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9) : 1689–1699.
- Pato, U. 2004. Potensi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Kadar Kolesterol Darah. *Agritech*. 24(1) : 1–8.
- Pawiroharsono S. 1995. *Metabolisme Isoflavon dan Faktor II (6,7,4' Trihidroksi Isoflavon) pada Proses Pembuatan Tempe*. Simposium Nasional Peng 1 Pengembangan Tempe dalam Industri Pangan Modern. 165- 174.
- Prastyaharsasti, Lila dan Elok Zubaidah. 2014. Evaluasi Pertumbuhan *Lactobacillus casei* dalam Medium Susu Skim yang Disubstitusi Tepung Beras Merah. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (4): 285-296.
- Radji, M., Biomed,M. 2016. *Buku Ajar Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC. Jakarta. 320 hlm.
- Rahayu, N. A., Cahyanto, M. N., & Indrati, R. 2019. Pola Perubahan Protein Koro Benguk (*Mucuna pruriens*) Selama Fermentasi Tempe Menggunakan Inokulum Raprima. *AgriTECH*. 39(2) : 128.
- Rompas, R. A., H. J. Edy, A. Yudistira. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dalam Daun Lamun (*Syringodium Isoetifolium*). *Pharmacon*. 1(2): 59-63.
- Roubus-van den HPJ, Nout MJR, van der Meulen J, Gruppen H. 2010. Bioactivity of Tempe by Inhibiting Adhesion of ETEC to Intestinal cell. *Food Microbiol* 27: 638-644.
- Sa'adah. 2018. *Pembiakan Khamir Saccharomyces Cerevisiae Dan Uji Antagonis Terhadap Gloeosporium Sp. Penyebab Penyakit Busuk Buah Pada Apel*. (Skripsi), Universitas Brawijaya 1-67.
- Salahudin, F., & Utomo, P. P. 2012. Pengurangan Rafinosa Dan Stakiosa Oleh *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus plantarum* pada Fermentasi Kedelai Farid

- Salahudin dan Pramono Putro Utomo. *Biopropal Industri*. 3(2) : 71–75.
- Salminen, S., A. Ouwehand, Y. Benno, and Y.K. Lee. 1999. *Probiotics: how should be defined*. *Trends in food Science and Technology*. 10: 107-110.
- Sangwan, V., Tomar, S. K., Singh, R. R. B., Singh, A. K., dan Ali, B. 2011. Galactooligosaccharides: Novel Components of Designer Foods. *Journal of Food Science*. 76(4) : 103-111.
- Shahravy, A., F. Tabandeh., B. Bambahi., H.R. Zamanizadeh M. Mizani. 2012. Optimization of Probiotic *Lactobacillus casei* ATCC Production Using Date Powder as Carbon Source. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 18 (2) : 278-282.
- Shoaf, K., Mulvey, G. L., Armstrong, G. D., dan Hutkins, R. W. 2006. Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to tissue culture cells. *Infection and Immunity*. 74(12) : 6920–6928.
- Sila, V. U. R., Masing, F. A., dan Santiari, M. 2022. Identifikasi Dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Endemik Asal Desa Fatunisan Kabupaten Timor Tengah Utara. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*. 11(1) : 184–191.
- Simbolon.,N.C. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Khamir Potensial Penghasil Bioetanol Dari Industri Arak Di Karangasem Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 6(4): 316-326.
- Songer, J.G., and K.W. Post. 2005. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*. Elsevier Saunders: Missouri. USA. 434 hlm.
- Subakti, K.A.R. 2016. Stimulasi Pertumbuhan *Lactobacillus Casei* Subsp. *Rhamnosus* Pada Media Yang Disuplementasi Tepung Rebung Bambu Tabah (*Gigantochloa Nigrociliata* Buse-Kurz). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 4 (1): 45-51.
- Sukardi. 2001. Optimasi Penurunan Kandungan Oligosakarida Pada Pembuatan Tepung Ubijalar Dengan Cara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Pangan Universitas Brawijaya*. 2(1): 40–50 hlm.
- Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., Sutrisno, C. I., dan Rahayu, E. S. 2012. Peran Probiotik Bakteri Asam Laktat terhadap Produktivitas Unggas. *Jurnal*

Litbang Provinsi Jawa Tengah. 10(1) : 1–9.

- Sutiknowati, L. I. 2016. Bioindikator pencemar, bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Oseana*. 41(4): 63-71.
- Trisno, K., Ketut, T.P, I Gusti, K.S. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* dari Udara pada Rumah Potong Unggas Swasta di Kota Denpasar. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 8(5): 685-694.
- U.S Wheat Associates. 1981. *Pedoman Pembuatan Roti dan Kue*. Djambatan. Jakarta. 278 hlm.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., dan Permana, I. D. G. M. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 7(4) : 213.
- Verdier K, Nyman A, Greko C, Bengtsson B. 2012. Antimicrobial resistance and virulence factors in *Escherichia coli* from Swedish dairy calves. *Acta Veterinaria Scandinavica* . 54(2): 1-10.
- Wahdaningsih, S., E. K. Untari., dan Y. Fauziah. 2014. Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura, Pontianak*. ISSN 2407-2354. 1(3) : 180-193.
- Wang, Y. 2009. Prebiotics: *Present and future in food science and technology*. *Food Research International*. 42(1) : 8–12
- Wardhani, lilies kusuma, dan Sulistyani, N. 2012. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L .) Moq .) Terhadap *Shigella Flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1) : 1–16.
- Widowati, E., Si, S., Andriani, I. M., Kusumaningrum, A. P.2011. Kajian Total Bakteri Probiotik Dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe Dengan Variasi Substrat. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 4(1) : 18–31.
- Widhyari SD, Wientarsih I. 2014. Pengimbuhan kunyit dan seng oksida dalam pakan meningkatkan kemampuan ayam pedaging dalam mengeliminasi tantangan infeksi *Escherichia coli*. *Jurnal Veteriner*. 15(3): 337-344.

- Wihansah, R. R. S., et al. 2018. Pengaruh Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Adaptasi *Escherichia coli* pada Cekaman Lingkungan Asam. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 13(1) : 36–42.
- Winanti, R. 2014. Higienitas Produk Tempe Berdasarkan Perbedaan Metode Inokulasi. *Unnes Journal of Life Science*. 3(1), 39–46.
- Zikra,W., Arni, A., Andani,E,P. 2018. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*) pada Air Minum di Rumah Makan dan Cafe di Kelurahan Jati serta Jati Baru Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7(2): 212-216.