

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN BLU FAKULTAS
PERTANIAN UNIVERSITAS LAMPUNG**



**Efek pemberian tempe probiotik *saccharomyces (Tembiosa)*
terhadap profil lipida darah dan asam lemak rantai pendek
pada hewan percobaan mencit
(*Mus musculus*)**

TIM PENGUSUL:

Prof. Dr. Maria Erna K, M.Sc., NIDN 0029116102

Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si., NIDN 0025026901

Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc., NIDN 0014036603

Prof. Dr. Ir. Udin Hasanudin, M.T., NIDN 0006016403

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

LEMBAR PENGESAHAN

Judul penelitian : Efek pemberian tempe probiotik *saccharomyces* (Tembiosa) terhadap profil lipida darah dan asam lemak rantai pendek pada hewan percobaan mencit (*Mus musculus*)

Jenis penelitian :BLU-Fakultas Pertanian

Ketua peneliti:

a. Nama lengkap :Maria Erna K
b. NIDN :0029116102
c. SINTA ID :6007836
d. Jabatan fungsional :Gubes
e. Program studi :TIP
f. Alamat surel :maria.erna@fp.unila.ac.id

Anggota peneliti 1:

a. Nama lengkap :Dr.Ir. Samsul Rizal, M.Si
b. NIDN : 0025026901

Anggota peneliti 2:

a. Nama lengkap :Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc
b. NIDN :0014036603

Anggota peneliti 3:

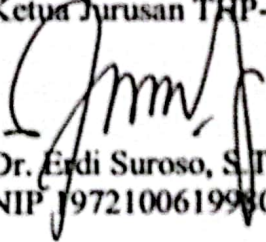
a. Nama lengkap :Prof. Dr. Udin Hasanudin, M.T
b. NIDN : 0006016403

Lama penelitian :3 bulan
Biaya penelitian : Rp. 10,000,000
Sumber Dana :DIPA-BLU FP

Bandar Lampung, 22 September 2023

Mengetahui:

Ketua Jurusan THP-FP Unila,



Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.
NIP 197210061998031005

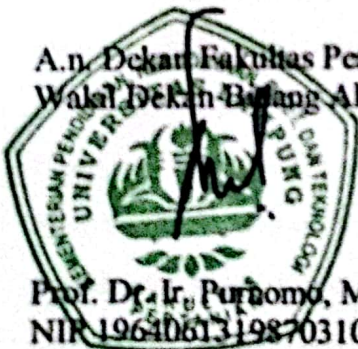
Ketua Peneliti,



Prof. Dr. Maria Erna K., M.Sc
NIP 196111291987032010

Menyetujui:

A.n. Dekan Fakultas Pertanian Unila,
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerjasama



Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.Sc
NIP 196406131987031002

Ketua LPPM Unila,



Dr. Hujbullah Jimad, M.Si
NIP 197411211995121001

Efek pemberian tempe probiotik *saccharomyces (Tembiosa)* terhadap profil lipida darah dan asam lemak rantai pendek pada hewan percobaan mencit (*Mus musculus*)

RINGKASAN

Addition of *S. cerevisiae* to tempeh was considered as innovative functional probiotic food to enhance host health benefits. This study aims to evaluate the survivability of *S. cerevisiae* and *E. coli* in the intestine and to monitor the blood serum and lipid profile of the mice fed tempeh added with *S. cerevisiae* (SMT). The study was arranged in a completely randomized design with a single factor (feeding type) and five replications. The mice were grouped into three and fed standard feed; standard feed + SMT flour; standard feed + commercial tempeh flour for group 1, 2, 3, respectively for 10 days. The data were analyzed statistically by ANOVA, if the treatments were significantly different then the LSD test (5%) was performed. The feeding type significantly affected the survivability of *S. cerevisiae* and *E. coli* in the intestines, the level of WBC and hemoglobin of the blood serum, but it did not affect RBC. The SMT possessed the highest survivability of *S. cerevisiae* (6.12 ± 0.051 CFU/ mL) and the lowest survivability of *E. coli* ($5.87 \pm 0,05$ CFU/mL). Furthermore, lipid profile included cholesterol, triglycerides, cholesterol-HDL, and cholesterol-LDL were 102.67, 304.67, 25.00, and 47.00 mg/dL, respectively. Tempeh contained *S. cerevisiae* was potential as functional probiotic tempeh.

Kata kunci: tempe probiotik; in vivo; profil lipida darah; SCFA

DAMPAK:

R.oligosporus berperan utama dalam fermentasi kedelai untuk produk tempe. Namun diketahui bahwa khamir *S.cerevisiae* dan beberapa spesies bakteri juga berkontribusi terhadap fungsionalitas tempe dalam memberi manfaat kesehatan bagi manusia. Modifikasi fermentasi coculturing dengan menambahkan *S.cerevisiae* dan *R.oligosporus* selama fermentasi kedelai menghasilkan tempe termodifikasi yang kaya vitamin B12 dan mengandung Beta-glukan terutama karena kontribusi *S.cerevisiae*. Oleh karena *S.cerevisiae* adalah probiotik khamir, maka tempe termodifikasi *S.cerevisiae* mempunyai potensi sebagai tempe probiotik *saccharomyces (Tembiosa)*. Tempe probiotik (*Tembiosa*) berpotensi membantu meningkatkan imunitas tubuh melalui sifat probiositasnya.

PENDAHULUAN

Tempe sebagai makanan yang sangat populer di dalam maupun dikancah internasional. Namun tempe merupakan suatu pangan miracle/keajaiban yang tidak lekang untuk dikaji kebermanfaatannya. Hilirisasi produk tempe telah banyak dilakukan antara lain produk keripik, sereal, tepung, dan minuman fungsional. Probiotik adalah mikroba hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah cukup ($<10^6$ cfu/g) akan memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya. Sementara itu yang disebut makanan/minuman probiotik adalah makanan/minuman yang mengandung mikroba probiotik dimana setelah dimakan, probiotik tetap hidup saat melalui saluran pencernaan dan ditemukan dalam usus besar dalam jumlah $<10^6$ cfu/mL dan memberikan manfaat kesehatan inangnya (Kavita et al., 2015). Jika setelah sampai di usus besar probiotiknya mati, maka makanan tersebut belum bisa digolongkan sebagai makanan/minuman probiotik. Sementara itu, prebiotic adalah serat makanan yang tidak bisa dicerna oleh saluran pencernaan dan memberi manfaat kesehatan inangnya dengan secara selektif memberikan manfaat pertumbuhan probiotik usus besar dan tidak mendukung pertumbuhan bakteri enteric usus. Jika serat makanan tersebut dapat mendukung bakteri enteric usus maka belum digolongkan sebagai prebiotic. suatu bahan atau produk

pangan/minuman yang mengandung probiotik dan sekaligus menyediakan prebiotik maka dapat dianggap sebagai makanan sinbiotik.

S.cerevisiae termasuk dalam khamir probiotik yang memiliki status GRAS. Berbeda dengan bakteri asam laktat (BAL) sebagai probiotik makanan/minuman, khamir *s.cerevisiae* belum banyak diaplikasikan sebagai probiotik dalam makanan/minuman. *S.cerevisiae* telah digunakan untuk pembuatan roti, berbagai makanan fermentasi dan minum sejak lama, karena kemampuannya menghasilkan enzim dan kontribusinya terhadap perubahan fisik dan kimia produk fermentasi. Produk fermentasi makanan dan minuman oleh *S. cerevisiae* juga ditandai dengan produksi isoamilalkohol, dan 2,3-butan yang berkontribusi menghasilkan aroma harum segar (sparkling) (Romano et al., 2003 dan Cordente et al., 2007). β -glukan dari *S. cerevisiae* diketahui sebagai sumber meningkatkan kekebalan tubuh paling efektif dan dapat meningkatkan sifat fungsional dari beberapa produk makanan. Dengan demikian, *S. cerevisiae* sumber produksi β -glukan yang baik. β -Glukan adalah kelompok polisakarida yang terdiri dari unit glukosa terantai bersama dengan ikatan beta-glikosidik.

Bahwa khamir bisa tumbuh bersama dengan bakteri dan *R.oligosporus* selama fermentasi pembuatan tempe dibuktikan oleh Kustyawati (2009). Coculturing dengan penambahan *S.cerevisiae* 2% dalam fermentasi tempe menghasilkan tempe termodifikasi yang diterima oleh konsumen panelis, mengandung senyawa isoamilalkohol, dan 2,3-butan yang berkontribusi menghasilkan aroma harum segar (sparkling) yang dihasilkan oleh *S.cerevisiae* dan menghasilkan aroma wangi tempe yang menutupi aroma kedelai (Kustyawati et al., 2017). Aroma harum tapai yang menyenangkan ini dapat menutupi aroma kacang2an yang kurang diterima sebagian masyarakat panelis. Aroma ini bertahan setelah digoreng.Coculturing *S.cerevisiae* fermentasi tempe berkontribusi pada meningkatnya kandungan vit B12 (Kustyawati et al., 2018). Disamping itu, tempe termodifikasi *S.cerevisiae* mengandung beta glukan (Rizal dan Kustyawati, 2022). Coculturing *S.cerevisiae* bersama *R.oligosporus* menghasilkan ragi tempe dalam substrat beras putih yang telah dalam proses PATEN (2022/S/03177, 7 November 2022).

Saccharomycetaceae diketahui sebagai sumber β -Glukan yang potensi karena sebagai penyusun utama dinding sel *S.cerevisiae* sekitar 55 - 65% w/w dari dinding sel khamir terdiri dari rantai panjang β -1,3-glukan dan rantai pendek B-1,6-glukan (Kustyawati, 2018). Sementara sisanya adalah kitin dan manoprotein. Suplementasi β -glukan untuk digunakan dalam sejumlah produk makanan, termasuk kue, minuman pengganti makan, granola dan pangan mengandung protein, susu kedelai, probiotik minuman, yogurt, dan minuman yoghurt. β -Glukan mempunyai banyak manfaat yang menguntungkan salah satunya adalah kemampuannya untuk merangsang sistem kekebalan tubuh (Gardiner, 2007) yang menunjukkan bahwa beta glukan mempunyai pengaruh terapeutik. Sehingga viabilitasnya sebagai probiotik makanan belum banyak diungkapkan.

Inolulasi probiotik *Saccharomyces cerevisiae* pada tempe merupakan inovasi proses fermentasi untuk produk minuman sinbiotik tempe termodifikasi tinggi vitamin B12 dan kandungan beta glukan. Tempe termodifikasi *s.cerevisiae* adalah tempe yang dibuat dengan menambahkan *s.cerevisiae* dalam komposisi kultur starter pada jumlah yang seimbang selama fermentasi untuk meningkatkan sifat

fungsionalnya.

Untuk melakukan uji sifat probiositas tempe *Tembiosa* secara *in vivo* menggunakan hewan percobaan mencit terhadap uji profil lipid mencit dan produksi asam lemak rantai pendek (SCFA) untuk mengetahui kontribusinya terhadap kesehatan inang.

METODE PENELITIAN

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

Pembuatan Tempe Kedelai

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

Pembuatan 100 gram Ransum Mencit (AIN 93-M)

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

Uji Profil Darah Mencit

15 ekor mencit (*Mus musculus* L) jantan strain BALB/C umur 2 - 3 bulan dengan berat 20g - 30g yang diperoleh dari Palembang. Mencit mendapat perlakuan pakan berupa ransum standar AIN 93-M secara ad libitum (selalu tersedia) dan air minum. Adaptasi mencit dilakukan selama 7 hari, selanjutnya mencit ditimbang dan dibagi dalam 3 kelompok (Tabel 5). Perbedaan berat badan antar mencit dalam satu kelompok tidak lebih dari 10g, dan perbedaan berat badan mencit antar kelompok tidak lebih dari 5g. Perlakuan diberikan selama 10 hari. Selama 10 hari perlakuan, mencit diberi ransum standar AIN 93-M dan air minum secara ad libitum (selalu tersedia). Dosis tepung tempe yang diberikan pada mencit sebanyak 0,25g tepung tempe/kg BB/hari yang diencerkan dengan aquadest menjadi 1 mL. Rata-rata berat mencit pada kandang 1 (perlakuan tempe modified), 2 (Perlakuan tempe komersil), dan 3 (kontrol) berturut turut yaitu 23,4g (dicekakan 0,0059 g tepung tempe modified/mencit), 24g (dicekakan 0,0060 g tepung tempe komersil/mencit), 24,2g (tidak dicekakan tepung tempe).

1mL larutan tepung tempe decekakan 2 tahap. Pagi dicekakan sebanyak 0,5mL dan sore 0,5mL. Setelah 10 hari perlakuan, mencit diterminasi dan darah diambil melalui vena ventranalis dengan cara menyembelih bagian leher mencit menggunakan cutter. Darah ditampung dalam tabung venoject BD Vacutainer K2 EDTA 5,4 mg, selanjutnya dilakukan pengujian terhadap parameter yang diuji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perhitungan Jumlah Khamir pada Tepung Tempe

Perhitungan jumlah *Saccharomyces cerevisiae* pada tepung tempe diperlukan untuk melihat jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang terkandung pada tempe *modified* dan tempe komersil yang akan di cekokan ke tikus. Histogram jumlah koloni *S.cerevisiae* pada setiap tepung tempe dapat dilihat pada gambar 3. Gambar 3. Jumlah rata-rata *S.cerevisiae* dalam tepung tempe *modified* dan tepung tempe komersil. Jumlah rata-rata *S.cerevisiae* pada tepung tempe *modified* sebesar $6,44 \pm 0,14$ Log CFU/g dan jumlah rata-rata *S.cerevisiae* pada tepung tempe komersil ($6,12 \pm 0,18$ Log CFU/g). Maka dari itu, tepung tempe *modified* yang dicekakan pada mencit sebesar 0,0059 g mengandung *S.cerevisiae* sebanyak 0,038 Log CFU/g, sedangkan tepung tempe komersil yang dicekakan pada mencit sebesar 0,0059 g

Jumlah *Saccharomyses cerevisiae* pada Usus Mencit

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian tempe *modified*, dan tempe komersil pada perlakuan berpengaruh nyata terhadap jumlah *Saccharomyces cerevisiae* pada usus mencit. Hasil uji lanjut BNT ($\alpha=0,05$) jumlah khamir pada usus mencit setiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 7.

Table 1. The viable *S. cerevisiae* and *E. coli* survived in the intestine of the mice fed diet treatments. (9 pt)

Diet treatments of tempeh	<i>S. cerevisiae</i> (Log CFU/mL)	<i>E. coli</i> (Log CFU/mL)
AIN-93M (Group 1)	1.14 ±0.11a	6.30 ±0.06c
AIN-93M+SMT (Group 2)	6.12 ±0.051b	5.87 ±0.05a
AIN-93M+commercial tempeh (Group 3)	5.78± 0.04c	6.11± 0.05b

Note: The same letter followed the number in the same column in the table was non significantly difference at Least Significant Different test ($\alpha \geq 0.05$). Data printed in Table were the average of the five replications.

Koloni *Saccharomyces cerevisiae* ditandai dengan warna putih kekuningan dan berbentuk oval yang dapat dilihat pada gambar 4. Pada perlakuan kontrol tidak ditemukan khamir pada usus mencit. Sementara itu, pada perlakuan tempe komersil ditemukan khamir dengan rata-rata sebesar $5,78 \pm 0,039$ Log CFU/mL, namun khamir ini tidak teridentifikasi secara spesifik jenis spesiesnya sedang dalam tempe *modified* ditemukan *S.cerevisiae* rata-rata sebesar $6,12 \pm 0,051$ Log CFU/mL pada usus mencit. Jumlah tersebut didapatkan setelah 10 hari mencit dicekoki tepung tempe, dan kemudian hari ke-10 dibedah untuk diambil ususnya.

Jumlah *Escherichia coli* pada Usus Mencit

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian tempe *modified*, dan tempe komersil pada perlakuan berpengaruh nyata terhadap jumlah *Escherichia coli* pada usus mencit. Hasil uji lanjut BNT ($\alpha=0,05$) jumlah khamir pada usus mencit setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 8. Tabel 8 menunjukkan bahwa jumlah *E.coli* pada usus mencit yang dicekoki tempe *modified* selama 10 hari paling rendah signifikan ($p < 0,05$) dari perlakuan tempe komersil dan kontrol. Perlakuan tempe *modified* memiliki jumlah koloni *E.coli* pada usus mencit paling rendah signifikan ($P < 0,005$) yaitu sebesar $5,87 \pm 0,052$ Log CFU/mL. Hal ini membuktikan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* bersifat probiotik yang mampu menurunkan jumlah *Escherichia coli* pada usus mencit.

Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit) Mencit

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tempe *modified*, tempe komersil, dan kontrol pada penelitian ini tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah sel darah merah mencit. Hasil uji lanjut BNT ($\alpha=0,05$) kadar sel darah merah mencit pada setiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 9.

Table 2. Blood profile of the mice fed diet treatments.

Diet treatments	RBC ($10^6 \mu\text{L}$)	WBC ($10^6 \mu\text{L}$)	Hemoglobin (mg/dL)
AIN-93M (Group 1)	7.99 0.96a	7.81 0.43c	26.36 0.56c
AIN-93M+SM tempeh (Group 2)	7.66 0.90a	6.08 0.63b	12.06 0.58a
AIN-93M+commercial tempeh (Group 3)	7.80 0.90a	3.60 0.41a	13.70 0.43b

Note: The same letter followed the number in the same column in the table was non significantly difference at Least Significant Different test ($\alpha \geq 0.05$). data in Table were the average of five replications.

Etim *et al.* (2014) menyatakan bahwa eritrosit dan hemoglobin merupakan komponen hematologi. Komponen tersebut dapat digunakan untuk melihat toksisitas suatu bahan terutama yang mempengaruhi darah serta kondisi kesehatan hewan. Eritrosit berfungsi sebagai pembawa hemoglobin. Berdasarkan 3 perlakuan yang berbeda telah menghasilkan data yang tidak berbeda nyata antar setiap perlakuan terhadap sel darah merah mencit. Hal ini berarti bahwa tempe *modified* maupun tempe komersil tidak memiliki toksin yang dapat merusak sel

darah merah pada mencit sehingga aman untuk dikonsumsi. Menurut Douglas dan Wardrop (2010), nilai normal eritrosit tikus berkisar dari 7×10^6 - 11×10^6 sel/ μ L. Pada setiap perlakuan diatas baik tempe *modified* ($7,66 \pm 0,90 \times 10^6/\mu$ L), tempe komersil ($7,80 \pm 0,90 \times 10^6/\mu$ L), maupun kontrol ($7,99 \pm 0,96 \times 10^6/\mu$ L) memiliki kadar sel darah merah yang normal pada mencit. Berdasarkan analisis sidikragam, ketiga perlakuan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% (0,05).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian tempe *modified* dan tempe komersil pada perlakuan berpengaruh nyata terhadap kadar sel darah merah mencit. Tetapi, perlakuan tempe komersil berbeda nyata dengan perlakuan tempe *modified* dan perlakuan kontrol terhadap kadar sel darah merah mencit. Menurut Douglas dan Wardrop (2010), nilai normal leukosit tikus berkisar dari 2.000-10.000 sel/ μ L. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah leukosit hewan uji kelompok perlakuan berada pada nilai normal. Pada perlakuan tempe komersil ($3,60 \pm 0,41 \times 10^3/\mu$ L) memiliki rata-rata leukosit yang berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan tempe *modified* ($6,08 \pm 0,63 \times 10^3/\mu$ L) dan kontrol ($7,81 \pm 0,43 \times 10^3/\mu$ L). Jumlah ini masih dalam kadar leukosit pada mencit normal. Begitu juga pada tempe *modified*, perlakuan ini berbeda terhadap kontrol, tetapi memiliki rata-rata yang lebih rendah daripada kontrol. Artinya, tempe ini tidak membuat infeksi pada mencit yang dapat menyebabkan jumlah leukosit lebih tinggi.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian tempe *modified* dan tempe komersil pada perlakuan berpengaruh nyata terhadap kadar hemoglobin darah mencit. Hemoglobin (HB) adalah salah satu senyawa organik kompleks utama dalam tubuh manusia yang berupa pigmen merah kaya zat besi. Pada uji lanjut BNT menunjukkan bahwa perlakuan tempe *modified* tidak berbeda nyata dengan perlakuan tempe komersil. Menurut Douglas dan Wardrop (2010), nilai normal Hb tikus berkisar dari 11.6-16.1 g/dL. Pada kontrol, rata-rata HB mencit yaitu sebesar $26,36 \pm 0,65$ g/dL. Hal ini menunjukkan bahwa pada mencit kontrol memiliki HB yang tinggi diatas rata-rata. Sedangkan pada perlakuan tempe *modified* dan tempe komersil memiliki HB berturut-turut sebesar $12,06 \pm 0,58$ g/dL dan $13,70 \pm 0,43$ g/dL. Hal ini menunjukkan bahwa HB mencit pada kedua perlakuan tersebut masih dalam keadaan normal.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan yaitu sebagai berikut:

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

DAFTAR PUSTAKA

- Bastian E., Ishak A.B., Tawali, M.Bilang. 2013. Daya terima dan kandungan zat gizi formula tepung tempe dengan penambahan semi refining caragenan dan bubuk kakao. *J. Aplikasi Teknol Pangan*, 2(1): 1-6
- Kustyawati, M.E., Nawansih, O. and Nurdjanah, S. 2017. Profile of aroma compounds and acceptability of modified tempeh. *International Food Research Journal (IFJR)*, 24(2)734-40.
- Maria Erna Kustyawati, Filli Pratama, Daniel Saputra, and Agus Wijaya. 2020. Shelf Life of Tempeh Processed With Sub-Supercritical Carbon Dioxides. *Potr. S. J. F. Sci.*, 14, 351-57. <https://doi.org/10.5219/1247>
- Maria Erna Kustyawati, Subeki, Murhadi, Samsul Rizal, and Peni Pujiastuti. 2020. Vitamin B12 production in soybean fermentation for tempe. *AIMS Agriculture and Food*, 5(2), 262-71. DOI: 10.3934/agrfood.2020.2.262
- Maria Erna Kustyawati, Dian Santoso Manalu, Murhadi Murhadi, Ahmad Sapta Zuidar, Diki Danar Tri Winanti. 2021. Masa simpan tempe dalam pengemas edible film tapioka termodifikasi [Shelf life of tempe wrapped by modified-tapioca edible film. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*, 26(1), 45-55. <http://dx.doi.org/10.23960/jtihp.v26i1.45-55>
- Maria Erna Kustyawati. 2009. Kajian peran yeast dalam pembuatan tempe. *AGRITECH*, 29(2), 64-69.
- Purry A.P.K. dan Rafiony A. 2018. Pembuatan minuman sari tempe dengan ekstrak jeruk siam ditinjau dari mutu organoleptic, kadar vit C dan aktivitas antioksidan dan isoflavan. *Pontianak Nutrition J*, 01(02): 1-7.
- Samsul Rizal, Murhadi, Maria Erna Kustyawati, Udin Hasanudin. 2020. Growth Optimization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhizopus oligosporus* during Fermentation to produce tempeh with high B-glukan content. *BIODIVERSITAS*, 21(6), 2667-73. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210639>
- Samsul Rizal, Maria Erna Kustyawati, Murhadi, Udin Hasanudin. 2021. The growth of yeast and fungi, the formation of β -glukan, and the antibacterial activities during soybean fermentation in producing tempeh. *International Journal of Food Science*, 2021, <https://doi.org/10.1155/2021/6676042>
- Widowati E., MAM. Andriani, Amalia Putri Kusumaningrum. 2011. Kajian total bakteri probiotik dan aktivitas antioksidan yogurt tempe dengan variasi substrat. *J.Teknol Hasil Pertanian*, 4(1): 18-24.