

PERBANDINGAN JUMLAH TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT DARI DUA SAMPEL TEMPE BERBEDA DI BEKASI

Qurrota Aýun^{1*)}, Karina Sheilla Nazua²⁾, Isnain Ardiani³⁾, Imelda Pujiharti⁴⁾

^{1*)}E-mail: qurrotaayun.fst@uia.ac.id

²⁾E-mail: sheillanana90@gmail.com

³⁾E-mail: isnainaina@gmail.com

⁴⁾E-mail: imelda100409@gmail.com

^{1),2),3)} Program Studi Biologi, FST Universitas Islam As-Syafiíyah, Jakarta

⁴⁾ Akademi Keperawatan, FIKES Universitas Islam As-Syafiíyah, Jakarta

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) are included in one of the beneficial microorganisms found in tempeh. The nutrients contained in tempeh help LAB produce active metabolites, so that these compounds can play a role in maintaining the health of the human digestive tract. LAB is able to suppress the growth of pathogenic bacteria, can increase the aroma, taste and color of tempeh. Tempeh making is still done traditionally and is done for generations in different ways. This allows the growth of differences in the number of LAB in each tempeh. The aims of study was to determine the comparison of the total amount of LAB in two different tempeh samples. The samples used were tempeh D and E from Bekasi and from different craftsmen. The method used is stratified dilution with a spread plate. The total LAB count is carried out on dishes containing 25-250 colonies using the Total Plate Count (TPC) formula. Identification is carried out macroscopically and microscopically. The results showed that tempeh D and E samples had different total LAB 5.6×10^6 and 1.2×10^7 CFU/g. The tempeh E sample had the highest rather than tempeh D. Both tempeh samples met the requirements of the probiotic bacteria standard, which is 10^6 to 10^7 CFU / g. Macroscopically, both tempeh samples had LAB with a milky white colony color, rounded, flat edges and convex elevation. Meanwhile, microscopically LAB is Gram positive with diverse cell shapes.

Keywords: Lactid acid bacteria; Colonies; Probiotics; Tempeh; TPC.

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) termasuk dalam salah satu mikroorganisme menguntungkan yang ditemukan didalam tempe. Nutrisi yang terdapat didalam tempe membantu BAL menghasilkan metabolit aktif sehingga senyawa tersebut dapat berperan dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan manusia. BAL mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen, dapat meningkatkan aroma, cita rasa dan warna pada tempe. Pembuatan tempe masih dilakukan secara tradisional dan dilakukan secara turun temurun dengan cara yang berbeda. Hal ini memungkinkan tumbuhnya perbedaan jumlah BAL pada setiap tempe. Tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui perbandingan jumlah total BAL pada dua sampel tempe yang berbeda. Sampel yang digunakan adalah tempe D dan E yang berasal dari daerah Bekasi dan dari pengrajin yang berbeda. Metode yang digunakan adalah pengenceran bertingkat dengan *spread plate*. Penghitungan total BAL dilakukan pada cawan yang berisi 25-250 koloni dengan menggunakan rumus *Total Plate Count* (TPC). Identifikasi dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel tempe D dan E memiliki total BAL berbeda yaitu berturut-turut $5,6 \times 10^6$ dan $1,2 \times 10^7$ CFU/g. Sampel tempe E memiliki total BAL tertinggi daripada sampel

tempe D. Kedua sampel tempe memenuhi syarat standar bakteri probiotik yaitu 10^6 hingga 10^7 CFU/g. Secara makroskopis, kedua sampel tempe memiliki BAL dengan warna koloni putih susu, bulat, tepian rata dan elevasi cembung. Sedangkan, secara mikroskopis BAL bersifat Gram positif dengan bentuk sel yang beragam.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat; Koloni; Probiotik; Tempe; TPC.

PENDAHULUAN

Tempe merupakan makanan fermentasi khas Indonesia yang berbahan dasar kedelai (*Glycine max*) (Soka *et al.*, 2015). Tempe termasuk makanan yang memiliki bentuk padatan kompak dan ketika diiris tidak mudah memisah (rontok), berwarna putih merata pada seluruh bagian, serta memiliki bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak (SNI, 2015). Tempe juga menjadi sumber protein penting bagi masyarakat Indonesia karena memiliki kandungan protein yang tinggi (Barus *et al.*, 2019). Beberapa literatur menyebutkan banyak mikroorganisme yang berperan dalam proses pembuatan tempe, seperti *Rhizopus oligosporus*, *R. stolonifer* dan *R. oryzae* (Nurholipah & Ayun, 2021; A'yun & Janah, 2022; Ayun *et al.*, 2022), *Klebsiella* spp. dan *Bacillus* spp. (Barus *et al.*, 2017).

Menurut Pangastuti *et al.*, (2019), berbagai macam jenis mikroba telah ditemukan pada tempe selama proses perendaman kedelai. Salah satu diantaranya adalah Bakteri Asam Laktat (BAL). Jumlah total BAL meningkat tajam mencapai lebih dari 6 log CFU g^{-1} selama perendaman kacang kedelai saat proses pembuatan tempe (Efriwati *et al.*, 2013). Barus *et al.*, (2008) melaporkan bahwa kelimpahan BAL pada air rendaman kedelai disalah satu pengrajin tempe mencapai 10^6 CFU ml^{-1} di awal perendaman dan mencapai 10^8 CFU ml^{-1} diakhir perendaman. Dilaporkan juga oleh Santosa & Retnaningrum, (2020) bahwa BAL dapat ditemukan pada limbah produksi tempe. BAL memproduksi asam laktat, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan bakteri patogen (Ibrahim *et al.*, 2017). Selain itu, BAL pada tempe menghasilkan senyawa asam organik yang memiliki peran untuk perubahan warna dan tekstur tempe (Desniar *et al.*, 2012). Menurut Soka *et al.*, (2015) keberadaan BAL menjadikan tempe sebagai salah satu sumber probiotik yang mampu meningkatkan respon imun. Produk fermentasi yang mengandung probiotik harus memiliki minimal 10^6 CFU/ml BAL (FAO/WHO, 2002)

Permasalahan yang mungkin timbul pada proses pembuatan tempe diantaranya variasi kualitas tempe yang dihasilkan oleh berbagai produsen, baik dalam hal cita rasa, aroma, maupun tekstur. Variabilitas ini bisa dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti strain mikroorganisme yang muncul dalam fermentasi, kondisi sanitasi, serta teknik produksi yang berbeda antara produsen. Selain itu, perbedaan dalam metode produksi dan bahan baku juga dapat mempengaruhi komposisi

mikrobia. Dalam penelitian terdahulu yang berkaitan dengan tempe dan mikroorganismenya, sebagian besar fokus pada identifikasi mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi tempe dan perannya dalam menghasilkan produk akhir yang berkualitas (Efriwati *et al.*, 2013; Nurdini *et al.*, 2015; Barus *et al.*, 2021). Namun, sedikit penelitian yang secara khusus membandingkan total BAL dari dua sampel tempe berbeda terutama di Bekasi.

BAL tergolong dalam filum *Firmicutes*, kelas *Bacili* atau *Latobacillus* dan tumbuh pada pH 5,5-5,8 dengan kebutuhan nutrisi yang kompleks selama kultivasi (Ringø *et al.*, 2018). Isolat BAL yang sering ditemukan termasuk dalam genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* dan *Enterococcus* (Mathialagan *et al.*, 2018). Penghitungan total mikroorganisme sangat penting untuk memperkirakan populasi BAL untuk digunakan sebagai faktor standar, identitas, dan peningkatan kualitas tempe. Namun hanya sedikit penelitian tentang BAL yang terlibat dalam fermentasi tempe yang telah dilaporkan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui mengetahui perbandingan jumlah total BAL pada dua sampel tempe yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah menggunakan pendekatan deskriptif kuantitatif dengan metode eksperimental. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan dua sampel tempe yang berbeda yaitu tempe D dan tempe E. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam As-Syafi'iyah pada bulan Mei hingga Juli 2023.

Alat yang digunakan yaitu cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, *beaker glass*, tabung reaksi, mikropipet, tips, autoklaf, *laminar air flow*, *hot plate*, inkubator, *vortex*, bunsen, ose, batang L, penjepit kayu, *object glass*, *cover glass*, *colony counter* dan mikroskop (Carton). Bahan yang digunakan yaitu *Media de Man Ragosa Sharpe Agar* (MRSA, Merck), kalsium karbonat (CaCO_3) 5%, Natrium klorida (NaCl) 0,85%, 1 set pewarnaan gram (reagen violet, iodine dan safranin) untuk mikroskopis, alkohol 70%, akuades, dan spiritus.

Tahapan penelitian meliputi tahapan isolasi BAL yang diawali dengan pengenceran bertingkat 9 ml 0,85% NaCl dari 10^{-1} hingga 10^{-6} . Setelah itu, dilakukan proses *plating* pada cawan petri yang berisi media seleksi MRSA, yang tersuspensi dengan CaCO_3 5% dengan metode *spread plate* (A'yun *et al.*, 2023). Setelah diinkubasi selama 48 jam, tahapan selanjutnya penghitungan total BAL dilakukan pada cawan yang berisi 25-250 koloni bakteri dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) (Leboffe & Pierce, 2010; Fachrial & Harmileni, 2018) dengan rumus: *Colony*

$$\text{Forming Unit (CFU)} = \text{total koloni BAL} \times \frac{1}{\text{pengenceran}} \times \frac{1}{\text{volume sampel}}$$

Tahapan terakhir dilakukan identifikasi bakteri berdasarkan ciri-ciri karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis yang dicocokkan dengan buku identifikasi *Bergeys Manual of Determinative of Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

Data disajikan dalam bentuk tabel dan gambar, serta dianalisis secara dekskriptif kuantitatif meliputi karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari masing-masing isolat BAL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi BAL pada tempe dengan menggunakan pengenceran bertingkat secara *spread plate*, dan penghitungan total koloni bakteri dengan metode TPC telah berhasil dilakukan. Hasil penelitian secara deskriptif menunjukkan bahwa tempe D dan tempe E memperlihatkan adanya perbedaan total BAL berturut-turut $5,6 \times 10^6$ dan $1,2 \times 10^7$ CFU/g. Total BAL yang paling tinggi ditunjukkan oleh tempe E yaitu sebesar $1,2 \times 10^7$ CFU/g. Hasil total BAL pada penelitian ini masih lebih tinggi dibandingkan dengan total BAL dari jus tempe kombinasi kurma dan susu skim ($9,6 \times 10^6$ CFU/g) yang telah dilaporkan oleh Aýun *et al.*, (2023). Menurut Efriwati *et al.*, (2013) tempe yang dibuat dengan satu kali perebusan kedelai memiliki jumlah BAL yang lebih tinggi daripada tempe yang dibuat dengan dua kali perebusan kedelai. Namun, dalam penelitian ini belum dilakukan pengamatan mengenai proses tahapan pembuatan tempe.

Menurut Aýun *et al.*, (2022) semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi terlihat adanya kecenderungan peningkatan jumlah BAL. Perhitungan TPC dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar (Yunita *et al.*, 2015). Bakteri yang sedang tumbuh, jumlah selnya akan meningkat dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat dan akibat pertumbuhan tersebut akan terbentuk koloni, serta pertumbuhan bakteri tersebut dapat diukur atau dihitung.

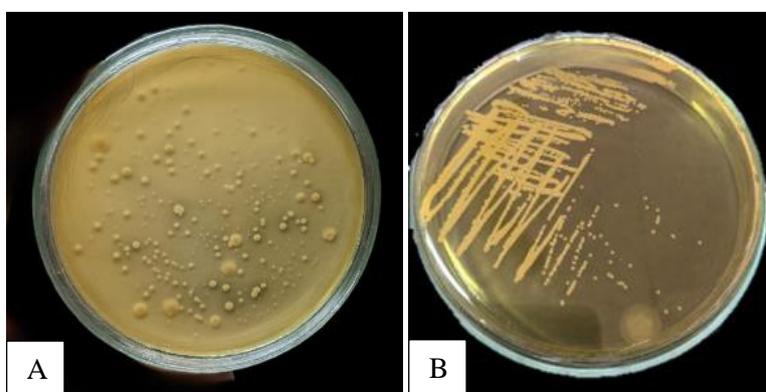
Sebelum tahapan isolasi dilakukan, untuk mengetahui perbedaan total BAL antara tempe D dan E dilakukan pengujian sensoris meliputi warna, aroma, rasa, tekstur dan penampakan seperti Tabel 1 dibawah ini. Kedua sampel tempe telah sesuai dengan standar SNI 01-2891- 1992 point 1.2.

Tabel 1. Hasil uji sensori pada kedua sampel tempe mentah

Sampel tempe	Uji sensori					Bungkus
	warna	aroma	rasa	tekstur	penampakan	
Tempe D	coklat	normal	pahit	padat	normal	plastik
Tempe E	coklat	wangi	gurih	padat	normal	daun

Semua isolat BAL pada sampel tempe D dan E dalam penelitian ini dapat tumbuh hingga suhu 37°C. Munculnya zona bening di sekitar koloni BAL terbentuk sebagai akibat penetralan oleh CaCO₃ terhadap asam yang dihasilkan bakteri. Pertumbuhan BAL dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya, ketersediaan nutrisi, kadar garam, dan suhu fermentasi. Menurut Chrismanuel *et al.*, (2012) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu pH, air, zat makanan, senyawa penghambat pertumbuhan, dan oksigen. Suhu dan pH merupakan faktor lingkungan yang sangat menentukan kehidupan mikroorganisme karena pengaruh suhu berhubungan dengan aktivitas enzim. Adanya aktivitas enzim amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri (Fitriasari *et al.*, 2020). Perbedaan penggunaan bungkus pada tempe dalam penelitian ini, belum diketahui memiliki pengaruh atau tidak terhadap pertumbuhan BAL. Menurut Erdiansyah *et al.*, (2022) pembungkus tempe secara umum tidak memberikan perubahan yang signifikan. Namun, Genus *Lactobacillus* dari BAL diduga memainkan peran penting dalam kuantitas tempe, serta komposisi komunitas bakteri juga dipengaruhi oleh proses pembuatan, lingkungan produksi, atau bahan baku yang digunakan. Selain, tempe dengan bungkus daun pisang, profil BAL yang diduga *Weissella* juga ditemukan pada tempe yang dibungkus daun jati (Magdalena *et al.*, 2021). Kualitas tempe kemungkinan dapat ditentukan oleh adanya perbedaan komunitas bakteri antar waktu pada proses pengolahan tempe (Barus *et al.*, 2010).

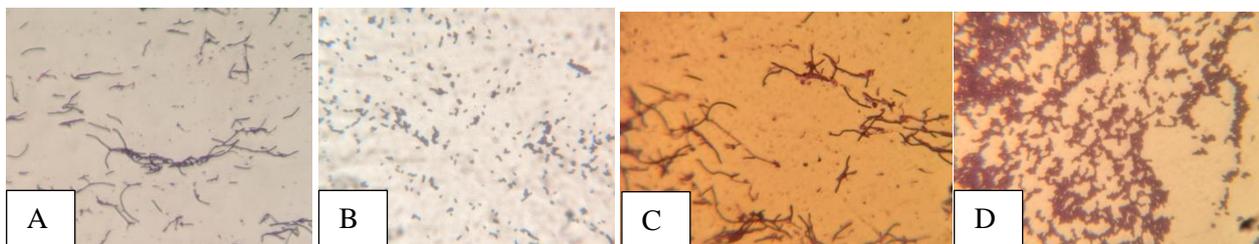
Berdasarkan hasil identifikasi morfologi secara makroskopis semua koloni isolat BAL dari sampel tempe D dan E yang tumbuh di media MRSA memiliki ciri-ciri sama yaitu koloni berbentuk bulat, berwarna putih atau putih susu, tepian rata dan permukaan cembung (Gambar 1A). Hasil penelitian tersebut sesuai dengan penelitian Nurin *et al.*, (2017). Koloni yang memiliki zona bening selanjutnya dimurnikan untuk mendapatkan koloni tunggal dengan cara penggoresan pada media MRSA (Gambar 1B).



Gambar 1. Salah satu hasil isolasi dari pertumbuhan BAL pada media MRSA (A) koloni BAL dikelilingi zona bening (B) koloni murni dari hasil penggoresan

Isolat BAL yang berhasil dimurnikan dengan metode penggoresan, selanjutnya dipilih secara acak untuk diamati karakteristik mikroskopis sel BAL. Dua isolat BAL dari tempe D (TD54 dan TD51), dan dua isolat sampel tempe E (TE51 dan TE52) dipilih untuk dilakukan pewarnaan Gram. Identifikasi tingkat genus BAL dapat diketahui dengan melihat bentuk sel susunan dari isolat bakteri yang ditemukan (Zahro, 2014). Secara mikroskopis sel BAL bersifat Gram-positif, ditandai dengan sel yang berwarna ungu tua. Bakteri yang mempertahankan warna ungu dan tidak bisa luntur dengan menambahkan alkohol disebut bakteri Gram-positif, apabila tidak dapat mempertahankan warna ungu dengan menambahkan alkohol untuk pencucian maka disebut bakteri Gram-negatif (Putri et al., 2018).

Hasil identifikasi secara mikroskopis menunjukkan bahwa isolat BAL dari tempe D dan tempe E bersifat Gram positif dan ditemukan sel bakteri kedua sampel berbentuk batang (*bacilli*) dan bulat (*coccus*) (Gambar 2). Terbentuknya warna ungu pada bakteri Gram-positif disebabkan karena komponen utama penyusun dinding sel bakteri Gram-positif adalah Peptidoglikan (Deviani et al., 2014). Kompleks kristal violet-iodin, yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal pada proses pewarnaan dapat diekstraksi oleh kandungan lipid yang rendah, dinding sel bakteri Gram-positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan alkohol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang, dan kompleks kristal violet-iodin tidak dapat terekstraksi (Török et al., 2017).



Gambar 2. Hasil identifikasi mikroskopis isolat BAL dengan perbesaran 100x (A) isolat TD54 berbentuk batang, (B) isolat TD51 berbentuk bulat, (C) isolat TE51 berbentuk batang, dan (D) isolat TE52 berbentuk bulat

Hasil dari pewarnaan gram pada penelitian ini keempat isolat BAL berbentuk batang dan bulat. BAL adalah bakteri Gram-positif, non-endospora, dengan morfologi berbentuk batang atau *coccid*, bersifat katalase, oksidase-negatif dan kebanyakan non-motil. Menurut Ringø et al., (2018) genus BAL yang termasuk kedalam bentuk batang diantaranya *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, dan *Lactobacillus*. Sedangkan, BAL yang berbentuk bulat diantaranya *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus*. Aýun et al., (2023) melaporkan hasil

penelitiannya bahwa diperoleh isolat BAL yang bersifat Gram positif dan termasuk kedalam genus *Lactobacillus* dari tempe. Keberadaan *Lactobacillus* pada tempe juga pernah dilaporkan oleh Amaliah *et al.*, (2018) dan spesies *L. agilis* merupakan jenis bakteri yang dominan pada tempe (Pangastuti *et al.*, 2019; Radita *et al.*, 2018). BAL diketahui memiliki peran penting dalam fermentasi makanan sebagai penentu kualitas makanan dan pengawet makanan. Selain itu, BAL dipercaya dapat menjadi probiotik yang mampu menjaga sistem pertahanan tubuh.

KESIMPULAN

Total BAL dari tempe D dan E berdasarkan penghitungan TPC menghasilkan total bakteri yang berbeda. Sampel tempe E memiliki total BAL tertinggi sebesar $1,2 \times 10^7$ CFU/g daripada sampel tempe D yaitu $5,6 \times 10^6$. Adanya perbedaan jumlah total BAL pada kedua tempe diduga mempengaruhi warna, rasa, aroma dan penampakan pada tempe. Identifikasi yang dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan isolat BAL berbentuk bulat, berwarna putih atau putih susu, tepian rata, permukaan cembung dan bersifat Gram-positif dengan beragam bentuk batang dan bulat. Penelitian selanjutnya diharapkan untuk dilakukan seleksi isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik serta dilakukan pengujian secara molekuler untuk mengetahui spesies dari BAL asal sampel tempe D dan tempe E.

DAFTAR PUSTAKA

- A'yun, Q., & Janah, L. U. (2022). Isolasi *Rhizopus Oligosporus* Dan *Rhizopus Stolonifer* Pada Tiga Tempe Di Kelurahan Jatimakmur, Bekasi. *Konservasi Hayati*, 18(2), 44–50.
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253–257. <https://doi.org/10.33096/jffi.v5i1.320>
- A'yun, Q., Muthiáh, S. N., & Sukmalara, D. (2023). Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Jus Tempe sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 8(2), 171–177. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.36722/sst.v8i2.1673> Potensi
- A'yun, Q., Suryani, S., & Kurnia, C. (2022). Identifikasi Kapang pada Tempe Bungkus Daun Pisang dan Plastik Asal Pengrajin Tempe Jatiaseih, Bekasi. *Bioed: Jurnal Pendidikan Biologi*, 10(2), 45–51.
- Barus, T., Maya, F., & Hartanti, A. T. (2019). Peran Beberapa Galur *Rhizopus microsporus* yang Berasal dari “laru tradisional” dalam Menentukan Kualitas Tempe. *Jurnal Aplikasi Teknologi*

- Pangan*, 8(1), 17–22. <https://doi.org/10.17728/jatp.3761>
- Barus, T., Suwanto, A., & Agustina, W. (2010). Analisis Matagenom Komunitas Bakteri Tempe dengan Teknik Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP). *Biota*, 15(2), 273–280. <https://doi.org/https://doi.org/10.24002/biota.v15i2.2726>
- Barus, T., Wati, L., Melani, Yogiara, & Suwanto, A. (2017). Diversity of Protease-Producing *Bacillus* spp. From Fresh Indonesian Tempeh Based on 16S rRNA Gene Sequence. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.05.001>
- Barus, T., Widyah, W., Wicaksono, W. A., & Prasasty, V. D. (2021). Identifikasi Bakteri yang Berperan dalam Pengasaman Kedelai dalam Fermentasi Tempe Berdasarkan Sekuen 16S rDNA. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 6(2), 71–77. <https://doi.org/10.24002/biota.v6i2.4029>
- Chrismanuel, A., Pramono, Y. B., & Setiani, B. E. (2012). Efek Pemanfaatan Keraginan Sebagai *Edible Coating* Terhadap pH, Total Mikroba dan H₂S pada Bakso Selama Penyimpanan 16 Jam. *Animal Agriculture Journal*, 1(2), 286–292.
- Desniar, Rusmana, I., Suwanto, A., & Mubarik, N. R. (2012). Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Akuatika*, III(2), 135–145.
- Deviani, S., Haryani, Y., & Jose, C. (2014). Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik dari Air Muara Daerah Aliran Sungai Siak Wilayah Kabupaten Bengkalis. *JOM FMIPA*, 1, 78–88.
- Efriwati, Suwanto, A., Rahayu, G., & Nuraida, L. (2013). Population Dynamics of Yeasts and Lactic Acid Bacteria (LAB) During Tempeh Production. *HAYATI Journal of Biosciences*, 20(2), 57–64. <https://doi.org/10.4308/hjb.20.2.57>
- Erdiansyah, M., Meryandini, A., Wijaya, M., & Suwanto, A. (2022). Microbiological Quality of Tempeh with Different Wraps: Banana Leaf Versus Plastic. *Journal of Food Science and Technology*, 59(1), 300–307. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05014-7>
- Fachrial, E., & Harmileni, H. (2018). Isolasi dan Aktivitas Anti Mikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Nira Kelapa Sawit. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan)*, 5(1), 51. <https://doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1707>
- FAO/WHO. (2002). *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food* (pp. 1–11).
- Fitriasari, P. D., Amalia, N., & Farkhiyah, S. (2020). Isolasi Dan Uji Kompatibilitas Bakteri Hidrolitik Dari Tanah Tempat Pemrosesan Akhir Talangagung, Kabupaten Malang. *Berita Biologi*, 19(2). <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v19i2.3828>
- Holt J.G, Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. In R. H. William (Ed.), *Wolters Kluwer Company Philadelphia*

(9th Ed). Baltimore, Maryland USA.

- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 159–163. <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.29>
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2010). *Microbiology Laboratory Theory & Application Third Edition* (D. Ferguson (ed.)). Morton Publishing.
- Magdalena, S., Yogiara, Y., & Yulandi, A. (2021). Profil Bakteri Asam Laktat dan Evaluasi Sensori dari Tempe Bungkus Daun Jati yang Disuplementasi dengan Daun Kelor. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 10(1), 208–215. <https://doi.org/10.17728/jatp.7330>
- Mathialagan, M., Thangaraj Edward, Y. S. J., David, P. M. M., Senthilkumar, M., Srinivasan, M. R., & Mohankumar, S. (2018). Isolation, Characterization and Identification of Probiotic Lactic Acid Bacteria (LAB) from Honey Bees. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(4), 894–906. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.096>
- Nurdini, A. L., Nuraida, L., Suwanto, A., & Suliantari. (2015). Microbial Growth Dynamics during Tempe Fermentation in Two Different Home Industries. *International Food Research Journal*, 22(4), 1668–1674. <http://www.ifrj.upm.edu.my>
- Nurholipah, N., & Ayun, Q. (2021). Isolasi dan Identifikasi *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* pada Tempe Asal Bekasi. *Jurnal Teknologi Pangan*, 15(1), 98–104. <https://doi.org/10.33005/jtp.v15i1.2742>
- Nurin, L. A., Amalia, R., Arisna, T. S. W., Sulistyanto, W. N., & Trimulyono, G. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat yang Berperan dalam Fermentasi Tumpi Jagung Bahan Pakan Ternak. *Sains & Matematika*, 6(1), 20–25.
- Pangastuti, A., Alfisah, R. K., Istiana, N. I., Sari, S. L. A., Setyaningsih, R., Susilowati, A., & Purwoko, T. (2019). Metagenomic analysis of microbial community in over-fermented tempeh. *Biodiversitas*, 20(4), 1106–1114. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200423>
- Putri, A. A., Erina, & Fakhurrrazi. (2018). Isolasi Bakteri Asam Laktat Genus *Lactobacillus* dari Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*). *Jimvet*, 2(1), 170–176.
- Radita, R., Suwanto, A., Kurosawa, N., Wahyudi, A. T., & Rusmana, I. (2018). Firmicutes is The Predominant Bacteria in Tempeh. *International Food Research Journal*, 25(6), 2313–2320.
- Ringø, E., Hoseinifar, S. H., Ghosh, K., Doan, H. Van, Beck, B. R., & Song, S. K. (2018). Lactic Acid Bacteria in Finfish-An Update. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1–37. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01818>
- Santosa, E. A., & Retnaningrum, E. (2020). Asam Laktat Dari Limbah Produksi Tempe. *J. Sains*

Dasar, 9(1), 1–10.

SNI. (2015). *Tempe Kedelai SNI 3144:2015* (pp. 1–26).

Soka, S., Suwanto, A., Sajuthi, D., & Rusmana, I. (2015). Impact of Tempeh Supplementation on Mucosal Immunoglobulin A in Sprague-Dawley rats. *Food Science and Biotechnology*, 24(4), 1481–1486. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0191-z>

Török, M. E., Moran, E., & Cooke, F. J. (2017). *Oxford Handbook of Infectious Diseases and Microbiology* (2nd ed). Oxford University Press.

Yunita, M., Hendrawan, Y., & Yulianingsih, R. (2015). Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 3(3), 237–248.

Zahro, F. (2014). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Markisa Ungu (Passiflora edulis var. Sims.) Sebagai Penghasil Eksopolisakarida*. (Skripsi) Universitas Islam Negeri, Maulana Malik Ibrahim Malang.