Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Jus Tempe Sebagai Kandidat Probiotik

Qurrota Aýun1\*, Sari Niswatul Muthiáh2, Dini Sukmalara3

1,2 Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam As-Syafiíyah, Jl. Raya Jatiwaringin No 12 Pondok Gede 17411

3 Profesi Ners, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam As-Syafiíyah, Jl. Raya Jatiwaringin No 12 Pondok Gede 17411

Penulis untuk Korespondensi/E-mail: qurrotaayun.fst@uia.ac.id

*Abstract* – **Tempeh is a substrate that can be metabolized by Lactic Acid Bacteria (BAL) so that it can be used to maintain the balance of intestinal microflora. BAL is included in non-pathogenic bacteria that produce lactic acid as the main end product. The probiotic properties of BAL contained in tempeh juice with the addition of dates and skim milk need to be tested biochemically. This study aims to determine the BAL potential of tempeh juice as a probiotic candidate. The calculation of total BAL is carried out with the *Total Plate Count* (TPC). The method is carried out using macroscopic, microscopic and biochemical characteristics (catalase test, salt content resistance test, and acid pH resistance test). The data is descriptively analyzed which is presented in the form of figures and tables. The results of the calculation of total BAL were obtained at 9.6 x 106 cfu / ml** **and have met the requirements for growing probiotics at least 106 cfu / ml. Macroscopic characterization shows colonies in the form of rounds**, **flat edges, convex elevations and around the colony there is a clear zone. Microscopic characterization obtained four isolates that are Gram-positive, catalase negative, resistant to salt content of 5% and 6.5% and able to grow at pH 2.5 and 3. Based on the study, four isolates were obtained that have the potential to be probiotic candidates.**

*Abstrak* - **Tempe menjadi substrat yang dapat dimetabolisme oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) sehingga dapat dimanfaatkan untuk menjaga keseimbangan mikroflora usus. BAL termasuk kedalam bakteri non patogen yang menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama. Sifat probiotik BAL yang terkandung pada jus tempe dengan penambahan kurma dan susu skim perlu di uji secara biokimia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi BAL dari jus tempe sebagai kandidat probiotik. Perhitungan total BAL dilakukan dengan *Total Plate Count* (TPC). Metode yang dilakukan dengan menggunakan karakterisasi makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia** **(uji katalase, uji ketahananan kadar garam, dan uji ketahanan pH asam). Data dianalisi secara dekskriptif yang disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Hasil perhitungan total BAL diperoleh sebesar 9,6 x 106 cfu/ml dan telah memenuhi syarat tumbuh probiotik minimal sebesar 106 cfu/ml. Karakterisasi makroskopis terlihat koloni berbentuk bulat,** **tepian rata, berelevasi cembung dan disekeliling koloni terdapat zona jernih. Karakterisasi mikroskopis diperoleh empat isolat yang bersifat Gram positif, katalase negatif, tahan terhadap kadar garam 5% dan 6,5% serta mampu tumbuh pada pH 2,5 dan 3. Berdasarkan penelitian tersebut diperoleh empat isolat yang berpotensi sebagai kandidat probiotik.**

***Keywords*** – *Dates*, *Lactid Acid Bacteria, Skim Milk, Tempeh, Probiotic,*

T

**PENDAHULUAN**

empe merupakan salah satu produk makanan tradiosional masyarakat Indonesia berbahan dasar kacang-kacangan yang difermentasikan menggunakan ragi. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi tempe sangat kompleks. Salah satu mikroorganisme yang berperan yaitu Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL dicirikan dapat memproduksi asam laktat sebagai produk akhir katabolik utama dari glukosa, dan merupakan bagian dari mikrobiota sehat usus manusia [1]. Istilah probiotik berasal dari bahasa Latin, yang berarti "seumur hidup". *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan kelompok BAL yang biasa dikonsumsi sebagai probiotik [2]. Sereal dan kacang-kacangan adalah substrat yang efektif untuk produksi makanan fungsional yang mengandung probiotik, karena dapat digunakan sebagai sumber karbohidrat untuk merangsang pertumbuhan *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* [3]. Studi menunjukkan bahwa populasi *Lactobacillus* dapat menurun seiring bertambahnya usia, dan suplementasi *Lactobacillus* probiotik untuk lansia dapat meningkatkan kesehatan dengan memodulasi komposisi mikrobiota usus, kekebalan dan kesehatan usus [4], [5]. Penelitian terbaru terkait pasien COVID-19 menunjukkan terjadinya disbiosis mikroba usus dengan penurunan probiotik seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* pada saluran pencernaan [6]. Penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa suspensi probiotik bakteri *Lactobacillus* 1x105 cfu/ml dapat mengurangi kolonisasi *Salmonella* yang terdapat pada anak ayam [7].

Strain BAL, yang diisolasi dari makanan fermentasi tradisional, dapat digunakan dalam formulasi minuman probiotik dengan karakteristik fungsional untuk mengatur pertumbuhan mikroorganisme patogen, ini akan membantu dalam pencegahan dan atau pengobatan penyakit [8]. BAL yang berpotensi sebagai probiotik harus memiliki kemampuan bertahan hidup dan berkolonisasi pada saluran pencernaan inang yang ekstrim [9]. Kelangsungan hidup probiotik selama transfer dalam sistem pencernaan dipengaruhi oleh faktor fisik dan kimia dengan pembawa makanan. Ketahanan terhadap asam lambung dan empedu, melekatnya mukus sistem pencernaan dan produksi asam oleh probiotik dipengaruhi oleh konstituen makanan pembawa probiotik [10]. Mikroorganisme dengan status probiotik harus bebas dari efek samping [11].

Penelitian menunjukkan bahwa BAL telah ditemukan secara alami dalam proses pembuatan tempe dan memiliki peran besar sebagai probiotik [12]. Dalam penelitian ini pembuatan jus tempe akan ditambahkan kurma dan susu skim sebagai sumber karbon untuk BAL. Kurma merupakan sumber serat tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai prebiotik yang dapat berinteraksi dengan mikroflora usus [13]. Sedangan susu skim mengandung laktosa sebagai sumber karbon dalam jumlah tinggi [14]. Penelitian mengenai perlakuan sari kurma ditambahkan susu skim pernah dilaporkan dapat berpengaruh nyata terhadap total BAL, total asam, penurunan total gula, dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen [15]. Probiotik dan prebiotik jika dikombinasikan dapat menstimulasi aktivitas bakteri baik dalam saluran pencernaan sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi BAL sebagai kandidat probiotik dari jus tempe yang ditambahkan kurma dan susu skim.

**METODE**

**Waktu dan Tempe Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Juli sampai Oktober 2022 di Laboratorium Biologi, Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam As-Syafiíyah, Jatiwaringin. Metode penelitian dilakukan secara deksriptif kualitatif, diperoleh dari hasil makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia meliputi: uji katalase, uji ketahanan garam, dan uji katahanan pH asam yang disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.

**Pembuatan Jus Tempe**

Tempe dipotong dadu lalu ditimbang 10 gram ditambahkan tujuh butir kurma yang sudah dipisahkan dengan bijinya. Selanjutnya ditambahkan 5 gram susu skim dan dituangkan 250 ml air, diblender hingga halus.

**Isolasi dan Perhitungan Total BAL**

Isolasi BAL dilakukan dengan menggunakan metode dari Fatmawati [16] yang dimodifikasi. Proses isolasi diawali dari pengenceran 10 mL jus tempe dimasukkan kedalam 90 mL garam fisiologis (NaCl) 0,9%. Kemudian di vortex hingga homogen sehingga didapatkan pengenceran 10-1. Dari larutan tersebut di pipet 1 mL dan dilarutkan dalam 9 mL NaCl 0,9% dan divortex kembali, sehingga diperoleh pengenceran 10-2 dan dilakukan berulang sampai pengenceran 10-5. Setelah itu dilakukan proses plating secara duplo. masing-masing suspensi hasil pengenceran 10-2 – 10-5 dipipet 0,1 mL dan diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi Media *de Man Ragosa Sharpe Agar* (MRSA) yang telah tersuspensi kalsium karbonat (CaCO3) 5% dengan metode sebar (*spread plate*). Diinkubasi dengan suhu 37oC selama 24-48 jam. Setiap cawan petri yang mengandung koloni dihitung angka *Total Plate Count* (TPC) dalam 1 mL dengan mengalikan jumlah koloni rata-rata dengan faktor pengenceran [15]. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung antara 30–300 menggunakan *colony counter* dan dinyatakan sebagai *Colony Forming Unit/mL* (cfu/mL). Koloni yang membentuk zona jernih pada media MRSA+CaCO3 5% dan memiliki kenampakan berbeda dilakukan pemurnian kultur isolat dengan metode gores, lalu diinkubasi pada suhu 37oC selama 24 -48 jam.

**Karakterisasi BAL sebagai Kandidat Probiotik**

Karakterisasi morfologis BAL dilakukan meliputi pengamatan morfologi makroskopis dan mikroskopis. Karakterisasi morfologi makroskopis dilakukan secara langsung mengamati koloni BAL meliputi ukuran koloni, warna dan bentuk. Karakterisasi morfologis mikroskopis dilakukan dengan mengamati jenis Gram berupa bentuk dan warna sel dari BAL dengan menggunakan pewarnaan Gram. Kelompok bakteri Gram positif dan negatif dapat dibedakan dengan melihat warna sel bakteri dengan bantuan mikroskop [17].

**Pewarnaan Gram Bakteri**

Isolat BAL hasil pemurnian dari media MRSA diambil menggunakan ose, dibuat preparat ulas diatas *objek glass* dan kemudian difiksasi di api bunsen. Preparat kemudian ditetesi dengan larutan kristal violet, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan aquadest mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya preparat ditetesi dengan larutan lugol, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan aquadest mengalir dan dikeringkan. Preparat kemudian ditetesi aseton alkohol didiamkan selama 10-30 detik, dicuci dengan aquadest mengalir. Selanjutnya preparat ditetesi safranin, didiamkan selama 30 detik, lalu dicuci dengan aquadest mengalir dan dikering anginkan. Kemudian diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 100x dengan menggunakan minyak imersi [18].

**Uji Katalase**

Uji katalase dilakukan dengan mengambil satu ose koloni isolat BAL dan diletakkan pada *object glass* kemudian ditambahkan 1-2 tetes H2O2 3%. Jika timbul gelembung-gelembung udara artinya positif dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung udara [18].

**Uji Ketahanan Kadar Garam**

Ketahanan isolat BAL terhadap garam dilakukan dengan menambahkan garam fisiologis (NaCl) dengan konsentrasi berbeda pada media *de Man Ragosa Sharpe Broth* (MRSB) yang dimodifikasi [19]. Isolat BAL diambil dari stok sebanyak 1 ose kemudian diinokulasikan pada masing-masing media MRSB + NaCl 5 % dan MRSB + NaCl 6,5 %. Diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37oC. Perubahan pada media menjadi indikator ada atau tidak adanya ketahanan pertumbuhan bakteri terhadap kadar garam. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan pada dasar tabung dan adanya perubahan media menjadi lebih keruh dibandingkan sebelum inkubasi.

**Uji Ketahanan pH**

Sebanyak 1 mL kultur BAL disuspensikan ke dalam 3 ml MRSB+ HCl 10% dan diinkubasi pada suhu 37ᵒC selama 24-48 jam [20]. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan pada dasar tabung dan adanya perubahan media menjadi lebih keruh dibandingkan sebelum inkubasi.

**Analisa Data**

Data yang diperoleh dari hasil karakterisasi dianalisis secara deskriptif meliputi karakteristik morfologi dan biokimia BAL. Hasil data penelitian ditampilkan sesuai dengan hasil pengamatan yang ada meliputi gambar dan tabel.

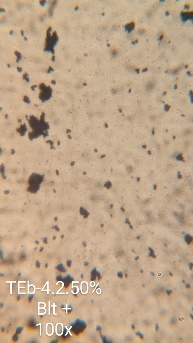
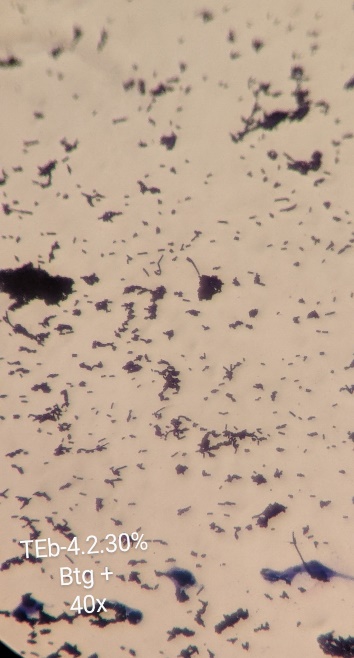
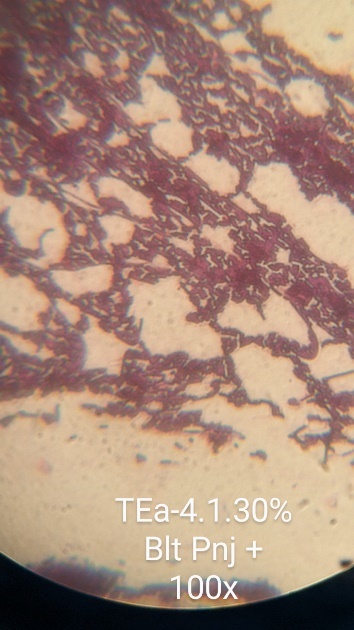
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Perhitungan Total BAL**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total koloni BAL dalam jus tempe yang ditambahkan kurma dan susu skim adalah sebesar 9,6 x 106 cfu/ml. Produk pangan fungsional harus memiliki probiotik berkisar 106-108 cfu/ml [21]. Pertumbuhan BAL dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi utama pada media diantaranya nitrogen dan karbon [22]. Kandungan asam amino pada kurma menghasilkan glukosa (71,2%) dan fruktosa (81,6%) [23], Sedangkan susu skim mengandung laktosa sebagai sumber karbon dalam jumlah tinggi, yang akan diubah oleh BAL menjadi asam laktat, serta mengandung protein yang berperan sebagai sumber nitrogen [14]. Berdasarkan penelitian Nanggoilani [24] penambahan susu skim sebanyak 13% memberikan pengaruh nyata terhadap total BAL dengan hasil 109 cfu/ml. Keadaan nutrisi yang tersedia pada substrat diduga cukup untuk pertumbuhan BAL. Gula sebagai sumber energi dimanfaatkan oleh BAL untuk pertumbuhan dan menghasilkan metabolit berupa asam laktat selama proses fermentasi.

**Karakterisasi Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis BAL**

Seluruh koloni yang tumbuh pada media MRSA umumnya memiliki zona jernih. Hasil dari pemurnian isolat diperoleh kultur murni untuk dilakukan pengujian selanjutnya (Gambar 1). Penambahan CaCO3 pada media tumbuh bakteri MRSA bertujuan sebagai seleksi tahap awal dalam isolasi dan pemurnian BAL karena CaCO3 yang bersifat basa memiliki kemampuan untuk menetralkan produksi asam yang dihasilkan oleh BAL, sehingga terbentuk zona jernih disekitar koloni BAL akibat penetralan oleh CaCO3 terhadap asam yang dihasilkan oleh BAL [25]. Karakteristik morfologi bakteri potensial probiotik yang diperoleh memiliki kesamaan bentuk bulat kecil sampai sedang dengan tepian rata dan berelevasi cembung. Hasil penelitian ini sama dengan yang dilakukan Touw [12] bahwa BAL memiliki ciri-ciri koloni berwarna putih susu, berbentuk bulat, memiliki tepian yang licin serta permukaan yang cembung.



A

B

C

D

(A)

(B)



Gambar 1. Hasil isolasi dan pemurnian isolat BAL pada media MRSA. (A) hasil isolasi dari pengenceran berseri terlihat zona jernih disekitar koloni, (B) hasil pemurnian dengan metode gores terlihat *single koloni* terpisah dari koloninya.

Hasil pemurnian isolat BAL selanjutnya diamati dibawah mikroskopis dengan metode pewarnaan Gram. Empat isolat yaitu kode TEa-4130, TEb-4130, TEb-4230, dan TEb-4250 terpilih untuk dilakukan pengamatan mikroskopik. Hasil mikroskopis menunjukkan bahwa keempat isolat BAL berbentuk batang (*bacillus*) dengan terlihat sel berwarna ungu, yang berarti masuk dalam kategori Gram positif (Gambar 2). Munculnya warna ungu pada bakteri Gram positif disebabkan karena komponen utama penyusun dinding sel bakteri Gram positif adalah peptidoglikan, sehingga mampu mengikat pewarna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin. Kompleks kristal violet-iodin, yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal pada proses pewarnaan dapat diekstraksi, oleh kandungan lipid yang rendah, dinding sel selama bakteri Gram-positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan alkohol, sehingga terjadi perubahan warna sel [25]. BAL pada penelitian ini termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif, dan isolat tersebut merupakan genus *Lactobacillus.*

Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram keempat isolat BAL, seluruhnya bersifat Gram positif dengan bentuk batang (*bacillus*). Perbesaran mikroskopis 100x; (A) TEa-4130, (B) TEb-4130, (C) TEb-4230, (D) TEb-4250

**Karakterisasi BAL sebagai Kandidat Probiotik**

Hasil dari karakterisasi makroskopis dan mikroskopis isolat BAL sebagai probiotik terpilih 4 (empat) isolat BAL untuk dikarakterisasi dengan metode uji biokomia diantaranya uji katalase, uji ketahanan garam, dan uji ketahanan asam (pH). Hasil karakterisasi BAL sebagai probiotik dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil uji katalase menunjukkan bahwa keempat isolat merupakan kelompok bakteri dengan katalase negatif yang berarti isolat tidak mampu menghasilkan enzim katalase, ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara. Jika timbul gelembung udara memberikan indikasi terbentuknya gas oksigen (O2) dari pemecahan hidrogen oksida oleh enzim katalase bakteri tersebut. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya [26] bahwa BAL asal tempe termasuk bakteri katalase negatif.

Hasil uji ketahanan kadar garam diperoleh 4 (empat) isolat pada konsentrasi NaCl 5% dan NaCl 6,5% dapat tumbuh dengan baik setelah diinkubasi selama 48 jam, hal tersebut ditunjukkan dengan adanya kekeruhan pada media MRSB setelah diinkubasi. Derajat ketahanan terhadap garam merupakan karakteristik penting bagi BAL probiotik, sebab berpengaruh terhadap aktivitasnya dalam saluran pencernaan, terutama saluran usus bagian atas tempat empedu disekresikan [27]. BAL sebagai mikroflora normal usus yang sehat, harus dapat bertahan hidup, berkolonisasi, dan menempel pada jaringan inang. Untuk bertahan hidup, probiotik harus menempel pada saluran usus dan mentolerir keberadaan garam empedu dan pH usus yang rendah [28]. Menurut Ismail [29] bakteri yang dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl 4% dan 6,5% yang diinkubasi selama 24 jam kemungkinan adalah BAL jenis *Lactobacillus* sp. Diketahui bahwa *Lactobacillus* adalah mikroflora normal dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan dan tidak menyebabkan patogen.

Hasil uji ketahanan pH BAL pada media MRSB-HCL dengan pH bervariasi yaitu 2,5 dan 3 menunjukkan bahwa keempat isolat mampu bertahan pada kondisi tersebut. Hasil ini dapat diketahui melalui adanya kekeruhan pada media tumbuh. Hasil ini diperkuat oleh penelitian [20] yang menyatakan bahwa BAL telah memenuhi persyaratan pengujian probiotik apabila didapatkan dapat tumbuh pada pH 2,5 dan pH 3 serta adanya endapan pada media.

Tabel 1. Karakterisasi BAL berdasarkan pengujian biokimia

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Kode Isolat** | **Katalase** | **Ketahanan Garam** | | **Ketahanan pH** | |
| **NaCl 5%** | **NaCl 6,5%** | **2,5** | **3** |
| TEa-4130 | - | + | + | + | + |
| TEb-4130 | - | + | + | + | + |
| TEb-4230 | - | + | + | + | + |
| TEb-4250 | - | + | + | + | + |

Keterangan : (-): tidak ada gelembung udara

(+): keruh pada media tumbuh

Ketahanan hidup pada pH rendah berhubungan dengan kemampuan bakteri dalam mempertahankan kondisi internal sel dengan lingkungan luar. Ketahanan asam dapat meningkat dengan adanya pelindung alami dalam produk yang dikonsumsi seperti protein dan lemak [30].

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil TPC diperoleh total BAL sebesar 9,6 x 106 cfu/ml dan telah memenuhi syarat populasi probiotik. Seleksi kandidat probiotik melalui uji biokimia seperti katalase, ketahanan terhadap kadar garam, dan ketahanan pH asam menunjukkan empat isolat (TEa-4130, TEb-4130, TEb-4230, dan TEb-4250) dari jus tempe yang ditambahkan kurma dan susu skim memiliki BAL yang berpotensi sebagai probiotik.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Penelitian ini didukung oleh Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun 2022.

**REFERENSI (11*pt*)**

[1] H. König and J. Fröhlich, “Lactic Acid Bacteria,” in *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Berlin, Germany: Springer International Publishing, 2017, pp. 3–41.

[2] S. U. Islam, “Clinical Uses of Probiotics,” *Medicine (Baltimore).*, vol. 95, no. 5, pp. 1–5, 2016, doi: 10.1097/MD.0000000000002658.

[3] P. Thakkar, H. A. Modi, and J. B. Prajapati, “Isolation, Characterization and Safety Assessment of Lactic Acid Bacterial Isolates from Fermented Food Products,” *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, vol. 4, no. 4, pp. 713–725, 2015, [Online]. Available: http://www.ijcmas.com.

[4] P. J. Patel, S. K. Singh, S. Panaich, and L. Cardozo, “The Aging Gut and The Role of Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics: A Review,” *J. Clin. Gerontol. Geriatr.*, vol. 5, no. 1, pp. 3–6, 2014, doi: 10.1016/j.jcgg.2013.08.003.

[5] L. C. Lew *et al.*, “Lactobacilli Modulated AMPK Activity and Prevented Telomere Shortening in Ageing Rats,” *Benef. Microbes*, vol. 10, no. 8, pp. 883–892, 2019, doi: 10.3920/BM2019.0058.

[6] X. Jin *et al.*, “Epidemiological, Clinical and Virological Characteristics of 74 Cases of Coronavirus-Infected Disease 2019 (COVID-19) with Gastrointestinal Symptoms,” *Gut*, vol. 69, no. 6, pp. 1002–1009, 2020, doi: 10.1136/gutjnl-2020-320926.

[7] R. A. C. P. Filho, S. J. A. Díaz, F. S. Fernando, Y.-F. Chang, R. L. A. Filho, and A. B. Junior, “Immunomodulatory Activity and Control of Salmonella enteritidis Colonization in The Intestinal Tract of Chickens by Lactobacillus Based Probiotic,” *Vet. Immunol. Immunopathol.*, vol. 167, no. 1–2, pp. 64–69, 2015, doi: 10.1016/j.vetimm.2015.06.006.

[8] A. L. D. Batista *et al.*, “Developing A Synbiotic Fermented Milk Using Probiotic Bacteria and Organic Green Banana Flour,” *J. Funct. Foods*, vol. 38, pp. 242–250, 2017, doi: 10.1016/j.jff.2017.09.037.

[9] W. Palachum, Y. Chisti, and W. Choorit, “In-vitro Assessment of Probiotic Potential of Lactobacillus plantarum WU-P19 Isolated from A Traditional Fermented Herb,” *Ann. Microbiol.*, vol. 68, no. 2, pp. 79–91, 2018, doi: 10.1007/s13213-017-1318-7.

[10] M. M. Zandi, M. Hashemiravan, and S. Berenjy, “Production of Probiotic Fermented Mixture of Carrot , Beet and Apple Juices,” *J. Paramed. Sci.*, vol. 7, no. 3, pp. 17–23, 2016.

[11] N. Vieco-Saiz *et al.*, “Benefits and Inputs from Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins as Alternatives to Antibiotic Growth Promoters during Food-animal Production,” *Front. Microbiol.*, vol. 10, pp. 1–17, 2019, doi: 10.3389/fmicb.2019.00057.

[12] K. S. Touw, “Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dominan Selama Fermentasi Tempe dan Evaluasi Potensinya sebagai Probiotik,” IPB, 2014.

[13] A. S. Al-Thubiani and M. S. A. Khan, “The Prebiotic Properties of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) Seeds in Stimulating Probiotic Lactobacillus,” *J. Pure Appl. Microbiol.*, vol. 11, no. 4, pp. 1675–1686, Dec. 2017, doi: 10.22207/JPAM.11.4.05.

[14] R. A. Sintasari, J. Kusnadi, and D. W. Ningtyas, “Pengaruh Penambahan Konsentrasi Susu Skim dan Sukrosa Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Beras Merah,” *J. Pangan dan Agroindustri*, vol. 2, no. 3, pp. 65–75, 2014.

[15] K. Khotimah and J. Kusnadi, “Antibacterial Activity of Probiotic Date Fruit (Phoenix dactilyfera L.) Beverages Using Lactobacillus plantarum and Lactobacillus casei,” *J. Pangan dan Agroindustri*, vol. 2, no. 3, pp. 110–120, 2014.

[16] F. Nur, H. Hafsan, and A. Wahdiniar, “Isolasi Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik Pada Dangke, Makanan Tradisional dari Susu Kerbau di Curio Kabupaten Enrekang,” *Biog. J. Ilm. Biol.*, vol. 3, no. 1, pp. 60–65, 2015, doi: 10.24252/bio.v3i1.568.

[17] E. A. Santosa and E. Retnaningrum, “Karakterisasi Fenotipik dan Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Limbah Produksi Tempe,” *J Sains Dasar*, vol. 9, no. 1, pp. 1–10, 2020.

[18] A. S. Sastry and S. B. K, *Essentials of Medical Microbiology*, 1st ed. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical, 2016.

[19] Z. Z. N. Amaliah, S. Bahri, and P. Amelia, “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai,” *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 5, no. 1, pp. 253–257, 2018, doi: 10.33096/jffi.v5i1.320.

[20] W. Rahmah, E. Nandini, S. S. Ressandy, and H. Hamzah, “Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Tape Singkong,” *J. Penelit. Farm. Indones.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–5, 2021, [Online]. Available: http://jurnal.radenfatah.ac.id/index.php/biota/article/view/538/488.

[21] M. K. Tripathi and S. K. Giri, “Probiotic Functional Foods: Survival of Probiotics During Processing and Storage,” *J. Funct. Foods*, vol. 9, no. 1, pp. 225–241, 2014, doi: 10.1016/j.jff.2014.04.030.

[22] N. Safitri, T. C. Sunarti, and A. Meryandini, “Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Pediococcus pentosaceus Menggunakan Substrat Whey Tahu,” *J. Sumberd. Hayati*, vol. 2, no. 2, pp. 31–38, 2017, doi: 10.29244/jsdh.2.2.31-38.

[23] E. A. R. Assirey, “Nutritional Composition of Fruit of 10 Date Palm ( Phoenix dactylifera L.) Cultivars Grown in Saudi Arabia,” *J. Taibah Univ. Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 75–79, 2015, doi: 10.1016/j.jtusci.2014.07.002.

[24] N. A. A. Nainggolan, K. A. Nocianitri, and I. M. Sugitha, “Pengaruh Konsentrasi Susu Skim Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Terung Belanda (Solanum betaceaum Cav.) Terfermentasi Dengan Lactobacillus rhamnosus SKG34,” *J. Ilmu dan Teknol. Pangan*, vol. 10, no. 4, pp. 657–667, 2021.

[25] C. S. Utama, Zuprizal, C. Hanim, and Wihandoyo, “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi,” *J. Apl. Teknol. Pangan*, vol. 7, no. 1, pp. 1–6, 2018.

[26] T. Barus and G. Giovania, “Lactic Acid Bacteria from Tempah and Their Ability to Acidify Soybeans in Tempeh Fermentation,” *Microbiol. Indones.*, vol. 14, no. 4, pp. 2–4, 2020, doi: 10.5454/mi.14.4.x.

[27] S. R. Adawiyah, Hafsan, F. Nur, and M. H. Mustami, “Ketahanan Bakteri Asam Laktat Asal Dangke Terhadap Garam Empedu Sebagai Kandidat Probiotik,” in *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*, 2015, pp. 164–173.

[28] T. Chen *et al.*, “Functional Probiotics of Lactic Acid Bacteria from Hu Sheep Milk,” *BMC Microbiol.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–12, 2020, doi: 10.1186/s12866-020-01920-6.

[29] Y. S. Ismail, C. Yulvizar, and Putriani, “Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (Theobroma cacao L.),” *J. Bioleuser*, vol. 1, no. 2, pp. 45–53, 2017.

[30] G. Priadi, F. Setiyoningrum, F. Afiati, R. Irzaldi, and P. Lisdiyanti, “Studi in Vitro Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Dari Makanan Fermentasi Indonesia,” *J. Teknol. dan Ind. Pangan*, vol. 31, no. 1, pp. 21–28, 2020, doi: 10.6066/jtip.2020.31.1.21.