

**PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI STARTER SOURDOUGH
DAN CFS *Lactobacillus plantarum* SEBAGAI AGEN ANTIFUNGI
TERHADAP *Aspergillus niger* SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

**Oleh:
RIZKA FADILLA NAILA SA'ADAH
NIM. 220602110038**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

**PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI STARTER SOURDOUGH
DAN CFS *Lactobacillus plantarum* SEBAGAI AGEN ANTIFUNGI
TERHADAP *Aspergillus niger* SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

**Oleh:
RIZKA FADILLA NAILA SA'ADAH
NIM. 220602110038**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan
Dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Rizka Fadilla Naila Sa'adah
NIM : 220602110038
Program Studi : Biologi
Judul Skripsi : PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI
STARTER SOURDOUGH DAN CFS *Lactobacillus*
plantarum SEBAGAI AGEN ANTIFUNGI
TERHADAP *Aspergillus niger* SECARA IN VITRO

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji pada tanggal 25 Mei 2026 dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si

(.....)

Pembimbing 2 : Prof. Dr. H. Munirul Abidin

(.....)

Penguji : Ir. Liliek Harianie, AR (Ketua)

(.....)

Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc. (Anggota)

(.....)

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Prof. Dr. Retno Susilowati, M. Si

NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahilahirabbil'alam, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan nikmat yang telah mengiringi setiap langkah dalam menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam tercurah kepada Rasulullah SAW, pemimpin umat yang senantiasa menunjukkan jalan menuju kebaikan. Sebagai bentuk penghormatan dan ungkapan terima kasih, skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua tercinta, Bapak dan Ibu yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a yang tiada putus, dan pengorbanan yang tak ternilai harganya. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan kesehatan, rezeki barokah, dan kebahagiaan dunia akhirat.
2. Alm Kakek H. Samudji dan Almh Nenek Hj. Kayati, yang menjadi rumah teduh ternyaman untuk penulis. Terima kasih atas limpahan kasih sayang, pelukan hangat, dan petuah manis itu. Semoga Allah SWT menerima segala amal ibadah dan menempatkan beliau di tempat terbaik di sisi-Nya.
3. Bik Saroh, dek Asrori, dan dek Qudsy, yang selalu memberikan perhatian, dukungan dan semangat, serta doa yang tulus kepada penulis dalam setiap langkah kehidupan dan perjalanan panjang ini.
4. Sahabat dan teman-teman tercinta Daruzzahra Ar-Rifa'i, yang telah menjadi bagian penting dalam perjalanan kuliah ini. Terima kasih atas segala tawa, canda, tangis sedih dan bahagia yang telah dihadirkan di hidup saya. Terima kasih sudah menemani saya sampai pada titik ini. Semoga kalian akan selalu dilindungi Allah dimana pun kalian berada.
5. Teman kamar 9 tercinta Lu'lu dan Icha, yang telah memberi motivasi, dukungan dan rasa nyaman. Terima kasih telah mewarnai hari saya disini.
6. Rekan-rekan penelitian satu proyek ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta canda dan tawa yang dihadirkan selama di laboratorium.
7. Teman-teman Biologi A (Arteria), yang telah menjadi bagian tak terpisahkan dalam perjalanan akademik selama 8 semester ini. Terima kasih atas bantuan, dukungan, dan kerja sama yang diberikan selama ini.
8. Teman-teman "Let's Get Rich" tercinta, yang senantiasa memberikan kebersamaan, dukungan serta bantuan yang tak terhingga kepada penulis. Terima kasih atas warna yang kalian lukis di perjalanan ini. *See you on top*
9. Sa'ida, Putri, Imah, Risma, Salsa, dan Delta, yang telah menemani, memberikan dukungan, semangat, dan hiburan untuk penulis. Terima kasih untuk selalu ada dan hadir dalam hidup penulis. Semoga Allah selalu menjaga persahabatan kita sampai nanti.

Malang, 13 Mei 2025

Rizka Fadilla Naila Sa'adah

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا {٥} إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا {٦}

Artinya: *“Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan”*

(Q.S Al-Insyirah: 4-5)

“Sebab Tuhan t’lah berjanji, setelah sempit ada kemudahan. Kita miliknya, semua telah tertulis dan akan kembali padanya. Selalu ada pelangi, pada setiap mendungnya, setiap derita.

~Raim Laode, 2025

“BERTERIMAKASIH LAH PADA JATUH YANG TELAH
MENGAJARKANMU UNTUK BANGKIT”

~Rizka, 2019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizka Fadilla Naila Sa'adah
NIM : 220602110038
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Starter Sourdough dan
CFS *Lactobacillus plantarum* Sebagai Agen Antifungi
Terhadap *Aspergillus niger* Secara In Vitro

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 29 Mei 2026
Yang membuat pernyataan,



Rizka Fadilla Naila Sa'adah
NIM. 220602110038

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI STARTER SOURDOUGH
DAN CFS *Lactobacillus plantarum* SEBAGAI AGEN ANTIFUNGI
TERHADAP *Aspergillus niger* SECARA IN VITRO**

Rizka Fadilla Naila Sa'adah, Ulfah Utami, Munirul Abidin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Kasus kontaminasi pangan di Indonesia masih tergolong tinggi, khususnya pada produk roti yang rentan terkontaminasi mikroorganisme seperti *Aspergillus niger*. Kapang ini tidak hanya menyebabkan kerusakan produk, tetapi juga berpotensi menghasilkan mikotoksin, seperti okratoksin A, yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Upaya pengendalian umumnya masih mengandalkan bahan sintesis yang berpotensi menimbulkan dampak negatif, sehingga diperlukan alternatif yang lebih aman. Oleh karena itu, penelitian ini mengkaji pemanfaatan sourdough dan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen biopreservatif alami. Bakteri ini diketahui menghasilkan berbagai metabolit, baik primer maupun sekunder, seperti asam laktat, asam asetat, asam fenilaktat, eksopolisakarida, bakteriosin, dan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas kombinasi sourdough dan metabolit *Lactobacillus plantarum* dalam menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi CFS *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough memiliki aktivitas antifungi, dengan diameter zona hambat tertinggi sebesar 8,13 mm pada rasio 25:5 (C25S5), yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 40% telah mampu menghambat pertumbuhan kapang (bersifat fungistatik). Namun demikian, hasil uji Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM) menunjukkan bahwa seluruh perlakuan belum mampu membunuh kapang secara total, sehingga aktivitas yang dihasilkan hanya bersifat fungistatik dan belum mencapai fungisidal.

Kata Kunci: Kontaminasi Roti, Sourdough, Antifungi, *Lactobacillus plantarum*, Biopreservatif

THE EFFECT OF COMBINED CONCENTRATIONS OF SOURDOUGH STARTER AND CFS *Lactobacillus plantarum* AS AN ANTIFUNGAL AGENT ON *Aspergillus niger* IN VITRO

Rizka Fadilla Naila Sa'adah, Ulfah Utami, Munirul Abidin

Department of Biology, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Food contamination cases in Indonesia remain high, particularly in bread products, which are susceptible to contamination by microorganisms such as *Aspergillus niger*. This mold not only causes product spoilage but also has the potential to produce mycotoxins, such as ochratoxin A, which are harmful to human health. Control efforts generally still rely on synthetic materials that may have negative impacts, so safer alternatives are needed. Therefore, this study examines the use of sourdough and *Lactobacillus plantarum* as natural biopreservatives. This bacterium is known to produce various metabolites, both primary and secondary, such as lactic acid, acetic acid, phenyl lactic acid, exopolysaccharides, bacteriocins, and phenolic compounds that possess antifungal activity. This study aims to analyze the effectiveness of the combination of sourdough and *Lactobacillus plantarum* metabolites in inhibiting the growth of *Aspergillus niger*. The results showed that the combination of *Lactobacillus plantarum* CFS and sourdough starter exhibited antifungal activity, with the highest inhibition zone diameter of 8.13 mm at a 25:5 ratio (C25S5), which falls into the moderate inhibition category. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) testing showed that a 40% concentration was able to inhibit mold growth (fungistatic). However, Minimum Fungicidal Concentration (MFC) test results indicated that none of the treatments were able to completely kill the mold; thus, the activity produced was only fungistatic and did not reach the fungicidal level.

Keywords: Bread Contamination, Sourdough, Antifungal, *Lactobacillus plantarum*, Biopreservative

كعامل مضاد للفطريات على *Lactobacillus plantarum* تأثير تركيبة تركيز خميرة العجين المخمر و *Aspergillus niger*

ريزكا فاديلة نايلة سعادة، أولفة أوتامي، منيرول أبيدين

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية في مالانج

مختصر البحث

لا تزال حالات تلوث الأغذية في إندونيسيا مرتفعة، لا سيما في منتجات الخبز المعرضة للتلوث بالكائنات لا تتسبب هذه الفطريات في تلف المنتج فحسب، بل إنها قد تنتج أيضًا *Aspergillus niger* الدقيقة مثل ، التي تشكل خطرًا على صحة الإنسان. لا تزال جهود مكافحة تعتمد A ميكوتوكسينات، مثل الأوكراتوكسين بشكل عام على المواد الاصطناعية التي قد تسبب آثارًا سلبية، مما يستلزم إيجاد بدائل أكثر أمانًا. ولذلك، تبحث كعوامل حافظة بيولوجية طبيعية. *Lactobacillus plantarum* هذه الدراسة في استخدام العجين المخمر و من المعروف أن هذه البكتيريا تنتج العديد من المستقلبات، سواء الأولية أو الثانوية، مثل حمض اللاكتيك، وحمض الأسيتيك، وحمض الفينيللاكتيك، والإكسبوليسكاريدات، والبكتيريا، والمركبات الفينولية التي تتمتع بنشاط مضاد للفطريات. تهدف هذه الدراسة إلى تحليل فعالية مزيج العجين المخمر ومستقلبات CFS أظهرت نتائج البحث أن مزيج *Aspergillus niger* في تثبيط نمو *Lactobacillus plantarum* ومُحفز العجين المخمر يتمتع بنشاط مضاد للفطريات، حيث بلغ قطر منطقة *Lactobacillus plantarum* ، وهو ما يندرج ضمن فئة التثبيط المتوسط. أظهرت (C25S5) التثبيط الأقصى 8,13 ملم عند نسبة 25:5 أن التركيز بنسبة 40% قادر على تثبيط نمو العفن (ذو طبيعة (KHM) اختبارات تركيز التثبيط الأدنى أن جميع المعالجات (KFM) فونجستاتيكية). ومع ذلك، أظهرت نتائج اختبار تركيز المبيد الفطري الأدنى لم تتمكن من قتل العفن بشكل كامل، وبالتالي فإن النشاط الناتج ذو طبيعة فونجستاتيكية فقط ولم يصل إلى مستوى المبيد الفطري.

الكلمات المفتاحية: تلوث الخبز، العجين المخمر، مضادات الفطريات، المواد الحافظة الحيوية

Lactobacillus plantarum

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul “Pengaruh Kombinasi Sourdough Starter dan *Lactobacillus plantarum* Sebagai Agen Antifungi Terhadap Jamur *Aspergillus niger*” ini dengan baik dan tepat waktu. Shalawat serta salam dihaturkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW yang kita nanti-nanti syafa'atnya kelak di hari kiamat.

Kami mengucapkan rasa terima kasih yang sangat besar kepada semua pihak yang telah berperan dalam proses penyusunan proposal skripsi ini yakni:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nurdiana, M. Si., CHARM, CRMP selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Agus Mulyono, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dan memberikan arahan serta wawasan kepada penulis selama proses kepenulisan skripsi berlangsung.
5. Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing terkait integrasi antara sains dengan dalil-dalil Islam.
6. Seluruh dosen, dan laboran Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
7. Kedua orangtua, saudara, serta keluarga besar saya yang senantiasa memberikan dukungan material, doa, dan mental terhadap penulis sehingga penulis sampai di titik ini. Terhusus kepada Alm. H. Samudji dan Almh. Hj. Kayati terima kasih atas didikan, pesan dan arahan selama kalian hidup.
8. Buya Nadhif Anwar, Lc. M.Pd dan Umma Dr. Nury Firdausia, M.Pd.I selaku pengasuh Pondok Pesantren Daruzzahra Ar-Rifa'i, terima kasih telah membimbing dan memberikan nasihat kehidupan bagi penulis
9. Seluruh rekan yang turut andil dalam kepenulisan skripsi ini yang telah menemani, mensupport dalam setiap perjalanan yang saya ambil. Terima kasih telah selalu ada untuk penulis. Walaupun kehidupan ini sungguh berat, tapi jika berjalan bersama kalian InsyaAllah perjalanan itu terasa menyenangkan. Adanya kalian, menjadi rumah pulang kedua bagi penulis.

Kepengulisan laporan ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat dibutuhkan penulis untuk perbaikan dalam menulis laporan di kemudian hari.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Malang, 10 November 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مختلص البحث	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	12
1.3 Tujuan.....	12
1.4 Manfaat.....	13
1.5 Batasan Masalah.....	13
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 14
2.1 Sourdough	14
2.1.1 Deskripsi Umum	14
2.1.2 Tipe Sourdough	16
2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)	19
2.2.1 Deskripsi Umum	19
2.2.2 Karakteristik Bakteri Asam Laktat	20
2.3 <i>Lactobacillus plantarum</i>	24
2.3.1 Karakteristik <i>Lactobacillus plantarum</i>	24

2.3.2 Pertumbuhan <i>Lactobacillus plantarum</i>	25
2.3.3 Mekanisme Antifungi <i>Lactobacillus plantarum</i>	27
2.4 <i>Aspergillus niger</i>	28
2.4.1 Karakteristik <i>Aspergillus niger</i>	28
2.4.2 Kasus Kontaminasi <i>Aspergillus niger</i>	30
2.5 Antifungi	33
2.5.1 Deskripsi Umum	33
2.5.2 Mekanisme Kerja	33
2.6 Metode Uji Antifungi	35
2.6.1 Kategori Daya Hambat Antifungi.....	38
2.7 Uji Daya Hambat.....	39
2.8 Konsentrasi Pengujian	40
2.9 CFS (<i>Cell Free Supernatant</i>)	41
2.10 Media Selektif	43
2.10.1 Media Potato Dextrose (Agar & Broth).....	43
2.10.2 Media de Man, Ragosa, Sharpe (MRS Agar & Broth).....	44
2.11 Pemanfaatan Bakteri dalam Prespektif Islam.....	45
BAB III METODE PENELITIAN	50
3.1 Rancangan Penelitian	50
3.2 Waktu dan Tempat	51
3.3 Variabel Penelitian	51
3.3.1 Variabel Bebas.....	51
3.3.2 Variabel Terikat	51
3.3.3 Variabel Kontrol	51
3.4 Alat dan Bahan	51
3.4.1 Alat	51
3.4.2 Bahan	52
3.5 Prosedur Penelitian.....	52
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	52
3.5.2 Pembuatan Media	52
3.5.3 Peremajaan <i>Lactobacillus plantarum</i>	54
3.5.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan <i>Lactobacillus plantarum</i>	54

3.5.5 Pembuatan Adonan Sourdough	55
3.5.6 Pengenceran Adonan Sourdough.....	55
3.5.8 Uji Aktivitas Antifungi	56
3.6 Analisis Data	60
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	61
4.1 Aktivitas Antifungi Kombinasi Konsentrasi Starter Sourdough dan <i>Lactobacillus bacillus</i> terhadap <i>Aspergillus niger</i>	61
4.1.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i>	61
4.1.2 Uji Potensi Antifungi Kombinasi Konsentrasi.....	63
4.1.3 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	72
4.1.4 Uji Konsentrasi Fungisida Minimum (KFM)	74
4.2 Tinjauan Hasil Penelitian Berdasarkan Al-Qur'an.....	76
BAB V PENUTUP.....	81
5.1 Kesimpulan.....	81
5.2 Saran.....	82
DAFTAR PUSTAKA.....	83

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Metabolit BAL	20
Gambar 2.2 <i>Lactobacillus plantarum</i>	25
Gambar 2.3 Struktur <i>Aspergillus niger</i>	29
Gambar 3.1 Rumus Perhitungan Diameter Zona Hambat	58
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i>	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Kategori daya hambat	38
Tabel 2.2 Klasifikasi aktivitas antifungi berdasarkan IR dan SD	40
Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi Perlakuan	50
Tabel 3.2 Volume Kombinasi Konsentrasi Sourdough dan Lactobacillus	57
Tabel 3.3 Volume Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	59
Tabel 4.1 Hasil Diameter Zona Hambat	63
Tabel 4.2 Nilai Konsentrasi Hambat Minimum	73
Tabel 4.3 Nilai Konsentrasi Fungisidal Minimum	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Dokumentasi penelitian	89
Lampiran 2 Hasil Uji Daya Hambat.....	90
Lampiran 3 SPSS Uji Zona Hambat	92
Lampiran 4 Data hasil zona hambat.....	94
Lampiran 5 Grafik Pertumbuhan <i>Aspergillus niger</i> pada Uji KFM	95
Lampiran 6 Hasil Uji KHM	96
Lampiran 7 Hasil Uji KFM.....	97

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kasus kontaminasi pada bahan pangan di Indonesia menunjukkan prevalensi yang masih tinggi. Produk roti merupakan salah satu bahan pangan yang paling rentan terhadap kontaminasi mikrobiologis (Murtafi'ah dkk., 2021). Variasi tingkat kontaminasi antar daerah diduga dipengaruhi oleh perbedaan faktor lingkungan, seperti suhu dan kelembapan. Penelitian yang dilakukan di Bandung melaporkan bahwa tiga dari empat sampel roti tawar (75%) terdeteksi positif mengandung *Aspergillus* sp. (Murtafi'ah dkk., 2021). Sementara itu, penelitian serupa di Makassar menunjukkan tingkat kontaminasi yang lebih rendah, yaitu 50% (5 dari 10 sampel roti tawar kedaluwarsa selama tiga hari) yang ditumbuhi oleh *Aspergillus flavus*, *A. niger*, dan *A. fumigatus* (Lisu dkk., 2023).

Selain menurunkan mutu produk, kontaminasi jamur pada roti juga menimbulkan risiko serius terhadap keamanan pangan karena kemampuan beberapa spesies *Aspergillus* dalam memproduksi mikotoksin berbahaya, seperti aflatoksin (Mahato dkk., 2021). Paparan senyawa toksik ini dapat berdampak negatif terhadap kesehatan manusia, mulai dari gangguan pencernaan hingga risiko penyakit kronis.

Penggunaan bahan pengawet sintetis seperti kalsium propionate juga telah diterapkan untuk memperpanjang umur simpan roti. Namun, konsumsi jangka panjang bahan pengawet kimia tersebut dikhawatirkan berpotensi meningkatkan risiko gangguan kesehatan (Sadeghi *et al*, 2019). Oleh sebab itu, upaya penghambatan pertumbuhan jamur pada produk roti memiliki nilai strategis sebagai

agen biopreservatif. Sejalan dengan meningkatnya kesadaran konsumen terhadap produk pangan alami, industri makanan kini berupaya mengembangkan alternatif pengawet biologis yang lebih aman, ramah lingkungan, dan berkelanjutan, termasuk melalui pemanfaatan mikroorganisme atau metabolitnya dalam menekan pertumbuhan kapang kontaminan.

Faktor utama yang memicu terjadinya kontaminasi pada produk roti antara lain adalah proses penyimpanan yang tidak sesuai standar, suhu lingkungan yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme, serta kondisi iklim tropis di Indonesia yang mempercepat perkembangan kapang. Penelitian di Bandung menunjukkan bahwa pada penyimpanan suhu ruang, pertumbuhan jamur pada roti mulai terdeteksi sejak hari ke-3 (33,3%) dan meningkat menjadi 66,7% pada hari ke-4. Sebaliknya, pada penyimpanan di lemari pendingin, pertumbuhan jamur baru terlihat pada hari ke-5 (Mizana dkk., 2016). Hasil serupa juga dilaporkan di Makassar, di mana dari 10 sampel roti tawar yang telah melewati masa kedaluwarsa selama tiga hari, seluruhnya teridentifikasi mengandung *Aspergillus flavus*, *A. niger*, dan *A. fumigatus* (Rahman dkk., 2023; Murtafi'ah dkk., 2021).

Aspergillus niger merupakan kapang yang mampu tumbuh dan berkembang biak pada kondisi aktivitas air (aW) rendah, sehingga berperan penting dalam proses kontaminasi produk roti yang disimpan di ruang terbuka. Pada bidang pangan *A. niger* dikenal sebagai kontaminan pangan yang dapat merusak mutu pangan, terutama roti (Yu *et al.*, 2021). Selain itu, *A. niger* juga berpotensi menghasilkan mikotoksin, salah satunya adalah okratoksin A (OTA), malformins, dan naphtho- γ -pyrones yang berbahaya bagi manusia dan hewan. Meskipun toksisitas OTA yang dihasilkan *A. niger* relatif lebih rendah

dibandingkan dengan yang diproduksi oleh *Aspergillus ochraceus*. Namun, senyawa ini tetap dikategorikan sebagai mikotoksin berbahaya karena bersifat teratogenik, embriotoksik, genotoksik, neurotoksik, immunosupresif, dan karsinogenik (Lasram *et al.*, 2016). Walaupun *A. niger* jarang menjadi penyebab utama penyakit pada manusia dibandingkan spesies *Aspergillus* lainnya, individu dengan sistem kekebalan tubuh lemah tetap berisiko mengalami infeksi serius, seperti aspergilosis paru invasive (Rautemaa-Richardson & Richardson, 2017).

Risiko kontaminasi pangan akibat *Aspergillus niger* menjadikan upaya preservasi pangan semakin penting untuk diperhatikan, khususnya pada produk roti yang memiliki kadar air dan kandungan nutrisi tinggi sehingga rentan terhadap pertumbuhan kapang. Allah SWT telah memerintahkan manusia untuk mengonsumsi makanan yang halal dan baik sebagaimana tercantum dalam QS Al-Baqarah ayat 168, yang berbunyi:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ

مُبِينٌ ﴿١٦٨﴾

Artinya: “Wahai manusia, makanlah sebagian (makanan) di bumi yang halal lagi baik dan janganlah mengikuti langkah-langkah setan. Sesungguhnya ia bagimu merupakan musuh yang nyata.”

Sebagaimana dijelaskan Shihab (2012), tidak semua makanan yang halal secara otomatis thayyib bagi setiap individu, karena perbedaan genetik menyebabkan sebagian orang intoleran terhadap makanan tertentu—sehingga makanan thayyib adalah makanan yang membawa manfaat nyata bagi tubuh. Ketika *Aspergillus niger* mengkontaminasi roti dan menghasilkan okratoksin A yang toksik dan karsinogenik, roti yang bahan dasarnya halal tersebut tidak lagi memenuhi syarat thayyib. Dengan demikian, membiarkan kontaminasi kapang

terjadi tanpa upaya pencegahan sama halnya dengan mengabaikan perintah halalan thayyiban yang telah Allah tegaskan dalam ayat ini.

Berdasarkan persoalan tersebut, diperlukan biopreservasi berbasis agen antifungi alami yang mampu mencegah kontaminasi kapang sekaligus mempertahankan keamanan pangan. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah pemanfaatan Cell Free Supernatant (CFS) *Lactobacillus plantarum* yang dikombinasikan dengan starter sourdough. Keduanya berstatus Generally Recognized As Safe (GRAS) dan mengandung metabolit antifungi alami yang bekerja sinergis menekan pertumbuhan *Aspergillus niger*. Sehingga berpotensi menghadirkan roti yang tidak hanya tahan lama tetapi juga bermanfaat bagi tubuh (Lafuente *et al.*, 2023).

Sourdough merupakan produk fermentasi yang dibuat dari campuran tepung dan air yang difermentasi oleh bakteri asam laktat (BAL), baik yang berasal secara alami dari bahan maupun dari kultur starter tertentu (Ariyana *et al.*, 2018). Berdasarkan komposisi dan bentuk akhirnya, sourdough dibedakan menjadi tiga tipe: Tipe I merupakan sourdough segar yang diaktifkan kembali dengan sebagian adonan sebelumnya dan memiliki tekstur kental bergelembung; Tipe II menggunakan strain mikroorganisme terpilih yang difermentasi dalam bioreaktor hingga berbentuk cair; sedangkan Tipe III merupakan hasil pengeringan sourdough cair (tipe II) menggunakan spray drying, menghasilkan bentuk padat dengan kadar air rendah dan tahan lama (Lafuente *et al.*, 2023).

Sourdough diketahui memiliki daya simpan yang lebih tinggi dibandingkan roti konvensional karena aktivitas bakteri asam laktat (BAL) yang dominan di dalamnya, sedangkan roti konvensional umumnya hanya menggunakan ragi

Saccharomyces cerevisiae sebagai pengembang adonan. BAL menghasilkan berbagai senyawa antifungi seperti asam laktat, asam asetat, dan peptida antifungi yang menurunkan pH dan menghambat pertumbuhan kapang penyebab kerusakan pangan. Penelitian melaporkan bahwa penambahan sourdough sebesar 20% pada adonan roti dapat memperpanjang umur simpan bebas jamur hingga 19–25 hari. Hasil serupa juga ditunjukkan oleh Oleinikova, *et al.*, (2025), bahwa roti biasa mengalami kontaminasi lebih cepat. Hal ini sangat dipengaruhi oleh komposisi mikroba, terutama keberadaan *Lactobacillus plantarum* yang berperan dalam menghasilkan metabolit antijamur (Oleinikova, *et al.*, 2025).

Ketahanan roti sourdough terhadap kontaminasi mikroorganisme ini dikarenakan lamanya fermentasi berlangsung. Lama fermentasi menyebabkan meningkatnya populasi dan aktivitas bakteri asam laktat (BAL) yang terbentuk selama fermentasi (Lafuente *et al.*, 2023). Sehingga semakin tinggi pula kemampuan roti sourdough untuk bertahan dari pertumbuhan mikroba pembusuk. Penambahan strain spesifik seperti *Lactobacillus plantarum* ke dalam starter sourdough juga terbukti meningkatkan efektivitas aktivitas antijamur.

Menurut Lafuente *et al.* (2023), roti yang difermentasi menggunakan starter sourdough yang mengandung *Lactobacillus plantarum* memiliki masa simpan lebih panjang dibandingkan sourdough konvensional. Hal ini ditunjukkan oleh pertumbuhan kapang yang lebih lambat, di mana pada waktu inkubasi 96 jam diameter koloni kapang pada roti kontrol telah mencapai sekitar 45 mm, sedangkan pada roti dengan penambahan BAL hanya berkisar 30–38 mm. Selain itu, pertumbuhan kapang pada roti dengan BAL masih terhambat hingga sekitar 240

288 jam, menunjukkan kemampuan *Lactobacillus plantarum* dalam menunda perkembangan kapang dan memperpanjang umur simpan roti.

Bakteri Asam Laktat (BAL) memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat sebagai produk utama metabolisme (Wang *et al.*, 2021). Selama proses fermentasi, BAL dapat menguraikan berbagai senyawa makromolekul dalam bahan pangan, termasuk melakukan degradasi polisakarida yang sulit dicerna serta mentransformasi senyawa penyebab rasa yang tidak diinginkan. Aktivitas enzimatik tersebut berperan penting dalam meningkatkan cita rasa, nilai gizi, dan daya simpan produk fermentasi. Selain itu, BAL juga memiliki aktivitas antimikroba melalui produksi asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen maupun pembusuk (Oleinikova *et al.*, 2025).

Lactobacillus plantarum adalah salah satu spesies dari BAL sourdough yang sangat efektif karena mikroba ini mampu menghasilkan berbagai metabolit sekunder dengan aktivitas antifungi yang kuat. Metabolit yang dihasilkan antara lain asam organik seperti asam laktat (70-85%), asam asetat (10-15%), asam fenil-laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin, serta senyawa volatil seperti asam lemak dan alkohol. Kombinasi senyawa ini menurunkan pH lingkungan adonan, menghambat pembentukan spora jamur, serta mengganggu integritas membran sel mikroorganisme patogen (Lafuente *et al.*, 2023).

Aktivitas metabolit ini bekerja secara sinergis, tidak hanya memperpanjang masa simpan roti sourdough, tetapi juga meningkatkan keamanan pangan secara alami tanpa bahan pengawet sintetis yang membahayakan kesehatan. Penelitian Hernández-Figueroa *et al.*, (2024) menjelaskan bahwa strain *Lactobacillus*

plantarum yang digunakan pada penelitian ini memiliki kadar asam asetat tertinggi, sehingga strain ini memiliki kemampuan kuat sebagai antifungi. Nguyen *et al*, (2025) menjelaskan bahwa pengisolasian biji kakao dari Vietnam memperoleh 19 genus BAL, dimana masing-masing genus tersebut diukur nilai hambatnya terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus*. Hasil menunjukkan bahwa strain L41E96 yakni spesies *Lactobacillus plantarum* memiliki daya hambat, serta dalam konsentrasi terkecil (0,36 mg/mL) dapat menghambat dan membunuh *Aspergillus flavus*.

Cell-Free Supernatant (CFS) merupakan cairan hasil sentrifugasi kultur bakteri yang mengandung senyawa metabolit aktif *Lactobacillus plantarum* tanpa melibatkan sel hidup. Dibandingkan dengan penggunaan sel hidup *Lactobacillus plantarum*, pemanfaatan Cell-Free Supernatant (CFS) dinilai lebih efektif dalam pengujian antifungi karena mengandung metabolit bioaktif yang telah terakumulasi dan siap bekerja tanpa memerlukan fase adaptasi maupun pertumbuhan bakteri.

Hernández-Figueroa *et al*. (2022) melaporkan bahwa metabolit hasil fermentasi mampu menghambat pertumbuhan kapang secara langsung melalui aktivitas asam organik dan senyawa antifungi lainnya. Temuan ini didukung oleh Nguyen *et al*. (2025), yang menunjukkan bahwa CFS *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan menghambat bahkan membunuh *Aspergillus flavus* pada konsentrasi rendah. Sebaliknya, penelitian Lafuente *et al*. (2024) dan Oleinikova *et al*. (2025) menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* hidup memerlukan waktu untuk menghasilkan metabolit antifungi sebelum mampu memberikan efek penghambatan yang optimal. Oleh karena itu, aktivitas antifungi CFS umumnya lebih cepat dan efektif dibandingkan penggunaan bakteri hidup, karena seluruh senyawa aktif telah tersedia dalam konsentrasi yang tinggi sejak awal aplikasi.

Pengambilan CFS dilakukan pada fase stasioner karena pada fase inilah metabolit primer seperti asam laktat dan asam asetat serta metabolit sekunder seperti bakteriosin dan peptida antifungi keduanya terakumulasi pada kadar tertinggi sebelum sel memasuki fase kematian. Dengan demikian, CFS yang diambil pada fase stasioner mengandung spektrum senyawa bioaktif paling lengkap dan terkonsentrasi. Senyawa-senyawa aktif tersebut mampu menghambat pertumbuhan kapang seperti *Aspergillus niger* melalui tiga mekanisme utama: penurunan pH lingkungan, kerusakan membran sel kapang, serta penghambatan biosintesis ergosterol (Arasu *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2021).

Kombinasi antara *Cell Free Supernatant* (CFS) *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough menghasilkan efek penghambatan yang optimal terhadap mikroorganisme kontaminan, termasuk kapang seperti *Aspergillus niger*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hernández-Figueroa *et al.*, (2023), penggunaan sourdough dengan konsentrasi 5–20% mampu bekerja secara fungistatik, dengan metabolit aktif utama berupa asam laktat, asam asetat, dan peptida antifungi yang efektif memperlambat pertumbuhan *Aspergillus* sp secara signifikan. Selain itu, Arasu *et al.*, (2015) melaporkan bahwa metabolit sekunder *L. plantarum* pada konsentrasi 10–25% menunjukkan aktivitas antifungal kuat terhadap *Aspergillus* sp. Penelitian oleh Sadeghi *et al.*, (2019) juga menguatkan bahwa kadar hambat minimum (MIC) dari CFS *Lactobacillus plantarum* terhadap *A. niger* berada pada konsentrasi 20%. Secara umum, efektivitas konsentrasi 5–20% untuk sourdough dan 10–25% untuk CFS *L. plantarum* disebabkan oleh keseimbangan antara jumlah senyawa bioaktif dan matriks fermentasi.

Kombinasi antara starter sourdough serta metabolit *Lactobacillus plantarum* akan menghasilkan metabolit yang melimpah, sehingga mekanisme penghambatan kapang uji akan semakin maksimal. BAL yang berada dalam sourdough ketika bercampur dengan metabolit sekunder dari *Lactobacillus plantarum* (BAL) akan membentuk suasana yang sangat asam, sehingga kapang tidak mampu tumbuh pada kondisi tersebut (Ariyana *et al.*, 2018). Pada starter sourdough tanpa penambahan *Lactobacillus plantarum*, ia akan bertahan selama kurang lebih 5 hari tanpa pengawet sintesis, sedangkan hari selanjutnya roti tersebut mengalami kontaminasi bakteri. Sedangkan pada sourdough yang ditambahkan *Lactobacillus plantarum* akan memiliki masa simpan yang lebih lama dari sebelumnya yakni selama kurang lebih 7 hari, dimana selama pengamatan tersebut sourdough ini tidak ditumbuhi jamur mau pun bakteri (Ariyana *et al.*, 2018).

Efektivitas ini terjadi karena fermentasi BAL menyebabkan penurunan pH lingkungan dan peningkatan konsentrasi metabolit antifungi, sehingga menciptakan kondisi yang menghambat germinasi spora kapang (Wang, *et al.*, 2021). Sehingga apabila dilihat pada sisi pangan—gagasan ini dapat memperpanjang ketahanan roti yang diproduksi tanpa menggunakan bahan pengawet. Oleh karena itu, kombinasi BAL dan sourdough tidak hanya meningkatkan keamanan pangan terhadap kontaminasi jamur, tetapi juga menjadi alternatif pengawet alami yang lebih aman, dan sesuai dengan konsep pangan berkelanjutan (Susilowati & Haryono, 2018).

Penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*) untuk menguji efektivitas senyawa antifungi kombinasi sourdough dan Cell-Free Supernatant (CFS) *Lactobacillus plantarum* terhadap *Aspergillus niger*. Teknik ini

digunakan karena ekonomis, fleksibel, serta mendukung penyerapan optimal zat uji secara langsung pada media agar (Natasia, dkk., 2020). Zona bening yang terbentuk di sekitar sumur menunjukkan adanya daya hambat. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditetapkan melalui metode dilusi cair, sebab metode ini memungkinkan pengamatan tingkat kekeruhan suspensi mikroba secara kuantitatif menggunakan pengukuran absorbansi (Balouiri *et al.*, 2016). Adapun nilai Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM) diperoleh dengan metode pour plate, yang dinilai lebih sensitif dan efektif mendeteksi aktivitas antijamur alami, sebagaimana telah dibuktikan oleh penelitian Hernández-Figueroa *et al.*, (2023).

Penambahan isolat *Lactobacillus plantarum* ke dalam starter dapat meningkatkan produksi metabolit bioaktif yang memperkuat efek pengawetan alami. Secara alami, sourdough sudah memiliki aktivitas antifungi yang mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen, namun dengan tambahan isolat *L. plantarum* aktivitas antifunginya diperkirakan semakin meningkat karena metabolit primer dan sekunder yang dihasilkan BAL juga lebih banyak (Oleinikova, *et al.*, 2025). Kombinasi antara sourdough (sebagai sumber bakteri hidup) dan metabolit yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* dapat bekerja secara sinergis untuk membentuk spektrum senyawa antifungi yang efektif dalam memperpanjang umur simpan roti (Russo, *et al.*, 2017). Dengan demikian, kombinasi CFS *L. plantarum* dan starter sourdough efektif sebagai agen biopreservatif alami untuk mencegah kontaminasi jamur pada produk roti.

Hal tersebut sejalan dengan temuan Oleinikova, *et al.*, (2025) yang melaporkan bahwa kombinasi BAL dengan sourdough spontan matang menunjukkan aktivitas antijamur terhadap jamur perusak roti. BAL sendiri telah

lama diteliti sebagai alternatif pengawet kimia karena selain menjamin label bersih, BAL juga memberikan manfaat tambahan berupa peningkatan kualitas sensorik, tekstur, dan nilai gizi produk. Dopazo, *et al.*, (2023) bahkan menunjukkan bahwa penambahan 5% tepung yang difermentasi dengan *L. plantarum* mampu meningkatkan kandungan asam laktat dan asam fenilaktat sekaligus memperpanjang masa simpan roti yang terkontaminasi *Aspergillus flavus* dan *Penicillium verrucosum*. Selain itu, *L. plantarum* juga diketahui menghasilkan senyawa asam fenolik seperti asam galat, kafeat, klorogenat, dan siringat yang berperan dalam efek antifungi (Dopazo *et al.*, 2023). Dengan demikian, penambahan isolat *L. plantarum* diharapkan dapat memperkuat sifat fungsional sourdough dan meningkatkan daya hambatnya terhadap pertumbuhan jamur, yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang lebih besar.

Penelitian mengenai kandungan antifungi pada sourdough telah banyak dilakukan, dan sebagian besar melaporkan bahwa aktivitas antijamur sourdough terutama berkaitan dengan keberadaan asam laktat dan asam asetat (Nguyen, *et al.*, 2025). Asam organik ini bersinergi dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur. Senyawa bioaktif ini tidak hanya membantu memperpanjang umur simpan roti dengan mencegah pertumbuhan jamur, tetapi juga meningkatkan kualitas sensoriknya (Hernández-Figueroa, *et al.*, 2024).

Fokus penelitian ini diarahkan pada daya hambat adonan sourdough yang ditambahkan isolat *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Aspergillus niger*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kombinasi antara sourdough dan metabolit *Lactobacillus plantarum* yang dapat mengendalikan kontaminasi

patogen, sehingga berpotensi memberikan kontribusi pada ketahanan pangan, khususnya pada produk roti. Mekanisme penghambatan tersebut diduga terjadi melalui aktivitas sinergis antara metabolit primer dan sekunder yang dihasilkan. Kedua jenis metabolit ini berperan dalam menurunkan pH lingkungan adonan, sehingga tercipta kondisi asam yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan jamur (Liu *et al.*, 2022).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah ini adalah:

1. Apakah kombinasi konsentrasi starter sourdough dan *Lactobacillus plantarum* berpengaruh terhadap pertumbuhan *Aspergillus niger*?
2. Bagaimana hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM) kombinasi sourdough dan *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Aspergillus niger*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk menganalisa efektivitas kombinasi sourdough dan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen antifungi terhadap *Aspergillus niger*
2. Untuk menganalisis nilai Konsentrasi Hambat Minimum kombinasi sourdough dan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen antifungi terhadap *Aspergillus niger*
3. Untuk menganalisis Konsentrasi Fungisida Minimum kombinasi sourdough dan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen antifungi terhadap jamur *Aspergillus niger*

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi mengenai hasil uji pengaruh kombinasi sourdough dan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen antifungi terhadap *Aspergillus niger*.
2. Memberikan alternatif pengawet alami yang dapat diaplikasikan dalam produk pangan, khususnya roti, sehingga mengurangi penggunaan bahan kimia sintetis.
3. Mengembangkan inovasi tentang produk roti dengan meningkatkan daya simpan dan sebagai agen penghambat jamur *Aspergillus niger*.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Starter sourdough diambil dengan kriteria sebagai berikut; volume adonan yang telah mengembang dua kali lipat dan menghasilkan banyak gelembung—minimal dalam waktu fermentasi tiga hari atau lebih.
2. Bakteri uji yang digunakan adalah *Lactobacillus plantarum* yang berasal dari isolasi buah apel varietas Anna (*Malus sylvestris* Mill) yang diperoleh dari penelitian sebelumnya.
3. Kombinasi *Lactobacillus plantarum* yang digunakan dalam penelitian ini adalah berbentuk CFS (*Cell Free Supernatant*).
4. Konsentrasi perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini hanya terbatas pada kombinasi C10S20, C15S15, C20S10, C25S5.
5. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antifungi dengan menggunakan uji potensi antibakteri, uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sourdough

2.1.1 Deskripsi Umum

Sourdough merupakan suatu proses bioteknologi populer yang telah digunakan selama lebih dari 5000 tahun, karena masyarakat percaya dengan menggunakan teknik ini roti yang dihasilkan akan memiliki tekstur yang kenyal serta tahan lama. Berdasarkan sudut pandang mikrobiologi, sourdough adalah suatu ekosistem yang memiliki lingkungan dengan pH rendah, konsentrasi karbohidrat tinggi, keterbatasan oksigen, dan jumlah sel BAL yang melimpah.

Adonan sourdough terbuat dari campuran tepung terigu, air dan bahan lainnya melalui proses fermentasi yang mengandung microflora seperti BAL dan yeast yang berperan pada proses pengasaman dan pengembangan roti (Ariyana, dkk., 2018). Bahan tambahan untuk pengembang roti tawar yaitu ragi, baik ragi instan maupun ragi alami. Ragi yang biasa digunakan untuk komersil adalah ragi instan karena praktis dan langsung pakai. Selain itu, ragi alami juga dapat digunakan sebagai bahan pengembang kue. Namun, penggunaan ragi alami ini tidak bisa secara langsung, harus melalui fermentasi yang lama. Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin bagus kualitas roti tersebut (Lafuente., *et al.*, 2023).

Roti yang dibuat dengan starter sourdough ini memiliki banyak keuntungan diantaranya; untuk meningkatkan rasa, aroma, memperbaiki tekstur, meningkatkan nutrisi, serta memperpanjang umur simpan secara alami. Hal ini disebabkan Bakteri Asam Laktat, yeast, dan enzim endogen yang terdapat pada sourdough dapat melakukan hidrolisis pada karbohidrat, senyawa fenolik, lipid dan protein.

Metabolisme lipid pada saat fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, antikapang, dan beberapa senyawa pembentuk rasa sehingga masa simpan roti menjadi dua kali lipat. Fermentasi sourdough melibatkan mikroorganisme seperti bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan gas karbondioksida sehingga adonan mengembang, memiliki aroma yang unik, dan meningkatkan daya simpan roti (Lafuente., *et al.*, 2023).

Proses pembuatan sourdough ini dimulai dengan mencampurkan tepung terigu dan air yang kemudian difermentasi selama beberapa hari pada suhu ruang. Setelah beberapa hari, bakteri asam laktat mulai terbentuk, sehingga suhu udara harus dijaga dan sourdough harus diberi nutrisi setiap harinya (Sanggramasari, 2018). Setelah proses fermentasi terjadi, adonan sourdough akan mengeluarkan bau asam yang khas. Menurut Lafuente., *et al.*, (2023) bau asam pada adonan disebabkan adanya bakteri *Lactobacillus* yang tergolong ke dalam bakteri asam laktat dan asam asetat. Asam laktat dan asam asetat akan memecah gluten dalam adonan, sehingga membuat gluten mudah dicerna. Kemudian bakteri asam laktat baru menghasilkan produk sampingan berupa cita rasa asam. Hal ini dapat menguntungkan adonan karena bakteri yang tidak tahan asam akan mati selama BAL menghasilkan asam (Sangjin, 2012). Fermentasi sourdough melibatkan mikroorganisme seperti bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan gas karbondioksida sehingga adonan mengembang, memiliki aroma yang unik, dan meningkatkan daya simpan roti (Lafuente., *et al.*, 2023).

Proses pembuatan sourdough ini dimulai dengan mencampurkan tepung terigu dan air yang kemudian difermentasi selama beberapa hari pada suhu ruang. Setelah beberapa hari, bakteri asam laktat mulai terbentuk, sehingga suhu udara

harus dijaga dan sourdough harus diberi nutrisi setiap harinya (Sanggramasari, 2018). Setelah proses fermentasi terjadi, adonan sourdough akan mengeluarkan bau asam yang khas. Menurut Lafuente., *et al.*, (2023) bau asam pada adonan disebabkan adanya bakteri *Lactobacillus* yang tergolong ke dalam bakteri asam laktat dan asam asetat. Asam laktat dan asam asetat akan memecah gluten dalam adonan, sehingga membuat gluten mudah dicerna. Kemudian bakteri asam laktat baru menghasilkan produk sampingan berupa cita rasa asam. Hal ini dapat menguntungkan adonan karena bakteri yang tidak tahan asam akan mati selama BAL menghasilkan asam (Sangjin, 2012).

2.1.2 Tipe Sourdough

Tipe-tipe sourdough berdasarkan komposisi, hasil akhir serta pengaplikasiannya menurut Oleinikova, *et al.*, (2025) terbagi menjadi 3 yakni:

1. Sourdough tipe I

Tipe I sourdough biasanya merupakan campuran ragi dan bakteri asam laktat (BAL) mesofilik yang khas. Proses pembentukan mikrobiota sourdough spontan berlangsung secara bertahap. Tipe I atau sourdough tradisional bergantung pada teknik backslopping pada suhu inkubasi rendah (20°C–24°C), yang bergantung pada siklus reinokulasi berulang (6–24 jam) dengan tepung terigu air dari yang sebelumnya berasal dari adonan induk. Sourdough tipe I memuat campuran spesies ragi dan BAL yang khas, yang mewakili keragaman besar starter sourdough alami. Backslopping menghasilkan prevalensi spesies/galur yang paling beradaptasi dengan ekosistem sourdough. Jenis tepung yang digunakan, dan kualitas enzimatik, mikrobiologis, nutrisi, dan teksturnya adalah yang paling penting karena

faktor-faktor ini akan menentukan stabilitas adonan matang (Lafuente, *et al.*, 2024).

2. Sourdough tipe II

Sourdough tipe II memiliki ciri-ciri adonan dicirikan oleh fermentasi dengan strain bakteri BAL tertentu. Sourdough tipe II umumnya tidak cocok untuk pengembangan adonan, tetapi digunakan untuk pengasaman adonan dan sebagai penambah rasa. Proses ini lebih singkat daripada tipe I, dengan waktu fermentasi selama 15-20 jam, diikuti dengan periode penyimpanan sehari-hari. Sourdough tipe ini umumnya berbentuk cair, dan fermentasi berlangsung di dalam bioreaktor atau tangki. Dengan demikian, sourdough tipe II dapat ditingkatkan ke tingkat industri.

Starter BAL yang umum digunakan adalah strain yang tahan asam, seperti *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, atau *Limosilactobacillus reuteri*. Starter ini disertai oleh khamir, seperti *Saccharomyces cerevisiae*, yang sering ditambahkan pada tahap akhir tetapi juga dapat ditambahkan bersama BAL. BAL ini memiliki kemampuan penting, seperti mempercepat pengasaman, menghasilkan eksopolisakarida, senyawa volatil, serta bersifat proteolitik (menguraikan protein). Aktivitas proteolitik ini membantu membentuk tekstur roti sekaligus menghasilkan peptida bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan, misalnya pengendali hipertensi dan pencegah kanker. Beberapa strain BAL, seperti *L. plantarum* juga terbukti menghasilkan senyawa antijamur terhadap jamur pembusuk roti *Penicillium citrinum*, *Aspergillus*

sp dalam jumlah tinggi, sehingga sourdough tidak hanya lebih bergizi tetapi juga memiliki sifat pengawet alami (Zhao, *et al.*, 2022).

3. Sourdough tipe III

Sourdough tipe III sangat mirip dengan tipe II, dengan perbedaan terletak pada proses dehidrasi atau pengeringan. Proses ini bertujuan untuk mengeringkan serta menonaktifkan sebagian mikroba. Berbagai teknik dehidrasi dapat diterapkan, dengan pengeringan drum dan semprot menjadi yang paling umum. Sourdough Tipe III umumnya menggunakan bakteri asam laktat (BAL) yang tahan terhadap pengeringan, seperti *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *L. brevis*. Namun, keberlangsungan hidup mikroba dalam starter ini sangat dipengaruhi oleh proses pengeringannya. Karena itu, sourdough kering biasanya lebih banyak dimanfaatkan untuk meningkatkan cita rasa roti dibandingkan sebagai pengembang utama. Meski begitu, bentuk keringnya sangat praktis sehingga mendorong penelitian untuk mengoptimalkan teknologi persiapan dan penggunaannya (Lafuente., *et al.*, 2023).

Saat pembuatan sourdough tepung terigu akan menyerap air sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada starter agar tetap hidup (Lafuente., *et al.*, 2023). Ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan saat membuat ragi alami, antara lain suhu, kondisi anaerobik, pemberian nutrisi, dan pH. Suhu ruang terbaik untuk fermentasi adalah 25-27°C. Jika suhu lebih rendah dari 25°C fermentasi akan berlangsung lebih lama dan jika lebih rendah dari 18°C maka ragi menjadi tidak aktif. Jika suhu ruang lebih tinggi dari 27°C fermentasi akan lebih cepat dan jika fermentasi lebih tinggi dari 30°C maka ragi alami akan mudah terkontaminasi.

Kondisi anaerobik perlu dijaga untuk mencegah kontaminasi dari bakteri dan jamur lain. pH optimal dalam pembuatan ragi alami berkisar antara 4,2-4,5. Selain itu, pemberian nutrisi harus sangat diperhatikan karena ragi akan mengonsumsi kandungan gula yang terdapat pada tepung yang digunakan (Sangjin, 2012). Gula seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa merupakan sumber nutrisi untuk ragi alami. Ragi menghasilkan enzim zimase untuk membantu memperoleh energi dari gula-gula tersebut, yang kemudian menghasilkan karbon dioksida dan alkohol (Lafuente., *et al.*, 2023).

2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)

2.2.1 Deskripsi Umum

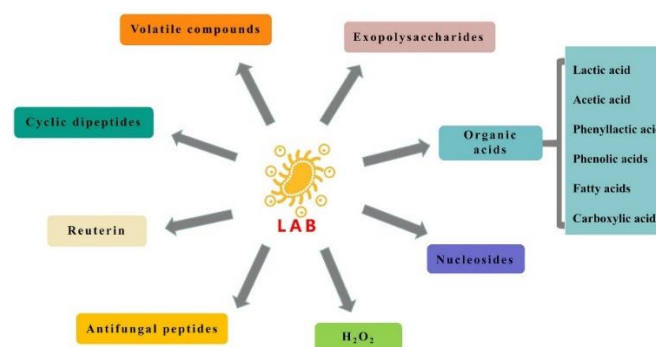
Bakteri Asam Laktat merupakan kelompok bakteri yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dalam fermentasi juga dalam proses metabolisme karbohidrat. Bakteri ini banyak ditemukan pada produk makanan olahan yang difermentasi serta dapat memberikan dampak yang positif bagi kesehatan (Nudyanto & Zubaidah, 2015). Habitat yang umum digunakan untuk bakteri ini adalah pada lingkungan yang kaya sumber karbohidrat, seperti produk susu, daging olahan, serta saluran pencernaan manusia dan hewan. Ia juga disebut sebagai flora normal yang ada di pencernaan manusia, karena ia berperan penting dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus dengan cara menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui produksi asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Selain itu, BAL membantu proses pencernaan makanan, sintesis vitamin (seperti vitamin B kompleks), dan peningkatan sistem imun tubuh (Nudyanto & Zubaidah, 2015).

BAL ini tergolong dalam bakteri gram positif yang memiliki dinding sel tebal yang tersusun dari peptidoglikan, ia juga tidak membentuk spora (Pérez-

Alvarado *et al.*, 2022). Morfologi BAL ini berbentuk coccus atau basil dan pada umumnya bersifat katalase negative (Nudyanto & Zubaidah, 2015) serta dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen (*anerob fakultatif*). Bakteri ini juga dikategorikan sebagai *generally recognized as safe* (GRAS) karena bersifat aman bagi kesehatan manusia dan non patogen sehingga berpotensi sebagai biopreservatif (Breton, *et al.*, 2020).

2.2.2 Karakteristik Bakteri Asam Laktat

BAL umumnya tidak bersifat motil, bersifat anaerob, dan oksidase positif. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, dan juga mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Romadhon, *et al.*, 2012). BAL menghasilkan beberapa produk metabolisme yang memiliki kemampuan sebagai senyawa antimikroba lain berupa asam fenil-laktat, asam hidroksi-sinamat, hidrogen peroksida, diasetil, hingga peptida dengan aktivitas fungisid. Senyawa-senyawa ini bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas membran, merusak protein, hingga menyebabkan stres oksidatif pada sel jamur. BAL juga dikenal memiliki kemampuan memproduksi zat spesifik protein berupa bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen misalnya genus *Listeria* dan *Enterococcus* (Subagiyo, dkk., 2016).



Gambar 2.1 Metabolit BAL
(sumber: Liu *et al.*, 2022)

Bakteri asam laktat memiliki banyak manfaat dalam industri makanan yakni untuk meningkatkan cita rasa makanan fermentasi, meningkatkan nutrisi makanan, mengurangi zat berbahaya dan memperpanjang umur simpan. Selain itu, BAL digunakan sebagai probiotik untuk meningkatkan kesehatan di dalam tubuh (Wang *et al.*, 2021).

Bakteri asam laktat juga memiliki aktivitas antifungi, resistensi terhadap sistem pencernaan, aktivitas antikarsinogenik, dan mampu meningkatkan penyerapan usus termasuk sifat probiotik. Bakteri probiotik harus memiliki sifat *essential* seperti ketahanan terhadap kondisi lambung dan usus, dimana asam serta empedu merupakan factor yang mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup. Bakteri probiotik yang sudah banyak dikenal adalah kelompok bakteri asam laktat dan merupakan mikroorganisme yang aman bagi pangan (Ramadhanti *et al.*, 2021). Karakteristik BAL yang masam inilah yang dapat menghalau mikroorganisme untuk tumbuh, sehingga Bakteri Asam Laktat ini terkenal memiliki sifat antifungi (Wang, *et al.*, 2021).

Bakteri asam laktat (BAL) mampu menekan pertumbuhan kapang pada roti melalui beberapa mekanisme yang saling melengkapi. BAL memfermentasi karbohidrat menjadi asam organik seperti asam laktat dan asam asetat yang menurunkan pH roti hingga sekitar 3,8–4,5. Kondisi asam ini kurang sesuai untuk pertumbuhan dan sporulasi kapang seperti *Aspergillus* dan *Penicillium* (Axelsson, 2004). BAL juga bersaing dengan kapang dalam memanfaatkan nutrisi, terutama glukosa dan asam amino, sehingga mengurangi kesempatan kapang untuk berkembang biak (Rizzello, *et al.*, 2011). Tidak hanya itu, metabolit yang

dihasilkan *Lactobacillus plantarum*, baik metabolit primer maupun sekunder bekerja secara sinergis untuk menghambat pertumbuhan kapang pathogen.

Metabolit primer adalah senyawa yang dihasilkan selama fase pertumbuhan aktif (fase logaritmik) dan berperan langsung dalam metabolisme dasar sel. Pada *L. plantarum*, metabolit primer utamanya meliputi (Filannino, *et al.*, 2018):

- 1) **Asam laktat** → Asam laktat merupakan produk utama fermentasi karbohidrat oleh *L. plantarum* melalui jalur homofermentatif. Senyawa ini menurunkan pH lingkungan hingga sekitar 3,5–4,5 sehingga menciptakan kondisi asam yang tidak mendukung pertumbuhan mikroorganisme patogen dan pembusuk seperti *E. coli*, Salmonella, dan *Aspergillus niger*. Penurunan pH menyebabkan denaturasi protein membran dan gangguan keseimbangan ion pada mikroba lain (Liu *et al.*, 2022).
- 2) **Eksopolisakarida** (*Exopolysaccharides* / *EPS*) → EPS merupakan polimer gula yang disekresikan ke permukaan luar sel. Secara fisiologis, EPS melindungi *L. plantarum* dari stres lingkungan (seperti perubahan pH atau suhu) dan meningkatkan daya lekat sel pada substrat pangan. Dalam sistem fermentasi, EPS dapat meningkatkan viskositas dan stabilitas produk, serta membentuk penghalang fisik yang menghambat difusi oksigen dan pertumbuhan jamur. EPS kadang dikategorikan sebagai metabolit primer akhir atau sekunder awal, karena pembentukannya sering meningkat pada fase stasioner (Liu *et al.*, 2022).

Metabolit sekunder dihasilkan setelah fase pertumbuhan aktif (fase stasioner) dan umumnya berfungsi sebagai senyawa protektif atau bioaktif. Pada *L. plantarum*, metabolit sekunder meliputi (Filannino, *et al.*, 2018):

- 1) **Peptida Antijamur** (*Antifungal Peptides*) → Peptida antijamur yang dihasilkan *L. plantarum* bersifat amfipatik dan bermuatan positif, sehingga dapat berinteraksi dengan membran sel jamur yang bermuatan negatif. Peptida ini menyebabkan gangguan permeabilitas membran, menghambat sintesis dinding sel jamur, serta menurunkan aktivitas enzim penting seperti dehidrogenase. Aktivitas ini terbukti efektif terhadap jamur pembusuk roti seperti *Aspergillus niger* dan *Penicillium* sp (Filannino, *et al.*, 2018).
- 2) **Hidrogen peroksida** (H_2O_2) → H_2O_2 melainkan dihasilkan sebagai respons fisiologis terhadap stres oksigen atau kompetisi dengan mikroba lain. terutama saat bakteri tumbuh pada kondisi aerob atau mikroaerofilik. Senyawa ini terbentuk melalui aktivitas enzim seperti flavin oksidase dan NADH oksidase, yang mengubah oksigen (O_2) menjadi H_2O_2 sebagai hasil sampingan metabolisme respirasi parsial. Mekanisme dari senyawa ini salah satunya adalah melalui induksi stress oksidatif pada mikroorganisme lain (ROS) (Filannino, *et al.*, 2018).
- 3) **Senyawa volatile** → yaitu molekul berukuran kecil yang mudah menguap dan berkontribusi pada aroma serta efek antimikroba. VOCs yang umum dihasilkan meliputi asam asetat, asetoin, diasetil, etanol, dan aldehid. Mekanisme antijamur diasetil diduga bekerja dengan menginduksi pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS) di dalam sel jamur. Akumulasi ROS ini menyebabkan kerusakan membran sel, sehingga terjadi kebocoran komponen intraseluler dan akhirnya menimbulkan kematian sel jamur (Filannino, *et al.*, 2018).

- 4) **Asam asetat** → Asam asetat dihasilkan melalui jalur heterofermentatif sekunder atau oksidasi etanol. Selain menurunkan pH, asam asetat bersifat lipofilik sehingga dapat menembus membran sel mikroba dan mengganggu gradien proton, menghambat respirasi sel, serta menyebabkan kebocoran ion intraseluler. Kombinasi asam asetat dan asam laktat memberikan efek sinergis dalam penghambatan pertumbuhan jamur dan bakteri Gram-negatif (Filannino, *et al.*, 2018).

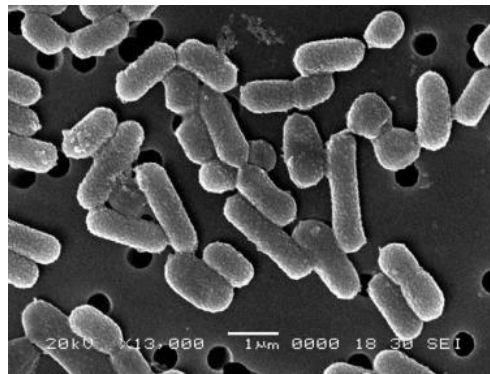
2.3 *Lactobacillus plantarum*

2.3.1 Karakteristik *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum adalah salah satu spesies bakteri asam laktat (BAL) yang paling banyak dipelajari dan digunakan dalam berbagai produk fermentasi pangan. Bakteri ini bersifat fakultatif heterofermentatif, artinya dapat memfermentasi gula menjadi asam laktat melalui jalur homofermentatif maupun menghasilkan metabolit lain melalui jalur heterofermentatif. *Lactobacillus plantarum* berbentuk batang dengan ukuran 0,9-1,2 hingga 1,0-8,0 µm, berbentuk tunggal ataupun berpasangan dalam rantai yang pendek (Arasu *et al.*, 2015). Apabila *Lactobacillus plantarum* berada pada kondisi aerob, ia dapat mengonversi oksigen menjadi peroksida. Sedangkan, pada kondisi anaerob *L. plantarum* mampu melakukan fermentasi dengan mengubah gula menjadi asam laktat atau alkohol dalam kondisi heterofermentative. Perkembangbiakan *Lactobacillus plantarum* dilakukan dengan pembelahan sel identik (Arasu *et al.*, 2015). Klasifikasi *Lactobacillus plantarum* ini menurut (Axelsson, 2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Filum	: Firmicutes
Classis	: Magnoliopsida

Ordo : Lactobacillales
Family : Lactobacillaceae
Genus : Lactobacillus
Species : *Lactobacillus plantarum*



Gambar 2.2 *Lactobacillus plantarum*
(Sumber: Arasu *et al.*, 2015)

L. plantarum memiliki kemampuan beradaptasi yang tinggi, mampu tumbuh pada berbagai substrat, dan tahan terhadap kondisi asam serta osmolaritas tinggi, sehingga digunakan untuk produk fermentasi bahan pangan salah satunya sourdough (Zhao, *et al.*, 2022). BAL juga dapat digunakan sebagai bahan pengawet karena selama proses fermentasi menghasilkan metabolit primer yaitu asam organik, terutama asam laktat dan asam asetat, yang bekerja dengan menurunkan pH lingkungan sehingga menciptakan kondisi yang tidak sesuai untuk pertumbuhan jamur.

2.3.2 Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum memiliki tiga fase pertumbuhan yakni; fase lag, fase log, dan fase stasioner. Hal tersebut sesuai dengan kurva pertumbuhan bakteri pada umumnya (Wang *et al.*, 2021).

Kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dimulai dengan fase lag (adaptasi) pada jam ke-0 sampai jam ke-3. Pada fase ini bakteri melakukan

penyesuaian diri atau adaptasi terhadap lingkungan yang baru. Fase adaptasi berada pada rentang waktu yang singkat dikarenakan media yang digunakan untuk pertumbuhan sama dengan media yang digunakan untuk peremajaan. Menurut (Hidayatulloh dkk., 2019) selama fase lag bakteri tidak hanya semakin bertambah biomasanya, ukuran sel bakteri juga mengalami peningkatan serta terjadi pula perubahan komposisi kimia dari bakteri tersebut.

Fase berikutnya yaitu fase logaritmik (fase pertumbuhan) terjadi mulai jam ke-3 sampai jam ke-24. Pada fase ini, pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat, bakteri memperbanyak diri dengan cepat dan konstan menjadi dua kali populasi sebelumnya. Pada fase ini kebutuhan energi juga meningkat dibandingkan dengan pada fase adaptasi. Pada fase logaritmik hingga awal fase stasioner umumnya dihasilkan senyawa metabolit primer yang diproduksi yaitu asam laktat, asam asetat, dan hydrogen peroksida. Selanjutnya pada jam ke-24 sampai jam ke-48 kurva pertumbuhan relative tetap. Pada fase ini merupakan fase stasioner dimana jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Pada fase stasioner ukuran sel lebih kecil meskipun nutrisi sudah berkurang (Kumar & Shukla., 2020).

Kurva pertumbuhan digunakan untuk menentukan waktu optimal *Lactobacillus plantarum* dalam memproduksi senyawa metabolit yang bersifat antibakteri. Suspensi bakteri semakin keruh dengan bertambahnya waktu inkubasi, hal ini menandakan semakin banyak jumlah bakteri yang tumbuh. Dari hasil pengukuran OD, bakteri *Lactobacillus plantarum* memperlihatkan adanya perbedaan tingkat kepadatan bakteri selama masa inkubasi. Dengan meningkatnya pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* maka meningkat pula nilai OD selama masa inkubasi yang sejalan dengan peningkatan jumlah biomasanya. Meningkatnya

jumlah biomassa akan meningkatkan jumlah senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* (Hidayatulloh, dkk., 2019).

2.3.3 Mekanisme Antifungi *Lactobacillus plantarum*

Mekanisme antifungi *L. plantarum* pada dasarnya bersifat multifaktorial, yaitu kombinasi antara lain;

(1) Penurunan pH Lingkungan. Senyawa antijamur seperti 3-hydroxy fatty acids, phenyllactic acid, dan trans-cinnamic acid, yang memiliki efek sinergis dengan asam organik dalam menghambat pertumbuhan jamur seperti *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Fusarium* dalam beberapa mekanisme spesifik (Russo, *et al.*, 2017).

(2) Akumulasi Metabolit yang Bersifat Toksik bagi Jamur. Beberapa strain *L. plantarum* juga menghasilkan protein (peptida bioaktif), misalnya plantaricin dan protein berukuran sekitar 40 kDa, yang dapat berinteraksi langsung dengan dinding sel atau membran jamur, sehingga menyebabkan kebocoran ion dan kematian sel (Wang *et al.*, 2021).

(3) Kerusakan Langsung pada Struktur Internal Sel Jamur. *L. plantarum* juga menghasilkan asam fenolik seperti asam galat, asam ferulat, dan asam klorogenat, yang diketahui memiliki sifat antifungi dengan cara merusak integritas membran sel jamur dan mengganggu proses metabolisme internal. Pendekatan ganda ini menjadikan *L. plantarum* sangat efektif dalam menghambat berbagai spesies jamur yang sering mencemari bahan pangan, termasuk *Aspergillus flavus* penghasil aflatoksin, *A. niger*, *Penicillium roqueforti*, dan *Rhizopus stolonifer* (Axel, *et al.*, 2016).

Selain fungsi penghambatan jamur, aplikasi *L. plantarum* dalam produk fermentasi sourdough juga memberikan manfaat tambahan, seperti meningkatkan sifat sensorik, memperbaiki tekstur, memperkaya kandungan nutrisi, serta memperpanjang umur simpan produk tanpa perlu ada tambahan bahan pengawet kimia (Lafuente, *et al.*, 2023). Sifat BAL yang aman dikonsumsi (GRAS – *Generally Recognized As Safe*), menyebabkan *L. plantarum* dianggap agen biopreservatif alami yang potensial dalam industri pangan serta salah satu mikroorganisme kunci dalam pengembangan pangan fungsional yang lebih sehat, dan tahan lama (Rizzello, *et al.*, 2011).

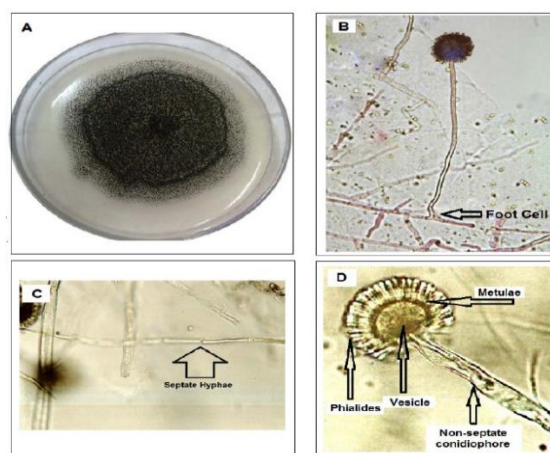
2.4 *Aspergillus niger*

2.4.1 Karakteristik *Aspergillus niger*

Aspergillus merupakan genus kapang kosmopolitan yang banyak ditemukan di lingkungan dan dikenal sebagai salah satu kontaminan utama pada bahan pangan, termasuk roti. Penyebarannya terjadi melalui spora yang mudah terbawa udara, memungkinkan infeksi cepat pada berbagai substrat pangan. Spesies *Aspergillus niger* sering dijumpai pada produk roti, dengan ciri morfologi berupa kepala konidia hitam dan hifa bersekat yang membentuk miselium bercabang. Miselium ini mampu menembus jaringan roti dan memanfaatkan karbohidrat, protein, serta kelembapan sebagai sumber nutrisi, sehingga menyebabkan perubahan tekstur menjadi lembek atau berlendir (Natasia, dkk., 2020).

Morfologi *Aspergillus* sp. ditandai dengan pertumbuhan koloni yang cepat pada media agar, dengan tampilan makroskopis bervariasi tergantung spesies. Koloni umumnya bertekstur granular atau seperti beludru, dengan warna hijau, kuning, coklat hingga hitam. *A. niger* menghasilkan koloni berwarna hitam pekat, *A. flavus* berwarna hijau kekuningan, dan *A. fumigatus* berwarna hijau kebiruan

(Samson, *et al.*, 2014). Secara mikroskopis, *Aspergillus* memiliki struktur hifa bersekat dan hialin, serta konidiofor tegak yang berakhir pada vesikel berbentuk bulat atau oval. Vesikel ditutupi oleh fialid, kadang melalui perantara metula, yang menghasilkan rantai konidia berbentuk bulat hingga oval dan berwarna dari hialin sampai coklat gelap. Susunan konidia ini membentuk struktur khas menyerupai kepala bunga, yang merupakan ciri diagnostik utama genus *Aspergillus* (Samson, *et al.*, 2014).



Gambar 2.3 Struktur *Aspergillus niger*
(sumber: Aboubakr *et al.*, 2013)

Pertumbuhan atau reproduksi *Aspergillus* terjadi melalui dua mekanisme, yaitu aseksual dan seksual. Reproduksi aseksual yang paling umum adalah dengan membentuk konidia, yakni spora kecil yang sangat ringan dan mudah tersebar melalui udara, sehingga memungkinkan kontaminasi pangan terjadi secara cepat. Pada kondisi tertentu, *Aspergillus* juga dapat bereproduksi secara seksual dengan menghasilkan askospora di dalam askus, meskipun hal ini jarang ditemukan pada kasus kontaminasi pangan. Konidia yang dilepaskan ke udara mampu bertahan dalam kondisi lingkungan ekstrem, seperti suhu tinggi atau kadar air rendah, sehingga menjadi ancaman terhadap kualitas pangan dalam jangka waktu lama (Natasia, dkk., 2020).

Beberapa spesies *Aspergillus*, seperti *A. flavus*, *A. niger*, dan *A. ochraceus*, bahkan mampu menghasilkan mikotoksin berbahaya, termasuk aflatoksin dan okratoksin, yang bersifat karsinogenik, hepatotoksik, dan imunotoksik bagi manusia serta hewan (Susilowati & Haryono, 2018). Mekanisme penyebaran spora dari konidiofor *Aspergillus* terutama melalui udara karena ia berukuran mikroskopis, sehingga dapat terbawa oleh arus angin, menempel pada permukaan biji-bijian, tepung, atau adonan, lalu berkecambah ketika kondisi lingkungan mendukung, seperti kelembapan tinggi dan ketersediaan nutrisi. Hal ini menjelaskan mengapa *Aspergillus* sering ditemukan sebagai kontaminan utama pada roti, kue, dan produk berbahan dasar tepung (Pérez-Alvarado *et al.*, 2022).

2.4.2 Kasus Kontaminasi *Aspergillus niger*

Upaya pengendalian kontaminasi *Aspergillus* sp pada bahan pangan salah satunya dilakukan dengan penggunaan bahan kimia sintetis sebagai pengawet. Namun, strategi biopreservasi berbasis mikroorganisme alami dinilai lebih efektif karena meminimalisir penggunaan bahan kimia yang berbahaya bagi kesehatan. Salah satu agen biopreservatif yang banyak diteliti adalah bakteri asam laktat (BAL), khususnya *Lactobacillus plantarum*. Spesies ini dikenal memiliki aktivitas metabolik yang tinggi dan memproduksi beragam metabolit primer dan sekunder yang berperan sebagai antifungi (Liu *et al.*, 2022).

Mekanisme penghambatan *L. plantarum* terhadap *Aspergillus* bersifat multifaktorial. Pertama, bakteri ini menghasilkan berbagai asam organik, terutama asam laktat dan asam asetat, bekerja menurunkan pH adonan sehingga menciptakan kondisi yang tidak menguntungkan bagi perkecambahan spora jamur. Kedua, *L. plantarum* mensekresikan senyawa bioaktif berupa asam fenolat (seperti asam

galat, asam kafeat, dan asam ferulat), asam phenyllactic, serta senyawa turunan aromatik lain yang terbukti mampu merusak struktur membran sel jamur. Ketiga, beberapa strain *L. plantarum* juga memproduksi peptida dan protein antifungi seperti plantaricin yang bekerja dengan mengganggu integritas membran hifa sehingga pertumbuhan jamur terhambat (Axel, *et al.*, 2016).

Hubungan antagonistik ini sangat relevan dalam aplikasi pangan fermentasi, khususnya sourdough. Produk sourdough secara alami sudah mengandung komunitas BAL yang memberi kontribusi pada cita rasa, tekstur, dan umur simpan. Penambahan isolat *L. plantarum* ke dalam adonan sourdough dapat meningkatkan aktivitas antijamur, karena jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan juga lebih besar. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa keberadaan *L. plantarum* dalam sourdough tidak hanya mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan *A. niger*, tetapi juga menurunkan produksi mikotoksin yang biasanya dihasilkan jamur tersebut (Rizzello, *et al.*, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan BAL, khususnya *L. plantarum* dapat menjadi alternatif alami yang efektif untuk meningkatkan keamanan pangan, memperpanjang umur simpan roti, dan sekaligus mengurangi ketergantungan pada pengawet kimia sintetis.

Kontaminasi bahan pangan oleh *Aspergillus* sp. masih menjadi masalah serius karena dapat menurunkan kualitas pangan sekaligus menimbulkan risiko kesehatan melalui produksi mikotoksin. Studi terbaru di India pada tahun 2025 menemukan bahwa biji-bijian yang disimpan di daerah rawan banjir sangat rentan terkontaminasi *Aspergillus flavus* yang mampu menghasilkan aflatoksin (Kumari *et al.*, 2025). Penelitian di Irak juga menunjukkan bahwa serangga penyimpanan

berperan sebagai vektor utama penyebaran *Aspergillus niger* dan spesies toksigenik lainnya, di mana semua isolat terbukti menghasilkan aflatoksin meskipun pada kadar rendah. Selain itu, *Aspergillus fumigatus* kini menjadi perhatian baru karena ditemukan dalam rantai produksi makanan dengan beberapa strain yang resisten terhadap azole, yang meningkatkan risiko baik terhadap konsumen maupun pekerja industri pangan (Jaber, *et al.*, 2025). Bahkan meta-analisis global menunjukkan bahwa produk hewani, seperti daging dan olahannya dapat mengandung aflatoksin akibat kontaminasi dari pakan, sehingga memperluas risiko paparan pada manusia.

Aspergillus niger diketahui mampu menghasilkan sejumlah mikotoksin berbahaya pada produk pangan, termasuk okratoksin A (OTA), malformins, dan naphtho- γ -pyrones. OTA merupakan mikotoksin yang sangat berisiko karena dapat merusak organ ginjal dan hati, sedangkan malformins adalah senyawa siklik yang dapat mengganggu pembelahan sel dan menyebabkan kelainan pada embrio. Naphtho- γ -pyrones juga bersifat toksik dan berperan dalam meningkatkan stres oksidatif pada sel. Walaupun tingkat toksisitas *A. niger* tidak setinggi *Aspergillus flavus* atau *Aspergillus fumigatus*, jamur ini tetap dapat menurunkan kualitas dan nilai ekonomi pangan serta menimbulkan risiko kesehatan serius, seperti kanker hati, gangguan sistem imun, dan infeksi oportunistik pada individu dengan daya tahan tubuh rendah (Balan *et al.*, 2024). Oleh karena itu, diperlukan strategi untuk menghambat pertumbuhan jamur pada bahan pangan. Salah satu cara yang efektif adalah dengan menambahkan isolat *Lactobacillus plantarum*, yang menghasilkan asam sehingga dapat menekan perkembangan *A. niger*.

2.5 Antifungi

2.5.1 Deskripsi Umum

Antifungi adalah agen biologis atau kimia yang mampu menghambat pertumbuhan maupun membunuh jamur patogen dan kontaminan. Dalam bidang kedokteran, antifungi digunakan untuk mengatasi infeksi jamur oportunistik, sedangkan dalam industri pangan antifungi berfungsi sebagai pengawet alami untuk mencegah kerusakan produk akibat kontaminasi kapang. Antifungi dapat bersumber dari senyawa sintetik maupun alami, termasuk metabolit sekunder dari bakteri asam laktat (BAL), tanaman, maupun mikroorganisme lain (Gerez *et al.*, 2013).

Antifungi memiliki berbagai kandungan bioaktif yang berperan dalam menghambat maupun membunuh jamur patogen. Salah satu kelompok senyawa utama adalah asam organik, seperti asam laktat dan asam asetat, yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) dalam fermentasi pangan, misalnya sourdough. Senyawa ini mampu menurunkan pH adonan dan menciptakan kondisi yang tidak sesuai untuk perkecambahan spora jamur. Selain itu, terdapat asam fenolat dan asam phenyllactic yang bekerja dengan merusak dinding sel serta mengganggu metabolisme jamur. Kandungan penting lain adalah peptida bioaktif, misalnya bakteriosin plantaricin dari *Lactobacillus plantarum*, yang dapat membentuk pori pada membran sel jamur sehingga menyebabkan kebocoran isi sel (Liu *et al.*, 2022).

2.5.2 Mekanisme Kerja

Mekanisme kerja antifungi umumnya dibagi menjadi tiga kategori utama. Pertama, antifungi dapat menargetkan dinding sel jamur dengan menghambat sintesis komponen struktural seperti kitin dan β -glukan. Kedua, antifungi dapat menyerang membran sel, khususnya dengan mengganggu ergosterol, sterol utama

pada membran jamur, sehingga terjadi kebocoran sitoplasma. Ketiga, antifungi dapat memengaruhi proses metabolisme internal, termasuk menghambat sintesis protein, DNA, maupun respirasi mitokondria. Keempat, senyawa antifungi juga dapat menghambat pertumbuhan kapang patogen melalui kompetisi nutrisi, di mana mikroorganisme penghasil antifungi merebut atau memanfaatkan sumber nutrisi yang dibutuhkan kapang. Akibatnya, kapang patogen mengalami kekurangan nutrisi esensial, sehingga pertumbuhannya terhambat. (Liu *et al.*, 2022).

Di samping itu, beberapa BAL juga menghasilkan senyawa volatil organik seperti etanol, aseton, dan diasetil, yang diketahui dapat menekan pertumbuhan spora dan hifa. Dalam bidang medis, dikenal pula antifungi sintetis yang bekerja secara spesifik pada struktur sel jamur, misalnya azol yang menghambat biosintesis ergosterol, polien yang berikatan dengan ergosterol dan membentuk pori membran, echinocandin yang menghambat sintesis β -glukan pada dinding sel, serta allylamine yang mengganggu jalur biosintesis sterol (Russo, *et al.*, 2017).

Berbagai kandungan ini, baik alami maupun sintetis, berkontribusi besar dalam pengendalian jamur pada pangan maupun kesehatan, serta menjadi dasar pengembangan agen antifungi baru yang lebih efektif dan aman (Russo, *et al.*, 2017; Perfect, 2017). Peran senyawa antifungi pada industri pangan adalah terciptanya bahan alami sebagai pengawet makanan sehingga lebih aman untuk dikonsumsi dibandingkan pengawet sintetis.

Bakteri asam laktat, misalnya *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, dan *L. paracasei*, menghasilkan berbagai metabolit bioaktif, seperti asam laktat, asam asetat, fenilaktat, hidrogen peroksida, dan reuterin. Senyawa ini mampu menekan pertumbuhan kapang penyebab kerusakan roti, seperti *Aspergillus* dan *Penicillium*.

Lafuente, *et al.*, (2023) melaporkan bahwa sourdough yang difermentasi dengan BAL dapat meningkatkan umur simpan roti dengan cara menghambat pertumbuhan jamur kontaminan. Pada bidang medis, antifungi sintetik masih menjadi pilihan utama, misalnya golongan azol (*ketoconazole*, *itraconazole*), polien (*amphotericin B*), *echinocandin* (*caspofungin*), dan *allylamine* (*terbinafine*). Masing-masing golongan memiliki target berbeda, namun sering menghadapi masalah resistensi jamur serta efek samping pada pasien. Oleh karena itu, penelitian mengenai agen antifungi baru, khususnya yang berbasis metabolit alami, menjadi salah satu fokus penting dalam dekade terakhir (Perfect, 2017). Dengan demikian, antifungi memegang peran penting tidak hanya dalam bidang kedokteran, tetapi juga dalam pengawetan pangan dan peningkatan ketahanan pangan.

2.6 Metode Uji Antifungi

Uji antijamur merupakan salah satu metode penting dalam penelitian mikrobiologi, bioteknologi, kedokteran, maupun pangan, yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa, ekstrak tumbuhan, atau mikroorganisme tertentu dalam menghambat pertumbuhan jamur atau bahkan membunuhnya. Prinsip dasar dari pengujian ini adalah menilai interaksi antara agen antijamur dengan sel jamur target, baik dalam bentuk penghambatan pembentukan spora, penekanan pertumbuhan miselium, gangguan metabolisme, maupun kerusakan struktur sel jamur. Pengujian antijamur tidak hanya berperan penting dalam pengembangan obat-obatan untuk penyakit infeksi jamur pada manusia, tetapi juga dalam bidang industri pangan untuk mencegah kerusakan makanan akibat kontaminasi kapang (Rautemaa-Richardson & Richardson, 2017).

Secara umum, metode pengujian antijamur dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori utama, yaitu uji *in vitro* dan uji *in vivo*. Uji *in vitro* dilakukan pada laboratorium menggunakan media pertumbuhan mikrobiologis yang terkontrol, sehingga hasilnya lebih terstandarisasi dan mudah direplikasi. Uji ini cocok untuk mengevaluasi efektivitas antijamur pada tahap awal. Sementara itu, uji *in vivo* dilakukan dengan menggunakan hewan percobaan atau produk pangan nyata untuk menilai efektivitas agen antijamur dalam kondisi yang lebih kompleks dan menyerupai keadaan alami (Munira & Nasir, 2023).

a. Metode Uji In Vitro Berbasis Difusi

Metode difusi adalah teknik klasik yang umum digunakan untuk skrining awal aktivitas antijamur. Prinsipnya melibatkan penempatan agen antijamur pada media agar yang telah diinokulasi dengan jamur target, sehingga senyawa antifungi dapat terserap ke media baik secara langsung maupun melalui media perantara, seperti *paper disk*. Kemudian zona hambat diamati melalui penyerapan kandungan agen antijamur.

- *Agar Well Diffusion Method*: mikroba diinokulasikan di permukaan media agar, kemudian agen antijamur diteteskan pada sumur kecil (*well*) yang dilubangi dengan cork borer. Aktivitas antijamur ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumur.
- *Disk Diffusion* (Kirby-Bauer Method): cakram kertas steril yang telah direndam pada agen antijamur diletakkan di atas permukaan agar. Zona hambat yang terbentuk diukur sebagai indikator potensi antijamur.

Metode ini sederhana, murah, dan praktis, sehingga sangat sesuai untuk skrining awal senyawa bioaktif. Namun, hasilnya lebih bersifat

kualitatif atau semi-kuantitatif karena ukuran zona hambat tidak hanya dipengaruhi oleh aktivitas antijamur, tetapi juga oleh difusibilitas senyawa dalam medium (Balouiri, *et al.*, 2016).

b. Metode Uji In Vitro Berbasis Dilusi

Metode dilusi bertujuan untuk menentukan konsentrasi terendah dari suatu agen antijamur yang mampu menghambat atau membunuh jamur. Prinsipnya adalah mencampurkan ekstrak atau senyawa antifungi ke dalam agar cair sebelum dituangkan, sehingga senyawa tersebut tersebar merata dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan jamur dapat diamati secara konsisten. Uji ini dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

- Makrodilusi (*Broth Macro-dilution*): dilakukan dengan tabung reaksi yang berisi media cair dan berbagai konsentrasi agen antijamur, kemudian diinokulasi dengan suspensi jamur. Pertumbuhan jamur diamati secara visual melalui kekeruhan medium.
- Mikrodilusi (*Broth Micro-dilution*): dilakukan dengan menggunakan microplate (biasanya 96-well plate) yang lebih efisien, membutuhkan volume kecil, dan memungkinkan pembacaan optik menggunakan spektrofotometer (Balouiri, *et al.*, 2016).

c. Uji Antijamur pada Produk Pangan (Challenge Test)

Untuk aplikasi di bidang pangan, uji antijamur dapat dilakukan langsung pada produk, misalnya dengan menyimpan roti, biji-bijian, atau buah yang diinokulasi dengan jamur target, lalu diberi perlakuan agen antifungi. Pertumbuhan jamur diamati secara visual selama periode penyimpanan. Metode ini lebih realistis karena memperlihatkan efektivitas

agen antifungi dalam kondisi lingkungan pangan yang sebenarnya, meskipun sulit dikendalikan dibandingkan uji *in vitro* (Gerez, *et al.*, 2013).

Berdasarkan ketiga metode tersebut, dapat ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi terendah agen antijamur yang mampu menghambat pertumbuhan jamur, dan Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM), yaitu konsentrasi terendah yang mampu membunuh jamur secara total. Uji mikrodilusi kini dianggap sebagai metode standar internasional untuk pengujian antifungi, sesuai rekomendasi Clinical and Laboratory Standards Institute.

2.6.1 Kategori Daya Hambat Antifungi

Kategori daya hambat merupakan klasifikasi yang digunakan untuk menilai tingkat efektivitas suatu senyawa antimikroba atau antifungi dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme target. Pengkategorian ini biasanya didasarkan pada diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumber senyawa uji pada media agar. Semakin besar diameter zona hambat, semakin kuat aktivitas antimikroba senyawa tersebut. Penilaian kategori daya hambat penting dilakukan untuk membedakan aktivitas lemah, sedang, dan kuat dari suatu agen penghambat, serta menjadi acuan dalam menentukan potensi senyawa sebagai kandidat biopreservatif atau antimikroba alami dalam aplikasi pangan maupun farmasi (Balouiri *et al.*, 2016). Berikut ini merupakan tabel acuan yang digunakan untuk pengukuran daya hambat secara kualitatif:

Tabel 2.1 Kategori Daya Hambat
menurut Jorgensen & Ferraro, (2009)

Daya Hambat	Kategori
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

2.7 Uji Daya Hambat

Kemampuan suatu senyawa aktif untuk menghambat pertumbuhan jamur dapat diketahui melalui keberadaan zona hambat di sekitar lubang. Hal ini menunjukkan bahwa kapang yang diuji sensitif terhadap senyawa aktif tersebut (Magvirah *et al.*, 2019). Ukuran zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti sensitivitas organisme, pH, jenis kapang, bahan antifungi yang digunakan, medium kultur, kondisi inkubasi, serta kecepatan difusi agar. Kecepatan difusi agar sendiri dipengaruhi oleh konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi, dan durasi inkubasi (Siregar *et al.*, 2012).

Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal, inkubasi biasanya dilakukan pada suhu 25-30°C. Suhu yang lebih rendah dari 25°C dapat menyebabkan diameter zona hambat lebih besar, terutama jika plate ditumpuk lebih dari dua lapis selama inkubasi, di mana plate di tengah mungkin memiliki suhu di bawah 25°C. Sebaliknya, suhu inkubasi yang lebih tinggi dari 30°C dapat mengurangi efisiensi difusi ekstrak. Selain itu, ketebalan media agar-agar juga berpengaruh terhadap diameter zona hambat. Ketebalan agar-agar yang ideal adalah sekitar 4 mm; jika kurang dari 4 mm, difusi ekstrak akan lebih cepat, sedangkan jika lebih tebal dari 4 mm, difusi ekstrak akan lebih lambat (Yusriyani *et al.*, 2023). Perhitungan zona hambat fungi dapat dihitung dengan rumus pada keterangan **Gambar 2.4** di bawah ini. Aktivitas antijamur dinyatakan dalam dua parameter, yaitu laju inhibisi (IR) dan penundaan pembentukan spora (SD), dan diklasifikasikan menurut **Tabel 2.2**.

Tabel 2.2 Klasifikasi aktivitas antifungi berdasarkan IR dan SD

IR (%)	SD (Days)	Notation	Description
$IR \leq 25\%$	0 day	(-)	No inhibition
$25\% < IR \leq 50\%$	1–2 days	(+)	Low inhibition
$50\% < IR \leq 75\%$	3–4 days	(++)	Moderate inhibition
$IR > 75\% \geq$	5 days	(+++)	Significant inhibition

$$IR (\%) = \frac{D \text{ control} - D \text{ sampel}}{D \text{ control}}$$

$$SD (\text{days}) = SF_{\text{control}} - SF_{\text{sample}} \text{ (Nguyen, et al., 2025)}$$

2.8 Konsentrasi Pengujian

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa penggunaan sourdough maupun metabolit yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* memiliki potensi antifungi yang signifikan terhadap kapang perusak pangan, termasuk *Aspergillus* sp. Rizzello, et al. (2011) melaporkan bahwa penambahan sourdough hasil fermentasi gandum sebanyak 4% ke dalam adonan roti mampu memperpanjang masa bebas kontaminasi jamur, dengan efektivitas yang sebanding dengan penambahan 0,3% kalsium propionat sebagai pengawet sintetis. Hasil serupa dilaporkan oleh Black, et al. (2013), di mana penggunaan sourdough sebesar 20% (w/w) menghasilkan senyawa bioaktif berupa *hydroxy fatty acids* yang terbukti mampu memperlambat pertumbuhan *Aspergillus* sp. Hernández-Figueroa, et al. (2024) menggunakan ekstrak aqueous sourdough (AE) dan menemukan bahwa konsentrasi $\geq 15\%$ efektif dalam menghambat pertumbuhan *Aspergillus parasiticus*, meskipun efek penghambatan sudah terlihat pada konsentrasi 5%. Dapat disimpulkan bahwa efektivitas antifungi sourdough sangat bergantung pada konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi 5–25% merupakan kisaran optimal yang seimbang antara daya hambat terhadap *Aspergillus* sp., sementara konsentrasi yang

lebih rendah menunjukkan efek parsial dan konsentrasi lebih tinggi cenderung meningkatkan efektivitas namun berpotensi mengubah kualitas sensori pangan.

Berbagai penelitian telah melaporkan efektivitas *cell-free supernatant* (CFS) *Lactobacillus plantarum* sebagai agen antifungi terhadap *Aspergillus* sp. dan kapang pangan lain. Penelitian oleh Lavermicocca, *et al.* (2000) menunjukkan bahwa CFS *L. plantarum* 21B mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger*, *Fusarium*, dan *Penicillium* dengan konsentrasi efektif mulai dari $\geq 10\%$. Aktivitas penghambatan meningkat seiring kenaikan konsentrasi, penelitian ini juga berhasil mengidentifikasi phenyllactic acid (PLA) sebagai senyawa antifungi utama yang dihasilkan BAL. Temuan ini diperkuat oleh Arasu, *et al.*, (2015) yang melaporkan bahwa CFS *L. plantarum* efektif menghambat pertumbuhan beberapa spesies *Aspergillus* pada rentang konsentrasi 10–25% (v/v) dengan metode difusi sumuran, di mana zona hambat semakin luas pada konsentrasi yang lebih tinggi. Selanjutnya, Sadeghi, *et al.* (2019) melaporkan bahwa kadar hambat minimum (MIC) CFS terhadap *A. niger* berada pada 20% (v/v), sementara pada konsentrasi $< 10\%$ masih terlihat pertumbuhan jamur secara parsial. Secara keseluruhan, dapat disimpulkan bahwa CFS *L. plantarum* memiliki potensi kuat sebagai agen antifungi, dengan kisaran konsentrasi antara 10–25% (v/v). Mengacu dari penelitian tersebut, dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah 10%, 15%, 20%, serta 25%.

2.9 CFS (*Cell Free Supernatant*)

Supernatan bebas sel (Cell-Free Supernatant/CFS) diperoleh dari hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum* melalui proses sentrifugasi dengan tujuan untuk memisahkan metabolit ekstraseluler dari sel bakteri (Yu *et al.*, 2021). Supernatan berupa cairan bening yang terdapat di atas microtube, sedangkan

endapan yang berwarna keruh tersebut merupakan pellet. Supernatan berwarna bening dan berada di permukaan karena ia berisi metabolit terlarut tanpa partikel seluler serta memiliki berat molekul lebih kecil. Penggunaan CFS bertujuan untuk mengamati aktivitas antifungi dari metabolit yang dihasilkan oleh bakteri tanpa pengaruh langsung dari selnya, sehingga hasil yang diperoleh lebih spesifik terhadap senyawa bioaktif yang dihasilkan (Munira & Nasir, 2023).

CFS ini mengandung berbagai metabolit primer dan sekunder yang dihasilkan oleh *L. plantarum* selama fermentasi, seperti asam organik (laktat, asetat, fenilaktat), hidrogen peroksida, reuterin, peptida antimikroba, dan bakteriosin. Produksi metabolit antijamur berlangsung paling optimal ketika *Lactobacillus plantarum* berada pada fase pertumbuhan log hingga memasuki fase stasioner. Oleh karena itu, sebelum melakukan pemanenan CFS, terlebih dahulu dibuat kurva pertumbuhan dengan melakukan pengukuran kepadatan sel pada interval waktu tertentu. Hasil kurva tersebut digunakan untuk menentukan waktu inkubasi yang tepat dalam pengambilan CFS. Jika *L. plantarum* mencapai fase log–stasioner pada rentang 8–16 jam, maka pengambilan kultur dilakukan pada rentang waktu tersebut untuk kemudian disentrifugasi (Sharah *et al.*, 2015).

Metabolit-metabolit ini berperan dalam menurunkan pH, merusak integritas membran mikroba, dan bersaing dalam perebutan nutrisi, sehingga efektif menghambat pertumbuhan kapang seperti *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Fusarium*, serta bakteri patogen seperti *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Listeria monocytogenes* (Hidayatulloh dkk., 2019). Dengan demikian, CFS dari *L. plantarum* tidak hanya berfungsi sebagai agen antimikroba, tetapi juga memiliki

potensi sebagai biopreservatif alami untuk menjaga kualitas pangan, menunda pembusukan, dan mencegah kontaminasi mikroba pada bahan makanan.

CFS (*Cell-Free Supernatant*) dari *Lactobacillus plantarum* diperoleh dengan cara mengkulturkan bakteri dalam media cair hingga mencapai fase logaritmik atau awal stasioner. Kemudian kultur tersebut disentrifugasi pada kecepatan 8.000–10.000 rpm selama 10–15 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan sel bakteri dari metabolit yang dihasilkan. Kecepatan sentrifugasi yang optimal digunakan untuk memastikan pemisahan sel tanpa merusak metabolit aktif; jika rpm terlalu rendah, pemisahan sel tidak sempurna sehingga supernatan masih tercemar sel hidup, sedangkan jika terlalu tinggi, metabolit sensitif dapat rusak dan efektivitas CFS menurun. Supernatan jernih yang diperoleh diambil sebagai CFS karena mengandung metabolit bioaktif, seperti asam organik, bakteriosin, dan hidrogen peroksida, yang berperan sebagai agen antimikroba dan antifungi, sementara pellet sel bakteri dibuang (Arasu., *et al.*, 2013).

2.10 Media Selektif

2.10.1 Media Potato Dextrose (Agar & Broth)

Media PDA (Potato Dextrose Agar) dan PDB (Potato Dextrose Broth) merupakan media yang digunakan secara khusus untuk pertumbuhan jamur di laboratorium karena memiliki pH rendah (sekitar 4,5–5,6) yang menghambat pertumbuhan bakteri yang umumnya membutuhkan kondisi netral ($\text{pH} \pm 7$), dengan suhu optimum pertumbuhan jamur berkisar antara 25–30°C. Komposisi standar media PDA per liter terdiri atas infus kentang yang setara dengan ± 200 g kentang (atau ekstrak kentang 4 g), dextrose 20 g, agar 15 g, dan air suling hingga 1.000 mL dengan pH akhir $5,6 \pm 0,2$. Infus kentang berfungsi sebagai sumber nutrisi

kompleks berupa pati, mineral, dan vitamin yang mendukung pertumbuhan jamur, sedangkan dextrose menyediakan sumber karbon sederhana yang mudah dimetabolisme melalui jalur glikolisis untuk mendukung pertumbuhan miselium dan perkecambahan spora. Agar berperan sebagai pematat yang memungkinkan pengamatan morfologi koloni jamur secara jelas. pH yang relatif asam menjadikan PDA kurang mendukung pertumbuhan bakteri namun ideal bagi jamur, sehingga media ini dianggap khusus untuk menumbuhkan fungi (Zhang *et al.*, 2019).

Media PDB memiliki komposisi yang sama dengan PDA, tetapi tidak mengandung agar sebagai pematat (Atlas, 2010). Mekanisme kerja media ini didasarkan pada keseimbangan nutrisinya, di mana ekstrak kentang menyediakan komponen untuk pertumbuhan hifa dan pembentukan spora, sedangkan glukosa mempercepat fase pertumbuhan logaritmik. Karena berbentuk cair, PDB memungkinkan jamur tumbuh dalam bentuk miselium terendam maupun biofilm, sehingga sering digunakan untuk penelitian produksi enzim, biomassa, dan metabolit sekunder seperti senyawa antijamur. Oleh karena itu, PDB banyak diaplikasikan dalam kultur jamur filamentous seperti *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., maupun khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae*, baik untuk isolasi, perbanyakan kultur, maupun uji bioaktivitas (Kumar & Shukla, 2020).

2.10.2 Media de Man, Rogosa, Sharpe (MRS Agar & Broth)

Media MRS (de Man, Rogosa, and Sharpe) merupakan media selektif yang diformulasikan secara khusus untuk menumbuhkan dan mengisolasi bakteri asam laktat (BAL), terutama genus *Lactobacillus*. Komposisi standar per liter meliputi glukosa 20 g sebagai sumber karbon utama, pepton 10 g dan ekstrak daging 10 g sebagai sumber nitrogen dan faktor pertumbuhan, ekstrak ragi 5 g sebagai sumber

vitamin B kompleks, sodium asetat 5 g dan ammonium sitrat 2 g sebagai agen penghambat bakteri lain terutama Gram-negatif, K_2HPO_4 2 g sebagai buffer, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2 g dan $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0,05 g sebagai kofaktor enzim, serta Tween 80 (1 mL) sebagai sumber asam lemak esensial. Media MRS agar dan MRS broth memiliki komposisi yang hampir sama, namun MRS agar mengandung tambahan 15 g agar sebagai agen pematat, dengan pH akhir sekitar 6,2.

Mekanisme selektivitas MRS bekerja melalui kombinasi beberapa faktor, yaitu kondisi pH sedikit asam yang mendukung pertumbuhan BAL tetapi menghambat banyak bakteri netrofilik, adanya sodium asetat dan sitrat sebagai inhibitor bakteri non-BAL, serta kandungan glukosa tinggi yang difermentasi BAL menjadi asam laktat sehingga menurunkan pH dan semakin menghambat mikroba pesaing. Selain itu, keberadaan ion Mn^{2+} dan Mg^{2+} memperkuat aktivitas enzim glikolisis, sementara Tween 80 menyediakan asam lemak esensial yang penting bagi pertumbuhan BAL. Oleh karena itu, media ini efektif mendukung pertumbuhan BAL sekaligus menghambat bakteri kontaminan, sehingga banyak digunakan dalam penelitian maupun industri fermentasi pangan (Axelsson, 2004).

2.11 Pemanfaatan Bakteri dalam Prespektif Islam

Islam memandang setiap ciptaan Allah memiliki fungsi dan manfaat yang dapat diambil hikmahnya oleh manusia. Mikroorganisme seperti bakteri, yang pada pandangan umum sering dianggap penyebab penyakit, sesungguhnya merupakan bagian dari ciptaan Allah yang memiliki nilai dan peran penting dalam kehidupan. Kajian tentang mikroorganisme ini tercantum dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 26 yang berbunyi:

﴿ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّ الْحَقَّ مِنْ رَبِّهِمْ ﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya”

Kata “*famaa fauqahaa*” dalam surah tersebut memiliki arti seekor nyamuk ini ditafsirkan oleh beberapa ilmuwan sebagai makhluk yang kecil yang dikira lemah, seperti nyamuk, semut, dll. Orang-orang fasik menganggap hewan tersebut tidak berguna, namun dengan adanya ayat ini, Allah menegaskan bahwa hewan yang acap kali kita remehkan tersebut, banyak menyimpan hikmah serta pelajaran bagi manusia (Shihab, 2012). Mikroorganisme ialah makhluk hidup yang berukuran sangat kecil yang berperan penting dalam kehidupan manusia serta menjadi objek kajian utama dalam bidang mikrobiologi. Selama ini, sebagian besar masyarakat beranggapan bahwa mikroorganisme selalu bersifat merugikan karena dikaitkan dengan penyebab penyakit dan pembusukan makanan. Padahal, tidak semua mikroorganisme berdampak negatif; banyak diantaranya justru memberikan manfaat besar bagi kehidupan, salah satu contohnya adalah Bakteri Asam Laktat.

BAL adalah kelompok bakteri yang berperan penting dalam proses fermentasi pangan. Kehadiran BAL sangat membantu manusia dalam mengembangkan teknologi pangan modern, karena kemampuannya memperbaiki cita rasa, tekstur, serta memperpanjang masa simpan produk. Dengan demikian, mikroorganisme seperti BAL tidak hanya bernilai ilmiah, tetapi juga memberikan kontribusi nyata dalam meningkatkan kualitas dan keberlanjutan pangan.

Penelitian Liu *et al.* (2022) menunjukkan bahwa pada bidang bakteri asam laktat (BAL) berfungsi menghambat pertumbuhan jamur dan mikroba patogen pada

roti, sehingga dapat memperpanjang masa simpan tanpa penggunaan bahan kimia berbahaya. Pemanfaatan BAL ini mencerminkan penerapan prinsip *halalan thayyiban* yang selaras dengan konsep keamanan pangan. Konsep keamanan pangan dijelaskan dalam Al-Qur'an surah An-Nahl ayat 114 yang berbunyi: sebagaimana dijelaskan dalam Surah An-Nahl ayat 114, yang berbunyi:

فَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاشْكُرُوا نِعْمَتَ اللَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ
تَعْبُدُونَ ﴿١١٤﴾

Artinya: Makanlah sebagian apa yang telah Allah anugerahkan kepadamu sebagai (rezeki) yang halal lagi baik dan syukurilah nikmat Allah jika kamu hanya menyembah kepada-Nya.

Ayat ini berisi perintah Allah swt bagi umat Islam untuk mengonsumsi makanan yang halal dan baik (*halalan thayyiban*) dari rezeki yang diberikan-Nya. Makanan yang halal berarti makanan yang diperbolehkan menurut syariat Islam, sedangkan makanan yang baik mencakup makanan yang aman, bergizi, bersih, dan menyehatkan berdasarkan kaidah ilmu kesehatan. Dengan demikian, ketika makanan tersebut dikonsumsi, tidak akan menimbulkan dampak negatif bagi tubuh (Shihab, 2012). Hal tersebut juga dijelaskan pada hadits Nabi Muhammad SAW yang berbunyi:

سَمِعْتُ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ مَا مَلَأَ آدَمِيَّ وَعَاءٌ شَرًّا مِنْ بَطْنٍ
حَسْبُ الْآدَمِيِّ لُقِيمَاتٌ يُقْمَنَ صُلْبُهُ فَإِنْ غَلَبَتْ الْآدَمِيَّ نَفْسُهُ فَثُلُثٌ لِلطَّعَامِ وَثُلُثٌ
لِلشَّرَابِ وَثُلُثٌ لِلنَّفْسِ

Artinya: "Aku mendengar Rasulullah ﷺ bersabda, "Tidaklah anak Adam memenuhi tempat yang lebih buruk daripada perutnya, ukuran bagi (perut) anak Adam adalah beberapa suapan yang hanya dapat menegakkan tulang punggungnya. Jika jiwanya menguasai dirinya, maka sepertiga untuk

makanan, sepertiga untuk minum dan sepertiga untuk bernafas." (HR. At-Tirmidzi dan Ibnu Majah).

Hadits Nabi ﷺ ini menjelaskan konsep yang berkesinambungan dengan An-Nahl:114, yakni menegaskan pembagian perut yakni sepertiga untuk makanan, sepertiga untuk minuman, dan sepertiga untuk napas. Rasulullah tidak hanya mengajarkan pengendalian diri dalam makan, tetapi juga menekankan pentingnya menjaga kualitas makanan yang dikonsumsi. Pesan ini sejalan dengan konsep *halalan thayyiban* dalam Islam yang mengajarkan agar makanan tidak hanya halal secara hukum syariat, tetapi juga aman dan baik bagi kesehatan. Seperti dijelaskan oleh Ali *et al*, (2023), yakni berisi perintah Allah untuk makan tidak berdiri sendiri, melainkan harus diiringi perintah untuk memilih makanan yang baik. Dengan demikian, penggunaan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen biopreservatif untuk mencegah kontaminasi jamur pada roti mencerminkan penerapan prinsip *halalan thayyiban*, yaitu upaya menghadirkan pangan yang halal, aman, dan menyehatkan.

Konsep keamanan pangan pada penelitian ini mengacu pada makanan yang dikonsumsi harus bebas dari kontaminasi mikroorganisme berbahaya, termasuk jamur penyebab kerusakan seperti *Aspergillus* sp. Dalam konteks penelitian ini, penerapan prinsip *halalan thayyiban* dilakukan melalui upaya menghasilkan roti yang memiliki kualitas baik dan terjaga. Kualitas tersebut dicapai dengan menciptakan produk pangan yang sesuai dengan ketentuan syariat Islam (Ali *et al.*, 2023), dan bermanfaat bagi kesehatan, melalui penambahan agen antifungi alami yaitu *Lactobacillus plantarum* (Oleinikova *et al*, 2025). Berdasarkan penelitian Liu *et al.* (2022), penggunaan Bakteri Asam Laktat sebagai agen pengawet alami menunjukkan penerapan prinsip keamanan pangan, karena mikroba ini mampu

menghambat pertumbuhan jamur seperti *Aspergillus* dan *Penicillium* tanpa perlu bahan kimia sintetis yang berisiko bagi tubuh.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menghasilkan data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa tingkatan daya hambat, sedangkan data kuantitatif berupa diameter zona hambat, presentase daya hambat, nilai KHM, dan nilai KFM. Penelitian ini menguji efektivitas kandungan antifungi pada setiap konsentrasi sourdough dengan penambahan metabolit sekunder *Lactobacillus plantarum*.

Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi Perlakuan

Kode	Perlakuan + Dosis
C10S20	CFS 10% + Sourdough 20%
C15S15	CFS 15% + Sourdough 15%
C20S10	CFS 20% + Sourdough 10%
C25S5	CFS 25% + Sourdough 5%
Kontrol Positif	Ketokonazole
Kontrol Negatif	Aquades steril

Penelitian ini mengambil 6 perlakuan yakni konsentrasi dari sourdough serta *Lactobacillus plantarum* yang telah di sentrifuse (CFS) dengan kode C10S20, C15S15, C20S10, C25S5, kontrol positif berupa ketokonazole dan kontrol negatif berupa aquades steril. Ulangan yang digunakan pada penelitian ini adalah empat kali ulangan yang dihitung berdasarkan rumus Federer, yakni:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t = kelompok perlakuan

n = kelompok pengulangan

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan bulan April 2026. Pembuatan kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*, uji zona hambat, uji KHM dan uji KBM dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu konsentrasi kombinasi isolat sourdough dengan CFS *Lactobacillus plantarum*.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini meliputi diameter zona hambat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang dilihat dari konsentrasi yang mulai membening, Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM) yang dilihat dari jumlah koloni *Aspergillus niger* pada media agar.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dari penelitian ini yaitu variabel yang dikendalikan dalam keadaan yang sama antara lain waktu inkubasi, media yang digunakan, dan volume media yang digunakan.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah jar kaca, panci, sendok takar, tabung reaksi, sentrifuse, mikrotube, rak tabung reaksi, mikropipet, microplate 96 well, jarum ose, bunsen, korek api, vortex, Laminar Air Flow (LAF), tip, inkubator, autoklaf sterilisasi, autoklaf destruksi, lemari pendingin, kertas label, pipet tetes,

timbangan analitik, incubator, beaker glass, gelas ukur, batang spreader, sendok, hot plate, stirrer, cawan petri, kertas bungkus, korek api, .

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini antara lain: tepung, air, isolat bakteri *Lactobacillus plantarum*, aquades steril, spirtus, NaCl 0,9%, 0,05% tween 80, kalsium karbonat (CaCO_3), barium klorida (BaCl_2), asam sulfat (H_2SO_4), alkohol 70%, alumunium foil, wrap, kantong plastik, kertas label, kapas, tissue, media PDA (Potato Dextrose Agar), media PDB (Potato Dextrose Broth), media MRS Agar, media MRS Broth, lateks, masker, plastik anti leleh 3 kg, spidol, plastik penutup, dan karet.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang hendak digunakan dan tahan panas disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas disterilkan menggunakan alkohol 70%, semua kegiatan dilakukan di LAF.

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Media de Man Rogosa and Sharpe Agar (MRSA)

Sebanyak 68,2 gram serbuk MRSA dan 10 gram CaCO_3 ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 1000 mL akuades di dalam erlenmeyer. Penambahan CaCO_3 berfungsi sebagai penetral pH media agar tidak terlalu asam akibat akumulasi asam laktat selama pertumbuhan BAL, sekaligus memudahkan deteksi koloni melalui terbentuknya zona bening di sekitar koloni penghasil asam. Larutan kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil, dihomogenkan di atas hot plate sambil diaduk hingga mendidih dan seluruh serbuk larut sempurna (Atlas, 2010).

3.5.2.2 Media MRSB

Sebanyak 2 gram serbuk MRSB ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades di dalam erlenmeyer. Larutan ditutup menggunakan kapas dan alumunium foil kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkannya. Media tersebut diletakkan di atas hot plate sampai mendidih sambil dihomogenkan dengan batang pengaduk kemudian disterilkan menggunakan autoclave pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit (Atlas, 2010).

3.5.2.3 Media PDA

Sebanyak 3,9 gram serbuk PDA (*Potato Dextrose Agar*) ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades steril. Larutan tersebut ditutup menggunakan kapas dan alumunium foil kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkannya. Tahap selanjutnya yakni dipanaskan sementara diatas hotplate dengan suhu 180°C sampai muncul gelembung kecil yang menandakan larutan tersebut hampir mendidih. Media disterilkan dengan menggunakan autoclave pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit (Kumar & Shukla, 2020).

3.5.2.4 Media PDB

Sebanyak 2,4 gram serbuk PDB (*Potato Dextrose Broth*) ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan menggunakan 100 mL akuades. Larutan tersebut ditutup menggunakan kapas dan alumunium foil kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkannya. Tahap selanjutnya yakni dipanaskan sementara diatas hotplate dengan suhu 180°C sampai muncul gelembung kecil yang menandakan larutan tersebut hampir mendidih.

Media PDB disterilkan menggunakan autoclave pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit (Kumar & Shukla, 2020).

3.5.3 Peremajaan *Lactobacillus plantarum*

Satu ose koloni *Lactobacillus plantarum* dari stok diinokulasikan ke media MRSA baru menggunakan metode streak plate, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil peremajaan selanjutnya diamati untuk memastikan kesesuaian karakteristik koloni, yaitu berwarna putih susu hingga krem bening dengan elevasi pada permukaannya.

3.5.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Peremajaan selanjutnya dilakukan pada media MRS broth dengan kurva pertumbuhan yang dipantau setiap 2 jam hingga 24 jam. Tahapan ini bertujuan memastikan bakteri berada pada fase optimal, yaitu fase logaritmik hingga stasioner, sehingga produksi metabolit aktif seperti asam-asam organik dan senyawa antifungi dapat berlangsung maksimal. Oleh karena itu, pembuatan kurva pertumbuhan diperlukan untuk memastikan *Lactobacillus plantarum* berada pada fase pertumbuhan yang diinginkan (Hidayatulloh dkk., 2019).

Pemantauan pertumbuhan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV/VIS pada panjang gelombang 600 nm (OD600) setiap dua jam sekali. Frekuensi pengukuran yang relatif rapat memungkinkan perubahan halus pada fase lag dan eksponensial dapat terdeteksi dengan lebih baik (Krishnamurti *et al.*, 2021). Penggunaan OD600 dinilai efektif karena mengukur hamburan cahaya oleh sel bakteri, sehingga dapat merepresentasikan biomassa secara akurat tanpa merusak komponen sel seperti DNA dan protein (Stevenson *et al.*, 2016).

3.5.5 Pembuatan Adonan Sourdough

Tahap awal membuat ragi alami sourdough mengacu pada penelitian (Wahyudi, *et al.* 2022) dengan cara fermentasi langsung starter sourdough dengan menerapkan metode backslopping setiap 24 jam selama 5 hari. Metode backslopping adalah proses fermentasi dengan cara mencampurkan produk hasil fermentasi yang mengandung mikroba sebagai inokulum ke bahan baru (Ariyana, dkk., 2018).

Tahapan pertama yang dilakukan, tepung terigu dan air dicampurkan membentuk adonan dengan perbandingan 1:1 kemudian difermentasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah fermentasi pertama, tahapan backslopping dilakukan dengan mencampurkan sebagian adonan hasil fermentasi, tepung terigu dan air menggunakan perbandingan 1:2:2 diulang setiap 24 jam selama 5 hari. Setelah 5 hari, ragi alami sourdough penghuni pertama atau starter satu sudah terbentuk. Setelah fermentasi selesai ragi alami sourdough bisa digunakan pada proses pembuatan roti sourdough (Cahyani, dkk., 2024).

3.5.6 Pengenceran Adonan Sourdough

Sebanyak 1 g starter sourdough yang telah mencapai kondisi fermentasi optimum dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril, kemudian ditambahkan 9 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% steril. Campuran dihomogenkan menggunakan vortex hingga terbentuk suspensi yang merata (Nguyen *et al.*, 2025). Absorbansi suspensi kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm untuk memverifikasi bahwa kekeruhannya setara dengan standar McFarland. Jika belum sesuai, ditambahkan NaCl 0,9% hingga nilai absorbansi yang ditargetkan

tercapai (Hernández-Figueroa *et al.*, 2023). Suspensi yang telah terstandarisasi selanjutnya disimpan pada suhu 4°C untuk mencegah kontaminasi.

3.5.7 Pengambilan CFS pada *Lactobacillus plantarum*

Prosedur pengambilan cell-free supernatant (CFS) dilakukan setelah fase stasioner akhir teridentifikasi, sebanyak 2 mL kultur cair dipindahkan ke dalam mikrotube dan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C, sehingga biomassa sel mengendap membentuk pelet di dasar mikrotube. Mikrotube dikeluarkan secara perlahan, kemudian supernatan diambil menggunakan mikropipet tanpa mengganggu pelet dan dipindahkan ke mikrotube steril yang baru. Supernatan selanjutnya disaring menggunakan membran filter 0,22 µm untuk memastikan tidak ada sisa sel yang terbawa, sehingga diperoleh CFS yang murni mengandung metabolit aktif tanpa sel hidup maupun residu seluler (Nguyen *et al.*, 2025).

3.5.8 Uji Aktivitas Antifungi

3.5.8.1 Peremajaan *Aspergillus niger*

Media PDA steril yang bersuhu sekitar 45°C dituang ke dalam cawan petri kemudian dibiarkan memadat. Satu ose jamur *Aspergillus niger* diambil kemudian diinokulasikan di media PDA dengan metode streak plate. Setelah diinokulasikan, isolate kemudian diinkubasi pada suhu ruang (30°C) selama 7 hari. Pertumbuhan *Aspergillus niger* ini ditandai dengan munculnya spora warna hitam.

3.5.8.2 Suspensi Kapang Uji

Suspensi *Aspergillus niger* dibuat dengan menambahkan 10 mL larutan NaCl 0,9% yang mengandung 0,05% Tween-80 ke dalam tabung reaksi berisi biakan *A. niger* yang telah ditumbuhkan pada media PDA miring selama 7 hari pada

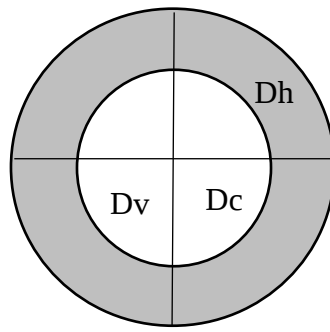
suhu 25°C. Campuran dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian spora dihitung menggunakan hemositometer di mikroskop hingga mencapai kepadatan 1×10^4 spora/mL. Jika belum sesuai, ditambahkan NaCl 0,9% hingga konsentrasi target tercapai (Hernández-Figueroa *et al.*, 2023).

3.5.8.3 Uji Efektivitas dengan Metode Difusi Sumuran

Penelitian ini menerapkan prinsip uji difusi sumuran. Langkah pertama yakni menuangkan media agar PDA ke dalam cawan petri dan menunggu hingga mengeras. Selanjutnya, permukaan agar diinokulasi dengan 50 μ l suspensi *Aspergillus niger* berkonsentrasi 1×10^4 spora/mL menggunakan metode streak plate. Setelah didiamkan selama 15 menit, dibuat lubang di tengah sisi agar menggunakan cork borer, dengan area yang telah ditandai menggunakan spidol. Kemudian dituangkan masing-masing konsentrasi perlakuan di dalam sumuran. Dosis konsentrasi yang digunakan pada pengujian ini terdapat pada **tabel 3.2** di bawah ini. Perlakuan tersebut diinkubasi selama 72 jam pada suhu ruang yakni 30°C. Kemudian zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran antifungi diukur menggunakan jangka sorong, menggunakan rumus seperti **gambar 3.1** ini (Nguyen *et al.*, 2025).

Tabel 3.2 Volume Kombinasi Konsentrasi Starter Sourdough dan *Lactobacillus plantarum*

Perlakuan	CFS	Sourdough	<i>Aspergillus niger</i>
C10S20	16,3 μ l	33,7 μ l	50 μ l
C15S15	25 μ l	25 μ l	50 μ l
C20S10	33,7 μ l	16,3 μ l	50 μ l
C25S5	41,7 μ l	8,3 μ l	50 μ l



Gambar 3.1 Rumus Perhitungan Diameter

(Sumber: Magvirah *et al.*, 2019).

Diameter zona hambat diukur dengan rumus:

$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Keterangan:



: Zona hambat

Dv : Diameter vertical

Dh : Diameter horisontal

Dc : Diameter cakram

3.5.8.5 Uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)

Pengujian KHM ini menggunakan metode dilusi cair di microplate 96 *wells*. Metode pengujian ini menggunakan rasio seperti penelitian yang dilakukan oleh Nguyen, *et al.*, (2025) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 6 baris sumuran diisi konsentrasi yang telah diencerkan sebelumnya. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan lima variasi konsentrasi, yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, untuk mengevaluasi efektivitas penghambatan terhadap *Aspergillus niger* (Hernández-Figueroa *et al.*, 2023). Setiap perlakuan dilakukan empat kali ulangan untuk meningkatkan keandalan data dan meminimalkan variasi acak, sehingga hasil yang diperoleh lebih representatif secara ilmiah (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021). Pengujian KHM ini dilakukan dengan empat kali ulangan. Pengulangan yang dilakukan ini telah sesuai dengan rumus Federer.

Dosis yang digunakan pada uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ini tertera pada **tabel 3.3**. Kombinasi konsentrasi ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Nguyen *et al.* (2025). Ketoconazole digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki aktivitas antifungi kuat dan konsisten, terutama terhadap kapang seperti *Aspergillus niger*. Sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades. Aquades digunakan karena senyawa yang digunakan sebagai antifungi merupakan senyawa polar atau larut dalam air, sehingga penggunaan aquades cukup sebagai kontrol negatif (Balouiri, *et al.*, 2016).

Tabel 3.3 Volume Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi	Kapang	PDB	CFS	SD
100%	10 µl	30 µl	50 µl	10 µl
80%	10 µl	40 µl	41,7 µl	8,3 µl
60%	10 µl	50 µl	33,3 µl	6,7 µl
40%	10 µl	60 µl	25 µl	5 µl
20%	10 µl	70 µl	16,7 µl	3,3 µl

Selanjutnya media di sumuran diinkubasi selama 72 jam, semua sumuran tersebut dilihat kekeruhannya secara visual. Apabila larutan terlihat jernih pada konsentrasi terkecil, itulah yang dinamakan KHM. Kadar hambat minimum merupakan kombinasi konsentrasi terkecil pada sumuran yang sudah mulai menghambat pertumbuhan kapang (Munira & Nasir, 2023).

3.5.8.6 Uji KFM (Konsentrasi Fungisida Minimum)

Penentuan Konsentrasi Fungisida Minimum (KFM) didapat dari larutan uji KHM yang telah diinokulasi ke dalam *wells*. Pengujian ini menggunakan metode pour plate dengan mengambil 10 µl konsentrasi dari uji KHM ke dalam cawan petri. Setelah itu, dituangkan media PDA yang masih hangat ke dalam cawan petri dan digoyang-goyangkan cawan petri seperti membentuk angka delapan. Kemudian media ditunggu hingga mengeras, kurang lebih selama 10 menit. Terakhir,

diinkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam untuk melihat pertumbuhan kapang tersebut. Konsentrasi bahan uji yang dapat membunuh kapang dapat ditentukan dengan tidak adanya kapang yang terbentuk. Konsentrasi terendah yang dapat membunuh kapang (tidak ditumbuhi koloni) dinyatakan sebagai Konsentrasi Fungisidal Minimum (Nguyen, *et al.*, 2025).

3.6 Analisis Data

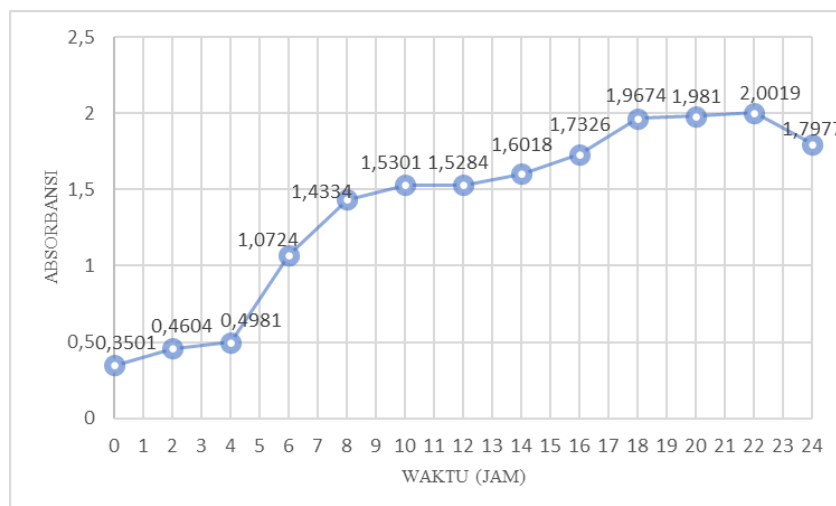
Data yang dihasilkan dari penelitian ini berupa kualitatif dan kuantitatif. Data kuantitatif berupa nilai diameter zona hambat, sedangkan data kualitatif berupa nilai KHM, dan KFM. Data kuantitatif akan dianalisis statistik menggunakan aplikasi SPSS v25 dengan uji One-Way Analysis of Variance (ANOVA) dengan syarat data berdistribusi normal dan homogen. Uji normalitas dilakukan menggunakan Kolmogorov-Smirnov, sedangkan uji homogenitas menggunakan Levene Test. Jika hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik, maka dilakukan uji lanjut Tukey HSD untuk mengidentifikasi kelompok yang memiliki perbedaan efek. Apabila data tidak berdistribusi normal, uji Kruskal-Wallis digunakan sebagai alternatif, dan uji lanjutan dilakukan dengan Mann Whitney jika ditemukan perbedaan yang signifikan. Data kualitatif akan dianalisis secara deskriptif observative.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Aktivitas Antifungi Kombinasi Konsentrasi Starter Sourdough dan *Lactobacillus bacillus* terhadap *Aspergillus niger*

4.1.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus plantarum*

Setiap bakteri memiliki pola pertumbuhan yang berbeda, yang dipengaruhi oleh faktor genetik serta jenis sumber karbon yang digunakan (White, 2014). Penentuan kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dilakukan berdasarkan variasi waktu inkubasi dan nilai absorbansi yang diukur secara berkala. Data tersebut digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan sehingga dapat diidentifikasi fase logaritmik hingga fase stasioner, yang berkaitan dengan kondisi optimal produksi metabolit. Aktivitas produksi metabolit oleh *Lactobacillus plantarum* diamati melalui perubahan biomassa selama periode inkubasi 24 jam. Hasil pengamatan kemudian disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Panjang gelombang 600 nm

Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* terdiri dari beberapa fase, yaitu fase lag, fase log, fase stasioner, dan fase kematian. Fase lag berlangsung pada jam ke-0 hingga jam ke-4. Fase ini merupakan tahap dimana bakteri menyerap

nutrisi dan beradaptasi terhadap lingkungannya. Pada fase ini, laju pertumbuhan bakteri masih sangat rendah karena sel-sel belum mengalami pembelahan secara aktif. Namun pada fase ini, sel-sel bakteri mengalami pembesaran sehingga kurva yang dibentuk sedikit naik (Rolfe, *et al.*, 2012).

Fase logaritmik atau disebut pertumbuhan eksponensial terjadi antara jam ke-6 hingga jam ke-18. Fase ini ditandai dengan peningkatan jumlah sel bakteri secara cepat dan signifikan. Pada tahapan ini, bakteri telah beradaptasi dengan baik terhadap lingkungan sehingga pembelahan sel berlangsung maksimal, yang ditunjukkan oleh peningkatan nilai OD akibat tingginya pembentukan biomassa (Stevenson *et al.*, 2016). Pada fase ini, bakteri menghasilkan senyawa yang terlibat dalam proses pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi sel, sehingga diproduksi secara intensif pada fase eksponensial untuk menyediakan energi dan prekursor biosintesis. Senyawa ini disebut metabolit primer, contohnya seperti asam organik, enzim, dan komponen penyusun sel karena metabolisme berada dalam kondisi sangat aktif untuk mendukung pertumbuhan (Rolfe, *et al.*, 2012).

Fase stasioner terjadi pada jam ke-20 hingga jam ke-22 ditandai dengan grafik pertumbuhan yang cenderung konsisten. Pada fase ini, kondisi lingkungan mulai tidak mendukung pertumbuhan sel lebih lanjut akibat akumulasi zat sisa metabolisme dan menurunnya ketersediaan nutrisi. Jumlah sel hidup bakteri pada fase stasioner ini sama dengan sel mati, sehingga dihasilkan grafik yang konstan. Sebagai respons terhadap kondisi cekaman tersebut, bakteri mulai memproduksi metabolit sekunder sebagai mekanisme bertahan hidup, salah satu metabolit sekunder tersebut adalah bakteriosin dan peptida antifungi (Hasan dan Wikandari, 2018).

Fase kematian terjadi pada jam ke-22 hingga jam ke-24 ditandai dengan penurunan jumlah sel hidup secara signifikan akibat kondisi lingkungan yang semakin tidak menguntungkan bagi kelangsungan hidup bakteri (Hidayatulloh dkk., 2019). Berdasarkan hasil kurva pertumbuhan, pengambilan metabolit *Lactobacillus plantarum* dilakukan pada fase stasioner—saat akumulasi metabolit mencapai tingkat tertinggi sebelum terjadi fase kematian. Peningkatan pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* menyebabkan meningkatnya OD dan jumlah biomasanya selama inkubasi. Meningkatnya jumlah biomassa juga akan meningkatkan senyawa metabolit yang dihasilkan (Hidayatulloh dkk., 2019).

4.1.2 Uji Potensi Antifungi Kombinasi Konsentrasi Starter Sourdough dan *Lactobacillus plantarum* terhadap *Aspergillus niger*

Konsentrasi starter sourdough yang dipadukan dengan metabolit *Lactobacillus plantarum* akan mengoptimalkan efektivitas antifungi yang dihasilkan. Berdasarkan hasil uji zona hambat, diketahui bahwa terdapat aktivitas antifungi oleh kedua senyawa tersebut terhadap *Aspergillus niger*. Hal ini ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran. Keseluruhan hasil rata-rata diameter zona hambat berkisar antara 2,32 – 8,56 mm, yang menunjukkan adanya aktivitas antifungi dengan kategori lemah hingga sedang (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Hasil diameter zona hambat pada uji potensi antifungi

Kode perlakuan	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm $\pm$ std)	Kategori
C10S20	5,15 $\pm$ 1,052 ^{ab}	Sedang
C15S15	2,32 $\pm$ 2,269 ^a	Lemah
C20S10	3,87 $\pm$ 2,488 ^{ab}	Lemah
C25S5	8,56 $\pm$ 5,287 ^{bc}	Sedang
K+	13,28 $\pm$ 2,269 ^c	Kuat
K-	0 $\pm$ 0 ^a	Tidak ada

Analisis statistik terhadap diameter zona hambat kombinasi konsentrasi sourdough dan metabolit *Lactobacillus plantarum* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing kombinasi perlakuan (Lampiran 5). Konsentrasi kedua senyawa tersebut menunjukkan pengaruh yang signifikan dengan nilai signifikansi 0,003 ($p < 0,05$), sehingga menunjukkan bahwa kombinasi keduanya mempengaruhi secara nyata terhadap aktivitas antifungi. Hal ini sesuai dengan Hernández-Figueroa *et al*, (2024) yang menyatakan bahwa kombinasi fermentasi sourdough dan *cell-free supernatant Lactobacillus plantarum* dapat meningkatkan produksi asam organik dan senyawa antifungi

Berdasarkan hasil uji statistik, terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Perlakuan C25S5 menunjukkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi sebesar 8,57 mm, diikuti C10S20 sebesar 5,15 mm—keduanya termasuk kategori daya hambat sedang (Jorgensen & Ferraro, 2009), meskipun terdapat selisih nilai yang cukup jauh di antara keduanya. Sementara itu, perlakuan C15S15 dan C20S10 tergolong dalam kategori daya hambat lemah (Purwanto, 2015). Uji lanjut difokuskan pada perlakuan C25S5 sebagai perlakuan dengan zona hambat tertinggi guna mengidentifikasi kandidat perlakuan paling potensial secara efisien. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa C25S5 hanya berbeda nyata dengan C15S15, tetapi tidak berbeda nyata dengan C20S10 dan C10S20. Meskipun memiliki nilai rata-rata zona hambat tertinggi, efektivitas antifungi C25S5 secara statistik setara dengan kedua perlakuan tersebut.

Perlakuan C25S5 dinilai lebih optimal dibandingkan C10S20, karena menghasilkan zat antifungi melalui dominansi CFS yang lima kali lebih tinggi dibanding suspensi sourdough. Kolaborasi ini menghasilkan akumulasi metabolit

Lactobacillus plantarum yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger*. Sourdough masih menyediakan substrat bagi kapang (Houssni *et al.*, 2023) namun, lingkungan asam tetap menjadi faktor pembatas. Daya hambat yang terbentuk tergolong kategori sedang (umumnya sekitar 5–10 mm), menunjukkan bahwa aktivitas antifungi sudah efektif tetapi belum cukup kuat untuk menghasilkan zona hambat yang luas. Kondisi ini mengindikasikan bahwa keseimbangan antara metabolit aktif dan ketersediaan nutrisi masih memungkinkan pertumbuhan kapang secara terbatas, sehingga efek penghambatan tidak maksimal (Rizzello *et al.*, 2011).

Perlakuan C10S20, C15S15 dan C20S10 menunjukkan daya hambat yang lemah karena komposisi keduanya belum mencapai kondisi optimal untuk menghasilkan efek antifungi yang efektif. Pada C10S20, proporsi sourdough yang lebih tinggi memungkinkan kontribusi tambahan dari hasil fermentasi seperti senyawa volatil dan turunan fenolik yang dapat memperkuat aktivitas antifungi. Namun, peningkatan komponen nutrisi dari sourdough—seperti glukosa dari tepung juga dapat dimanfaatkan oleh kapang. Sehingga efek penghambatan tidak meningkat secara signifikan dan tetap berada pada kategori lemah. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas antifungi tidak selalu berbanding lurus dengan proporsi campuran yang seimbang, melainkan dipengaruhi oleh dominasi metabolit aktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan kapang (Hernández-Figueroa *et al.*, 2024b).

Perlakuan C15S15 memiliki rasio CFS dan sourdough yang seimbang dan tidak diikuti dengan dominasi metabolit aktif, sehingga tekanan antifungi dari *Lactobacillus plantarum* belum cukup kuat untuk menekan pertumbuhan

Aspergillus niger. Di sisi lain, keberadaan sourdough masih menyediakan substrat yang dapat dimanfaatkan kapang, sehingga terjadi keseimbangan antara efek penghambatan dan dukungan nutrisi yang memungkinkan kapang tetap tumbuh (Rizzello *et al.*, 2011). Hal ini menyebabkan hasil diameter zona hambat yang dihasilkan paling kecil diantara perlakuan yang lain.

Pada C20S10, peningkatan proporsi CFS memang meningkatkan tekanan antifungi, namun belum terlalu efektif untuk menghasilkan daya hambat sedang. Keberadaan sourdough yang masih tersisa tetap berkontribusi sebagai sumber nutrisi, sehingga mengurangi efektivitas metabolit antifungi. Jika dibandingkan dengan C25S5, terlihat bahwa efektivitas penghambatan sangat dipengaruhi oleh dominasi metabolit aktif, variasi komposisi dan konsentrasi metabolit antifungi yang dihasilkan sedangkan C10S20, C15S15 dan C20S10 berada pada kondisi transisi yang tidak optimal, sehingga menghasilkan daya hambat yang lebih lemah (Rizzello *et al.*, 2011; Hernández-Figueroa *et al.*, 2024b).

Kombinasi komunitas mikroba dalam sourdough dan metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat mampu memberikan aktivitas antifungi melalui berbagai senyawa seperti asam organik, peptida bioaktif, dan metabolit lainnya. Berbagai senyawa ini akan membentuk matriks antifungi yang lebih kuat (Hernández-Figueroa, *et al.*, 2024). Lingkungan asam pada fermentasi sourdough mengaktifkan enzim seperti feruloyl esterase dan β -glukosidase yang menghidrolisis senyawa fenolik terikat menjadi bentuk bebas, seperti asam ferulat dan asam p-kumarat. Senyawa fenolik bebas ini kemudian berperan sebagai agen antifungi dengan menghambat pertumbuhan jamur melalui gangguan pada membran sel dan aktivitas enzimatisnya (Lafuente *et al.*, 2023).

Cell-Free Supernatant (CFS) memiliki peran utama sebagai agen antifungi pada penelitian ini. CFS *Lactobacillus* mengandung metabolit yang sangat beragam dan bekerja secara sinergis, di mana lebih dari lima puluh molekul telah teridentifikasi dalam metabolom CFS, meliputi asam amino, asam organik, monosakarida, keton, dan alkohol. Dengan demikian, penghambatan pertumbuhan *A. niger* oleh CFS merupakan hasil kontribusi kolektif dari seluruh komponen bioaktif tersebut, bukan semata-mata berasal dari efek pengasaman tunggal (Arsoy *et al.*, 2022). Pada tingkat seluler, *A. niger* mampu memompa keluar molekul asam menggunakan transporter tipe ABC, melakukan remodeling membran plasma, serta menyesuaikan energi sel dan mencegah penurunan ATP akibat stres asam, sehingga penurunan pH tidak cukup untuk menghambat pertumbuhannya secara efektif.

Oleh karena itu, efektivitas CFS terhadap *A. niger* kemungkinan tidak hanya bertumpu pada kandungan asamnya, melainkan juga melibatkan komponen bioaktif lain yang bekerja melalui target seluler yang lebih fundamental. Penghambatan yang lebih potensial terjadi melalui gangguan integritas membran sitoplasma, induksi stres oksidatif melalui peningkatan *reactive oxygen species* (ROS), serta interferensi terhadap jalur glikolisis dan siklus asam trikarboksilat (TCA cycle). Dengan demikian, aktivitas antifungi CFS perlu dipahami sebagai hasil kerja sinergis berbagai komponen bioaktif, bukan semata-mata melalui efek pengasaman (Yu *et al.*, 2024; Ma *et al.*, 2024).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *cell-free supernatant* (CFS) dari *Lactobacillus plantarum* pada volume $\pm 80\text{--}100\ \mu\text{L}$ mampu menghasilkan zona hambat kuat ($>10\ \text{mm}$), bahkan mencapai $12\text{--}17\ \text{mm}$ terhadap *Aspergillus niger* (Muhialdin & Hassan, 2021), serta memiliki aktivitas penghambatan maksimal

pada kisaran $\pm 80 \mu\text{L}$ (Rao *et al.*, 2019). Namun, pada penelitian ini, meskipun digunakan proporsi CFS yang relatif tinggi, daya hambat yang dihasilkan hanya berada pada kategori sedang hingga lemah.

Perbedaan ini menunjukkan bahwa efektivitas antifungi tidak hanya ditentukan oleh persentase CFS, tetapi juga oleh dosis absolut metabolit aktif. Meskipun persentasenya tinggi, jumlah nyata senyawa antifungi dalam penelitian ini diduga masih belum efektif. Selain itu, sourdough masih menyediakan substrat bagi kapang dan mengurangi efektivitas metabolit, sehingga daya hambat yang dihasilkan hanya berada pada kategori sedang (Arasu *et al.*, 2013).

Terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* menghasilkan senyawa metabolit berupa antifungi yang efektif menghambat pertumbuhan kapang uji. Lafuente, *et al.*, (2023) menyoroti beberapa metabolit yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* meliputi asam asetat, alkohol seperti 1-nonanol dan 2-nonanol, dan alkana seperti nonana dan 4-metil nonana. Studi oleh Zhang *et al.*, (2021) telah menunjukkan bahwa senyawa 1-nonanol adalah komponen utama dari senyawa volatil sereal dan memiliki efek terhadap patogen *A. flavus*, mencegah pertumbuhan spora dan miselium fungisida dan menjadi mekanisme potensial biopreservasi.

Penelitian lain melaporkan bahwa supernatan bebas sel dari beberapa bakteri asam laktat (LAB), termasuk *Lactobacillus plantarum*, mengandung asam laktat berkisar antara 4,33–8,41 g/L yang mampu menghambat pertumbuhan kapang seperti *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, dan *Penicillium expansum* (Arsoy *et al.*, 2022). Selain itu, strain *Lactobacillus plantarum* LWQ17 diketahui menghasilkan asam fenillaktat sekitar 60 kali lebih tinggi dibandingkan

Pediococcus pentosaceus LWQ1, sehingga memberikan efek penghambatan yang lebih kuat terhadap *Aspergillus niger* (Ma, *et al.*, 2024).

Dari 1706 istilah yang dianalisis, dihitung kemunculan spesies bakteri asam laktat (LAB) yang berkaitan dengan mikrobiota sourdough, di mana beberapa spesies dan genus sering dilaporkan dalam literatur. *Lactiplantibacillus plantarum* menjadi spesies yang paling dominan dengan persentase kemunculan sebesar 26,9%, karena banyak ditemukan pada tepung dari berbagai sumber dan mampu mendominasi fermentasi. Genus *Limosilactobacillus* menempati urutan kedua (15,1%), diikuti oleh spesies *Levilactobacillus brevis* (9,2%) dan *Fructilactobacillus sanfranciscensis* (7,7%), *Limosilactobacillus reuteri* (6,8%) dan *Limosilactobacillus fermentum* (5,0%), sementara *Pediococcus pentosaceus* juga memiliki kemunculan yang cukup signifikan (5,2%) (Oleinikova, *et al.*, 2025).

Dominannya *Lactiplantibacillus plantarum* dalam mikrobiota sourdough, dengan persentase kemunculan tertinggi, menunjukkan bahwa spesies ini berperan penting dalam proses fermentasi dan produksi metabolit aktif. Keberadaan yang dominan tersebut mengindikasikan bahwa *L. plantarum* mampu menghasilkan senyawa bioaktif seperti asam organik dan senyawa antifungi dalam jumlah signifikan. Sehingga ketika digunakan dalam bentuk CFS, metabolit yang dihasilkan juga berpotensi tinggi dalam memberikan aktivitas antifungi (Gobbetti, *et al.*, 2023). Dengan demikian, efektivitas CFS *L. plantarum* dalam menghambat pertumbuhan kapang dapat dikaitkan dengan kemampuannya yang dominan dalam sistem sourdough (Crowley, *et al.*, 2013).

Asam organik seperti asam asetat dan asam laktat merupakan senyawa utama yang berperan dalam aktivitas antifungi yang dihasilkan oleh *Lactobacillus*

plantarum. Mekanisme penghambatannya meliputi penurunan pH lingkungan serta difusi asam dalam bentuk tidak terdisosiasi ke dalam sel kapang, yang kemudian menyebabkan penurunan pH intrasel dan mengganggu homeostasis sel. Selain itu, asam organik juga dapat merusak permeabilitas membran sel dan menyebabkan kebocoran komponen seluler, sehingga menghambat metabolisme dan pertumbuhan kapang. Proses ini memaksa sel untuk menggunakan energi dalam mempertahankan keseimbangan pH, yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Crowley *et al.*, 2013).

Diameter zona hambat dari semua perlakuan terhadap kapang *Aspergillus niger* menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Kontrol positif menggunakan antifungi ketoconazole menghasilkan diameter zona hambat sebesar 13,28 mm dan tergolong dalam kategori daya hambat kuat. Hal ini sejalan dengan penelitian Adetiton, *et al.*, (2015) bahwa antifungi ketoconazole memiliki daya hambat tertinggi, dengan kisaran angka 12-26 mm tergantung pada kapang uji serta dosis yang dipakai. Ia juga menyebutkan bahwa 2 mg ketoconazole dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger* hingga 26 mm. Hasil ini bervariasi tergantung dosis ketoconazole serta kapang uji yang dipakai. Kebanyakan antifungal bersifat fungistatik namun dapat menjadi fungisida dalam konsentrasi yang lebih tinggi (Aranceta, *et al.*, 2003).

Ketokonazole adalah agen antijamur dari golongan imidazol yang digunakan dalam pencegahan dan pengobatan berbagai infeksi jamur. Cara kerjanya adalah dengan mencegah sintesis ergosterol, setara dengan kolesterol pada jamur, sehingga meningkatkan fluiditas membran dan mencegah pertumbuhan jamur (Brunton, *et al.*, 2018). Mekanisme kerja ketoconazole adalah dengan

menghambat sitokrom P450 (dikenal juga sebagai P450DM, ERG11, ERG16 dan CYP51) 14 α -demethylase pada jamur. Enzim ini berperan dalam mengubah lanosterol menjadi ergosterol. Nitrogen dalam struktur azole membentuk ikatan kuat dengan Fe pada jamur sehingga mencegah jamur berikatan dengan substrat dan oksigen. Penghambatan C14 α -demethylase akan mengubah struktur membran dan mengubah permeabilitas serta susunan protein di dalamnya (Myers, *et al.*, 2026).

Variasi diameter zona hambat yang diperoleh menunjukkan bahwa efektivitas senyawa antifungi sangat dipengaruhi oleh karakteristik anatomi dan mekanisme pertahanan kapang *Aspergillus niger*. Dinding sel kapang yang tersusun atas polisakarida kompleks seperti kitin dan β -glukan berfungsi sebagai penghalang utama terhadap masuknya senyawa antifungi, serta berperan dalam menjaga integritas sel (Yoshimi, *et al.*, 2016). Selain itu, *Aspergillus niger* memiliki sistem *cell wall integrity signaling* yang mampu mendeteksi dan memperbaiki kerusakan dinding sel akibat paparan senyawa antifungi, sehingga meningkatkan kemampuan adaptasi terhadap stres lingkungan (Yu, *et al.*, 2024). Struktur hifa yang bercabang dan membentuk jaringan miselium juga memungkinkan kapang tetap tumbuh meskipun sebagian sel mengalami hambatan. Di sisi lain, perbedaan kemampuan difusi dan mekanisme kerja senyawa antifungi turut memengaruhi luas zona hambat yang terbentuk (Guo *et al.*, 2023). Oleh karena itu, kombinasi antara struktur anatomi, sistem pertahanan sel, dan karakteristik senyawa menyebabkan variasi daya hambat yang teramati, mulai dari lemah hingga kuat.

Ketokonazole digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini karena memiliki aktivitas antifungi yang kuat dan mekanisme kerja yang spesifik dalam

menghambat biosintesis ergosterol pada membran sel jamur. Senyawa ini diketahui efektif terhadap berbagai jenis kapang, termasuk *Aspergillus niger*, serta menunjukkan hasil yang konsisten dalam metode difusi sehingga banyak digunakan sebagai standar pembanding dalam uji aktivitas antifungi. Dibandingkan dengan antifungi lain seperti nistatin dan flukonazol, ketokonazol memiliki efektivitas yang lebih baik terhadap kapang, sedangkan dibandingkan dengan amfoterisin B, ketokonazol lebih stabil dan praktis digunakan dalam pengujian laboratorium (Tokarzewski, *et al.*, 2012).

4.1.3 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Berdasarkan hasil uji potensi antifungi, kombinasi konsentrasi dengan nilai rata-rata daya hambat tertinggi diperoleh pada perlakuan C25S5. Kombinasi tersebut selanjutnya dianalisis lebih lanjut melalui pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). pengujian tersebut bertujuan untuk menentukan konsentrasi terendah yang efektif untuk menghambat pertumbuhan mikroba uji. Metode ini didasarkan pada pengamatan secara kualitatif terhadap perubahan kejernihan media sebagai indikator adanya atau tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

Hasil uji Kadar Hambat Minimum (KHM) menunjukkan bahwa sebagian perlakuan menghasilkan endapan berwarna putih di dasar sumuran, namun medianya tetap bening. Endapan tersebut diduga berasal dari residu atau presipitasi komponen selama proses inkubasi. Sourdough merupakan produk fermentasi berbasis tepung dan air yang mengandung pati dan protein (Gobbetti, *et al.*, 2023). Dalam kondisi cair, komponen tersebut berada dalam bentuk partikel tersuspensi yang dapat mengalami sedimentasi seiring waktu, terutama selama proses inkubasi.

Pati dalam sistem berair juga diketahui membentuk suspensi yang dapat mengendap akibat pengaruh gravitasi (Gobbetti, *et al.*, 2023). Oleh karena itu, endapan putih yang terbentuk kemungkinan besar berasal dari partikel tepung dalam sourdough, bukan dari pertumbuhan mikroorganisme.

Tabel 4.2 Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Kode	Ulangan	Perlakuan					K+	K-
		20%	40%	60%	80%	100%	-	+++
C25S5	I	+	-	-	-	-	-	+++
	II	+	-	-	-	-	-	+++
	II	+	-	-	-	-	-	+++
	IV	-	-	-	-	-	-	+++
Ketrangan:	-	: Bening		+	: Sedikit keruh			
	++	: Keruh		+++	: Sangat keruh			
	--	: nilai KHM						

Perlakuan dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% menunjukkan media yang jernih, sedangkan pada konsentrasi 20% media tampak keruh. Konsentrasi 20% menghasilkan media berwarna kuning keruh hingga kecoklatan. Kekeruhan ini juga disertai dengan terbentuknya struktur serabut berwarna hitam di dasar sumuran mengindikasikan masih terjadinya pertumbuhan kapang. Struktur serabut tersebut merupakan miselium, yaitu kumpulan hifa yang menjadi bentuk pertumbuhan vegetatif kapang, sedangkan warna hitam menunjukkan terjadinya sporulasi yang merupakan karakteristik khas *Aspergillus niger* akibat pembentukan konidia berpigmen gelap (Samson, *et al.*, 2014). Proses sporulasi ini umumnya terjadi ketika kapang berhasil tumbuh dan berkembang dalam kondisi lingkungan yang mendukung (Dijksterhuis, 2019). Dengan demikian, kondisi tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 20% belum mampu menghambat pertumbuhan kapang secara efektif.

Hasil uji KHM menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi CFS *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough mampu menghambat pertumbuhan

Aspergillus niger pada konsentrasi terendah yaitu 40% (Tabel 4.2). Hal ini menunjukkan adanya indikasi bahwa kombinasi ini dapat digunakan sebagai antifungi. Namun, keefektifan kombinasi tersebut akan diuji lanjut dengan penginokulasian kembali di media agar (KFM). Pengujian ini untuk menunjukkan bahwa kombinasi tersebut bersifat fungistatik ataupun fungisida.

Berdasarkan pengamatan terhadap tingkat kekeruhan larutan pada uji KHM (Lampiran 7), terlihat adanya perbedaan kejernihan media meskipun tidak terlalu kontras. Konsentrasi yang menunjukkan kondisi jernih ditetapkan sebagai nilai KHM karena tidak ditemukan adanya pertumbuhan kapang yang teramati secara makroskopis. Sebaliknya, konsentrasi yang menunjukkan kekeruhan mengindikasikan masih adanya pertumbuhan mikroorganisme, sehingga pada kondisi tersebut senyawa uji belum mampu menghambat pertumbuhan secara efektif. Prinsip ini sesuai dengan metode mikrodilusi, di mana nilai KHM ditentukan sebagai konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang terdeteksi melalui perubahan kejernihan media (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

4.1.4. Uji Konsentrasi Fungisida Minimum (KFM)

Pengamatan secara kualitatif berdasarkan tingkat kekeruhan larutan pada uji KHM memiliki keterbatasan dalam membedakan secara jelas antar perlakuan, terutama ketika perbedaan kejernihan media tidak terlalu kontras. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan melalui proses subkultur dengan menginokulasikan sampel dari sumuran yang menunjukkan hasil KHM ke dalam media Potato Dextrose Agar (PDA) untuk mengonfirmasi keberadaan pertumbuhan fungi serta menentukan nilai

Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM) dari kombinasi CFS *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough.

Metode ini sesuai dengan prinsip pengujian antifungi, di mana penentuan KFM dilakukan berdasarkan kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh kembali setelah dipindahkan ke media baru (Pfaller & Diekema, 2012). KFM didefinisikan sebagai konsentrasi terendah yang mampu membunuh seluruh mikroorganisme, yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni setelah proses subkultur, sehingga menunjukkan sifat fungisidal dari senyawa uji (CLSI, 2020).

Tabel 4.3 Nilai konsentrasi fungisidal minimum (KFM)

Kode	Ulangan	Jumlah Koloni Propagul/mL				K+
		Perlakuan				
		40%	60%	80%	100%	
C25S5	I	4,0x10 ⁰	7,0x10 ⁰	3,0x10 ⁰	1,0x10 ⁰	-
	II	8,0x10 ⁰	5,0x10 ⁰	1,0x10 ⁰	1,0x10 ⁰	-
	II	5,0x10 ⁰	2,0x10 ⁰	5,0x10 ⁰	3,0x10 ⁰	-
	IV	9,0x10 ⁰	6,0x10 ⁰	2,0x10 ⁰	2,0x10 ⁰	-

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis terhadap pertumbuhan koloni *Aspergillus niger* (Tabel 4.3), diketahui bahwa kombinasi konsentrasi CFS *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough (C25S5) hanya menunjukkan efek fungistatik. Hal ini ditunjukkan oleh masih adanya pertumbuhan koloni pada seluruh konsentrasi yang diuji. Adapun pada konsentrasi 100%, kombinasi C25S5 menunjukkan penghambatan yang lebih efektif terhadap pertumbuhan *A. niger*, yang mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi perlakuan maka semakin besar pula daya hambat yang dihasilkan seperti pada (Lampiran 5). Dengan demikian, kombinasi C25S5 memiliki potensi sebagai agen antifungi yang bersifat fungistatik, namun belum mampu memberikan efek fungisidal (Crowley, *et al.*, 2013).

Kondisi ini diduga disebabkan oleh mekanisme kerja senyawa metabolit dari *Lactobacillus plantarum*, seperti asam laktat dan asam asetat, yang umumnya hanya menghambat pertumbuhan kapang melalui penurunan pH dan gangguan metabolisme sel tanpa menyebabkan kerusakan sel secara permanen (Crowley *et al.*, 2013). Selain itu, *Aspergillus niger* diketahui memiliki kemampuan adaptasi terhadap lingkungan asam serta sistem perbaikan sel yang memungkinkan kapang tetap bertahan dan tumbuh kembali setelah tekanan lingkungan berkurang (Dijksterhuis, 2019). Oleh karena itu, meskipun terjadi penghambatan pertumbuhan, sel kapang masih bersifat viabel sehingga efek yang dihasilkan bersifat fungistatik, bukan fungisidal.

4.2 Tinjauan Hasil Penelitian Berdasarkan Al-Qur'an

Penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus niger*. Efektivitas tersebut diduga berasal dari sinergi berbagai senyawa bioaktif yang dihasilkan, meliputi metabolit primer, metabolit sekunder, serta penurunan pH akibat produksi asam organik. Interaksi multifaktorial ini memungkinkan terjadinya efek antifungi yang lebih kompleks. Temuan ini menunjukkan bahwa setiap entitas, termasuk yang berukuran sangat kecil seperti mikroorganisme, memiliki peran dan signifikansi dalam suatu sistem biologis. Hal ini menegaskan bahwa makhluk sekecil apa pun memiliki hikmah dan tujuan dalam tatanan kehidupan. Konsep tersebut secara implisit sejalan dengan makna yang terkandung dalam QS. Al-Baqarah: 26, sebagai berikut:

﴿إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۚ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ﴾ (٣٦)

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik”

Keberadaan mikroorganisme seperti *Lactobacillus plantarum* dan *Aspergillus niger* yang tidak kasat mata, justru memiliki peran yang sangat signifikan dalam kehidupan. Hal ini sejalan dengan makna kata “*famaa fauqaha*”, yang menjelaskan bahwa Allah telah membuat perumpamaan terhadap suatu makhluk yang sangat kecil, yang bahkan kita sepelekan kehadirannya—seperti nyamuk. Ayat ini menunjukkan bahwa makhluk yang tampak sederhana atau tidak terlihat sekalipun memiliki fungsi penting. Dalam konteks penelitian ini, mikroorganisme ternyata memiliki kemampuan biologis yang kompleks, baik sebagai agen penghambat—berupa *Lactobacillus plantarum*, maupun sebagai organisme yang perlu dikendalikan (*Aspergillus niger*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa di antara berbagai perlakuan yang diuji, kombinasi C25S5 memiliki aktivitas antifungi yang paling tinggi. Namun, setelah dilakukan pengujian lanjutan hingga tahap akhir (KFM), kombinasi tersebut belum mampu membunuh kapang secara sempurna. Meskipun menghasilkan diameter zona hambat yang paling besar, efek yang ditimbulkan ternyata hanya sebatas menghambat pertumbuhan, bukan mematikan kapang sepenuhnya. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antifungi yang dihasilkan oleh *Lactobacillus*

plantarum cenderung bersifat fungistatik, yaitu menahan pertumbuhan jamur tanpa membunuhnya secara total.

Fenomena ini menunjukkan adanya hubungan dosis-respons dalam aktivitas antifungi, di mana efektivitas suatu senyawa tidak bersifat mutlak, melainkan bergantung pada konsentrasi dan kondisi lingkungan. Secara implisit dalam perspektif Islam, hal ini sejalan dengan firman Allah dalam QS. Al-Qamar ayat 49 yang menyatakan bahwa segala sesuatu diciptakan menurut ukuran. Ayat ini menegaskan bahwa setiap proses di alam, termasuk aktivitas mikroorganisme, berlangsung sesuai dengan ketentuan dan batas tertentu yang telah ditetapkan oleh Allah (Shihab, 2012).

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukuran.

Interaksi antara kedua mikroorganisme tersebut juga mencerminkan keseimbangan dalam ekosistem, sebagaimana dijelaskan dalam QS. Al-Baqarah ayat 164 bahwa Allah menciptakan berbagai makhluk hidup dengan peran masing-masing. *Lactobacillus plantarum* berfungsi sebagai mikroorganisme yang menghasilkan senyawa antimikroba, sedangkan *Aspergillus niger* merupakan jamur yang dalam kondisi tertentu dapat bersifat merugikan. Dengan demikian, penelitian ini menunjukkan adanya mekanisme pengendalian alami yang merupakan bagian dari keseimbangan ciptaan Allah. Hal ini sejalan dengan Tafsir Al-Misbah yang menjelaskan bahwa keberagaman makhluk hidup dan fenomena alam merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah yang menunjukkan adanya keteraturan, keseimbangan, serta hubungan saling melengkapi antar makhluk dalam sistem kehidupan (Shihab, 2012).

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ
بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ
دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٦٤﴾

Artinya: “Sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi, pergantian malam dan siang bahtera yang berlayar di laut dengan (muatan) yang bermanfaat bagi manusia, apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengannya Dia menghidupkan bumi setelah mati (kering), dan Dia menebarkan di dalamnya semua jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi, (semua itu) sungguh merupakan tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengerti.

Selain itu, upaya untuk menemukan agen antifungi alami juga selaras dengan hadits Rasulullah SAW yang diriwayatkan oleh HR. Bukhari dan Muslim, yang menyatakan bahwa setiap penyakit memiliki obatnya apabila diberikan dosis dengan tepat. Dalam penelitian ini, *Lactobacillus plantarum* menunjukkan potensi sebagai agen antifungi, namun efektivitasnya masih memerlukan optimasi dosis. Hal ini menegaskan bahwa keberhasilan suatu pengobatan tidak hanya bergantung pada jenis senyawa yang digunakan, tetapi juga pada ketepatan konsentrasi.

“Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan Dia juga menurunkan obatnya.” (HR. Bukhari No. 5678, Muslim No. 2204)

Fenomena ini juga selaras dengan firman Allah dalam QS. Asy-Syu'ara ayat 80 yang menegaskan bahwa kesembuhan berasal dari Allah SWT. Para mufassir seperti menjelaskan bahwa pengobatan yang dilakukan manusia hanyalah sebagai bentuk ikhtiar, sedangkan hasil kesembuhan tetap berada dalam kehendak Allah SWT. Oleh karena itu, penggunaan agen antifungi seperti *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough dalam penelitian ini merupakan bagian dari upaya ilmiah untuk menemukan alternatif agen antifungi yang optimal.

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

Artinya: “Apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku”

Di sisi lain, prinsip menjaga kesehatan dan mencegah bahaya juga tercermin dalam Hadits Riwayat Ibnu Majah). Keberadaan *Aspergillus niger* sebagai jamur yang dapat menimbulkan risiko kesehatan menunjukkan pentingnya upaya pengendalian melalui agen antifungi. Oleh karena itu, penelitian ini tidak hanya memiliki nilai ilmiah, tetapi juga nilai kemanfaatan dalam upaya menjaga kesehatan sesuai dengan ajaran Islam.

لَا ضَرَرَ وَلَا ضِرَارَ

Artinya: “Tidak boleh membahayakan diri sendiri dan tidak boleh membahayakan orang lain.”

Berdasarkan hasil penelitian, perbedaan antara uji zona hambat, KHM beserta KFM dan menunjukkan kompleksitas mekanisme biologis mikroorganisme yang tidak selalu bersifat linear. Integrasi hasil ini dengan nilai keislaman menunjukkan bahwa fenomena ilmiah memiliki keselarasan dengan ajaran Al-Qur'an, sebagaimana dalam QS. Al-Baqarah ayat 26 tentang makhluk kecil yang tetap memiliki peran, QS. Al-Baqarah ayat 164 tentang keteraturan dan keseimbangan makhluk hidup, serta QS. Asy-Syu'ara ayat 80 yang menegaskan bahwa kesembuhan berasal dari Allah SWT. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya berkontribusi dalam pengembangan agen antifungi alami, tetapi juga menjadi sarana untuk memahami kebesaran Allah melalui kompleksitas dan keseimbangan ciptaan-Nya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan;

1. Kombinasi CFS *Lactobacillus plantarum* dan starter sourdough menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *Aspergillus niger*. Daya hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi C25S5 dengan zona hambat 8,56 mm yang tergolong kategori sedang.
2. Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan mampu menghambat pertumbuhan kapang pada konsentrasi 40%, yang ditandai dengan media yang jernih. Namun, berdasarkan uji lanjut konsentrasi fungisidal minimum (KFM), seluruh perlakuan masih menunjukkan adanya pertumbuhan koloni setelah subkultur. Oleh karena itu, efek yang dihasilkan perlakuan C25S5 tersebut adalah bersifat fungistatic dan belum mencapai fungisidal.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Perlu dilakukan optimasi konsentrasi dan rasio CFS *Lactobacillus plantarum* dan sourdough agar diperoleh efek antifungi yang bersifat fungisidal terhadap *Aspergillus niger*.
2. Perlu penelitian lanjutan untuk mengidentifikasi berbagai senyawa aktif atau metabolit yang berperan penting dalam proses penghambatan *Aspergillus niger*.
3. Perlu dilakukan pengujian langsung pada produk pangan seperti roti, guna mengetahui potensi penggunaanya sebagai agen biopreservatif alami pada kondisi nyata.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Bakr, H.A., El-Sahn, M.A., & El-Banna, A.A. (2013). Screening of Tannase-Producing Fungi Isolated from Tannin-Rich Sources. *International Journal of Agriculture and Food Research*. 2(3), 1-12.
- Adetitun, D.O., Laba, S.A., Anibijuwon, L.L., & Ahmed, S., (2015). Sensivity Pattern of Some Antifungal Drugs on Fungi Isolated from Soil. *Ilorin Journal of Science*. 2(2), 317-323.
- Ali, M. A. M., Mohamad Riza, N. S., Hamdan, M. N., & Ariffin, M. F. (2023). Food safety in Halalan Tayyiban discourse according to Mufassirin. *International Journal of Academic Research in Business and Social Sciences*, 13(8), 210-219.
- Aranceta, J., Rodrigo, C. P., Majem, L. S., Barba, L. R., Izquierdo, J. Q., Vioque, J., Marí, J. T., Verdú, J. M., González, J. L., & Tojo, R. (2003). Prevalencia De La Obesidad En España: Resultados Del Estudio Seedo. *Medicina Clínica*, 120(16), 608–612.
- Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Rejiniemon, T. S., Lee, K. D., Huxley, V. A. J., Kim, D. H., & Kim, S. J. (2013). Determination of antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* metabolites against food-borne fungi. *Food Control*, 34(2), 405–412.
- Arasu, V.M., Al-Dhabi, N.A., Soundharrajan, I., & Choi, K.C. (2015). In vitro Importance of Probiotic *Lactobacillus plantarum* Related to Medical Field. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 23(1). S6-S10
- Ariyana, M. D., Amaro, M., Werdiningsih, W., Sari, E. N., & Pratama, A. W. (2018). Penambahan bakteri asam laktat untuk meningkatkan kualitas, keamanan dan daya simpan roti. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 4(2), 333–342.
- Arsoy, E.S., Gül, L.B., Çon, A.H. (2022). Characterization and Selection of Potential Antifungal Lactic Acid Bacteria Isolated from Turkish Spontaneous Sourdough. *Curr. Microbiol.* 79, 148-156.
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of Microbiological Media*. CRC Press: New York
- Axel, C., Brosnan, B., Zannini, E., Furey, A., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2016). Antifungal activities of lactic acid bacteria and their metabolites against food spoilage fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 54–63
- Axelsson, L. (2004). *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology*. CRC Press: New York.
- Balan, B., Dhanya, P. V., Chandran, M., & Jose, A. (2024). Aflatoxins in food: Prevalence, health effects, and emerging trends in its mitigation—An updated review. *Food Safety and Health*, 2(1), 39–71.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Bellaouchi, R., Abouloifa, H., Rokni, Y., Hasnaoui, A., Ghabbour, N., Hakkou, A., & Asehrou, A. (2024). Improving Dietary Citric Acid Production by the Wild-type *Aspergillus niger* ASP26 Strain Isolated from Date By-Product. *Food Science & Nutrition*, 12(6), 4084.

- Black, B. A., Hegeman, M. A., & Smiley, S. (2013). Hydroxy Fatty Acids from Sourdough Fermentation Inhibit Fungal Growth in Bread Systems. *Journal of Cereal Science*, 58(2), 357–364. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.006>
- Breton, D.A., Lopez, E.M., Palou, E., Malo, A.L. (2020). Antimicrobial Activity and Storage Stability of Cell-Free Supernatants from Lactic Acid Bacteria and Their Applications With Fresh Beef. *Journal of Food Control*. 115 (1): 1-11
- Brunton, L.L., Hilal-Dandan, R., Knollmann, B.C. (2018). *Goodman & Gilman's: Dasar Farmakologi Terapi (edisi ke-13)*. New York: McGraw-Hill Education.
- Cahyani, W. K. D., Widodo, R., & Wardah. (2024). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Sourdough Terhadap Sifat Fisik dan Mikrobiologi Pada Roti Tawar. *Jurnal Heuristic*, 21(1), 101-112
- Crowley, S., Mahony, J., & van Sinderen, D. (2013). Current Perspectives on Antifungal Lactic Acid Bacteria as Natural Bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 33(2), 93–109.
- Dijksterhuis, J. (2019). Fungal Spores: Highly Variable and Stress-Resistant Vehicles for Distribution and Spoilage. *Food Microbiology*, 81, 2–11.
- Dopazo, V., Illeuce, F., Luz, C., & Musto, L. (2023). Evaluation of Shelf Life and Technological Properties of Bread Elaborated with Lactic Acid Bacteria Fermented Whey as a Bio-preservation Ingredient. *LWT*, 174(2):114427
- Filannino, P., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2018). Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: get out of the labyrinth. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.016>
- Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollán, G., & Valdez, G.F. (2013). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 34(2), 585–589. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.05.003>
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Calasso, M. (2023). Lactic Acid Bacteria in Sourdough Fermentation: Functional and Technological Aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 134, 123–135.
- Guo, T., Yang, G., Xie, S., Wang, H., & Mo, Y. W. (2023). Isolation, identification, biological characteristics, and antifungal efficacy of sodium bicarbonate combined with natamycin on *Aspergillus niger* from Shengzhou nane (*Prunus salicina*) fruit. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1075033.
- Hasan, A., Wikandari, P.R., (2018). Penentuan Waktu Produksi Optimum Bakteriosin dari *Lactobacillus Plantarum* B1765 Berdasarkan Aktivitas Penghambatannya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Chemistry*, 7(1):15-16.
- Hernández-Figueroa, R.H., Mani-López E., & López-Malo A. (2023). Antifungal Activity of Wheat-Flour Sourdough (Type II) from Two Different *Lactobacillus* in Vitro and Bread. *Appl. Food Res.* 3,100319.
- Hernández-Figueroa, R.H., Mani-López E., Ramirez-Corona., & López-Malo A. (2024b). Optimizing Lactic Acid Bacteria Proportions in Sourdough to Enhance Antifungal Activity and Quality of Partially and Fully Baked Bread. *Foods*, 13, 2318: 1-19.

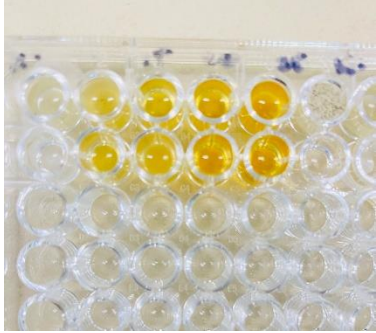
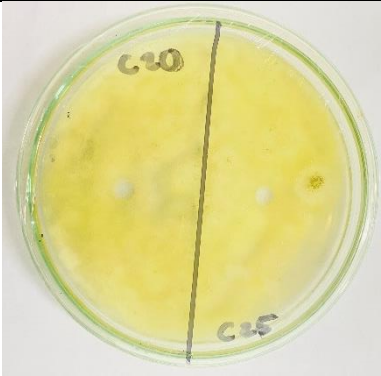
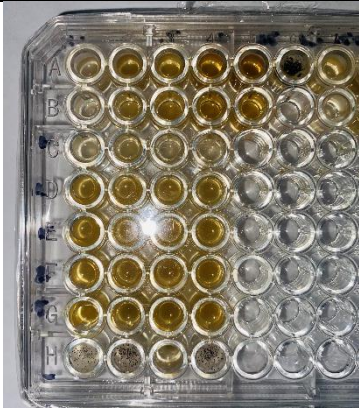
- Hernández-Figueroa, R.H., Morales-Camacho, J.I., Mani-López E., López-Malo A. (2024). Assessment of Antifungal Activity of Aqueous Extracts and Protein Fractions from Sourdough Fermented by *Lactiplantibacillus plantarum*. *Future Foods*, 100314.
- Hidayatulloh, A., Gumilar, J., & Harlia, E. (2019). Potensi senyawa metabolit *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 sebagai bahan biopreservasi dan antibakteri pada bahan pangan asal hewan. *JITP*. 7(2), 1-6.
- Houssni, I.E., Khedid, K., Zahidi, A., Hassikou, R. (2023). The Inhibitory Effects of Lactic Acid Bacteria Isolated from Sourdough on the Mycotoxigenic Fungi Growth and Mycotoxins from Wheat Bread. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50(102702), 1-19.
- Jaber, S. H., Ali, A. J., & Abbas, M. F. (2025). Storage insects as vectors of *Aspergillus* species and aflatoxin producers in Iraq. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 56(1), 123–135. <https://doi.org/10.36103/ijas.v56i1.1980>
- Jorgensen., J. H., & Ferraro., M. J. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary. Practices. *Clinical Infectious Diseases*. 49(11):1749–55.
- Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, 10(2), 165.
- Krishnamurthi VR, Niyonshuti II, Chen J, Wang Y (2021) A new analysis method for evaluating bacterial growth with microplate readers. *PLoS ONE*. 16(1), 1-19.
- Kumar, A., & Shukla, R. (2020). Optimization of Potato Dextrose Broth medium for growth and sporulation of fungi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(2), 1234–1241.
- Kumari, S., Singh, P., & Kumar, R. (2025). Post-flood *Aspergillus* contamination and aflatoxin risk in stored grains of Bihar, India. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1503535.
- Lafuente, C., Nazareth, M., Dopazo, V., Meca, G., & Luz, C. (2023). Preparation of Sourdoughs Fermented with Isolated Lactic Acid Bacteria and Characterization of Their Antifungal Properties. *Foods*, 12(286), 1-18
- Lasram, S., Hamdi, Z., Chenenaoui, S., Mliki, A., & Ghorbel, A. (2016). Comparative study of toxigenic potential of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* isolated from barley as affected by temperature, water activity and carbon source. *Journal of Stored Products Research*, 69, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2016.06.004>
- Latif, A., Hassan, N., Ali, H., Niazi, M. B. K., Jahan, Z., Ghuman, I. L., Hassan, F., & Saqib, A. (2025). An overview of key industrial product citric acid production by *Aspergillus niger* and its application. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 52, kuaf007.
- Lavermicocca P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni. (2000). Purification and characterization of antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 4084–4090.

- Liu, A., Xu, R., Zhang, S., Wang, Y., Hu, B., (2022). Antifungal Mechanisms and Application of Lactic Acid Bacteria in Bakery Products: A Review. *Frontiers*, 13(924398), 1-12.
- Lisu, M., Larasati, A., & Rahman, A. (2023). Identifikasi Jamur *Aspergillus* sp pada Roti Tawar Setelah Melewati Masa Kadaluarasa Selama Tiga Hari di Daerah Antang Kota Makassar. *Jurnal Penelitian Inovatif*, 3(2), 465–470. <https://doi.org/10.54082/jupin.190>
- Ma, M., Li, A., Feng, J., Wang, Z., Jia, Y., Ma, X., Ning, Y. (2024). Antifungal mechanism of *Lactiplantibacillus plantarum* P10 against *Aspergillus niger* and its in-situ biopreservative application in Chinese steamed bread. *Food Chem.* 449, 139181.
- Magvirah, T., Marwati, & Ardhani, F. (2019). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2), 41–50.
- Mahato, D. K., Lee, K. E., Kamle, M., Devi, S., Dewangan, K. N., Kumar, P., & Kang, S. G. (2019). Aflatoxins in food: An overview on prevalence, detection and control strategies. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2266.
- Mizana, D. K., Suharti, N., & Amir, A. (2016). Identifikasi pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp. pada roti tawar yang dijual di Kota Padang berdasarkan suhu dan lama penyimpanan. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(2), 430–436.
- Muhalidin, B. J., & Hassan, Z. (2021). Antifungal activity of lactic acid bacteria and their metabolites against food spoilage fungi. *Food Control*, 121, 107630. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107630>
- Munira, M., & Nasir, M. (2023). Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dari geothermal Ie Seum Aceh Besar terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan*, 4(2), 179–185.
- Murtafi'ah, N., Sapitri, N., & Pitono, A. J. (2021). Identifikasi *Aspergillus* sp. pada roti tawar sebelum masa kadaluarsa di Pasar Burungtungku Kota Bandung. *Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains*, 9(2), 122–130.
- Myers, P., Espinosa, R., Parr, C. S., Jones, T., Hammond, G. S., & Dewey, T. A. (2026). *The Animal Diversity Web*. Accessed at <https://animaldiversity.org>
- Natasia, N., Jannah, S. N., & Rukmi, M. G. I. (2020). Potensi Antifungi Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung Terhadap Kapang *Aspergillus flavus*. *Bioma*, 22(1), 91–103.
- Nguyen, T. C., Hoang, T. T., & Nguyen, H. H. (2025). Evaluation of Anti-*Aspergillus flavus* Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Vietnamese Fermented Cocoa Beans. *Microbiol. Res*, 16(1110), 1-11.
- Nudyanto, A., & Zubaidah, E. (2015). Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Dari Kimchi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 743–748
- Oleinikova Y, Amangeldi A, Zhaksylyk A, Saubenova M, Sadanov A. (2025). Sourdough Microbiota for Improving Bread Preservation and Safety: Main Directions and New Strategies. *Foods*. 14(14): 2443.
- Pérez-Alvarado, O., Zepeda-Hernández, A., García-Amezquita, L. E., Requena, T., Vinderola, G., & García-Cayuela, T. (2022). Role of lactic acid bacteria and yeasts in sourdough fermentation during breadmaking: Evaluation of

- postbiotic-like components and health benefits. *Frontiers in Microbiology*, 13, 969460.
- Perfect, J. R. (2017). The antifungal pipeline: a reality check. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(9), 603–616. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.46>
- Pfaller, M.A., & Diekema, D.J. (2012). Progress in Antifungal Susceptibility Testing of *Candida* spp. And *Aspergillus* spp. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 264-292.
- Rahman, A., Amiruddin, H., & Yusuf, R. (2023). Identifikasi Jamur pada Roti Tawar Kedaluwarsa di Makassar. *Jurnal Penelitian Kesehatan Indonesia*, 15(2), 87–94.
- Ramadhanti, N., Melia, S., Hellyward, J., & Purwati, E. (2021). Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Palm Sugar from West Sumatra, Indonesia and their Potential as a Probiotic. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 22(5), 51-63.
- Rao, R. S., Bhaduri, S., & Satyanarayana, T. (2019). Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from fermented foods against mycotoxigenic fungi. *Journal of Food Safety*, 39(5), e12671. <https://doi.org/10.1111/jfs.12671>
- Rautemaa-Richardson, R., & Richardson, M. D. (2017). Systemic fungal infections. *Medicine*, 45(12), 757–762. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2017.09.009>
- Rizzello, C. G., Cassone, A., Coda, R., & Gobetti, M. (2011). Antifungal Activity of Sourdough Fermented Wheat Germ Used as an Ingredient For Bread Making. *Food Chemistry*, 127(3), 952–959.
- Rolfe, M. D., Rice, C. J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, ADS, (2012). Lag Phase Is a Distinct Growth Phase That Prepares Bacteria for Exponential Growth and Involves Transient Metal Accumulation. *Journal of Bacteriology*. 194:686–701.
- Russo, P., Arena, M. P., Fiocco, D., Capozzi, V., & Spano, G. (2017). *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. *International Journal of Food Microbiology*, 247, 48–54.
- Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Sadeghi, B., Mortazavi, S. A. (2019). Evaluation of safety and antifungal activity of *Lactobacillus reuteri* and *Pediococcus diacetylactis* isolates against aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 22(2), 190–199.
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H. W., & Frisvad, J. C. (2014). Phylogeny, Identification and Nomenclature of the Genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78, 141–173.
- Sanggramasari, S. (2018). Penggunaan Air Fermentasi Strawberry Sebagai Natural Starter dalam Pembuatan Soft Roll. *Barista: Jurnal Kajian Bahasa Dan Pariwisata*, 5(2). 215-221.
- Sangjin, K. (2012). *Rahasia Membuat Roti Sehat & Lezat dengan Ragi Alami*. Yogyakarta: Indonesia Tera.
- Sharah, A., Aminah, A., & Hajar, S.A., (2015). Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Foods Against Food Spoilage Fungi. *International Food Research Journal*. 22(2), 712-718.
- Shihab, Q. (2012). *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati

- Siregar, A.F., Sabdono, A., dan Pringgenies, D. (2012). Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research* 1(2): 152-160.
- Stevenson, K., McVey, A. F., Clark, I. B., Swain, P. S., & Pilizota, T. (2016). Generalizable Model-Based Calibration of Optical Density. *Scientific Reports*, 6(2), 1-12.
- Subagiyo, S., Margino, S., Triyanto, T., Setyati, W., & Pramesti, R. (2016). Metode Sederhana dan Cepat untuk Skrining Bakteri Asam Laktat Penghasil Bakteriosin (Antimicrobial Peptide) dari Intestinum. *Buletin Oseanografi Marina*, 5(2), 97-100.
- Susilowati, D. N., & Haryono, U. (2018). Penghambatan pertumbuhan *Aspergillus* spp. oleh bakteri endofit, *Agrobacterium*. 14(1), 47–54.
- Tokarzowski, S., Ziolkowska, G., & Nowakiewicz, A. (2012). Antifungal Activity of Selected Lactid Acid Bacteria Againsts Moulds. *Postepy Mikrobiologii*, 51(3), 213-220.
- Wahyudi, V.A., Sintya, A.A., & Mochammad, W. (2022). Kajian Efektivitas Temperatur dan Waktu Proofing (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Sifat Fisikokimia, Mikrobiologi, dan Organoleptik Roti Manis. *J. Sains Dan Teknologi Pangan* 7(1): 4640–55.
- Wang., Y., Wu, J., Mengxin., Shao, Z., Hungwe, M., (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Front Bioeng Biotechnol*. 9:1–19.
- White, T. C., Findley, K., Dawson, T. L., & Scheynius, A. (2014). Fungi on the skin: Dermatophytes and Malassezia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4(8), a019802.
- Yoshimi, A., Miyazawa, K., & Abe. (2016). Cell Wall Structure and Biogenesis in *Aspergillus* species. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 122(1), 1-7.
- Yu, J., Zhang, H., Liu, Y., Wang, X., & Chen, L. (2024). Antifungal Activity and Mechanism of *Lactobacillus plantarum* Derived Metabolites Against *Aspergillus niger*. *Food Chemistry*, 449, 139181.
- Yu, R., Liu, J., Wang, Y., Wang, H., & Zhang, H. (2021). *Aspergillus niger* as a Secondary Metabolite Factory. *Frontiers in Chemistry*, 9, Article 701022.
- Yusriyani, A. D & Yulastuti, R. K. (2023). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Miana Merah (*Coleus benth*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Yamas Makassar*. 7(1): 14-21.
- Zhang, S.B., Qin, Y.L., Li, S.F., Zhai, H.C., Hu, Y.S. & Cai, J.P. (2021). Antifungal Mechanism of 1-nonanol Against *Aspergillus flavus* Growth Revealed by Metabolomic Analyses. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 5(105), 7871–7888.
- Zhang, X., Li, B., Wang, Y., Guo, Q., & Lu, X. (2019). Elucidation of the growth process of *Penicillium digitatum* on potato dextrose agar. *Microorganisms*, 7(11), 485.
- Zhao, S.; Hao, X.; Yang, F.; Wang, Y.; Fan, X.; Wang, Y. (2022). Antifungal Activity of *Lactobacillus plantarum* ZZUA493 and Its Application to Extend the Shelf Life of Chinese Steamed Buns. *Foods*, 11, 195.

Lampiran 1 Dokumentasi penelitian

 Peremajaan kapang uji	 Peremajaan <i>Lactobacillus plantarum</i>
 Percobaan pengujian zona hambat KHM pertama kali	 Pengambilan CFS <i>Lactobacillus plantarum</i>
 Percobaan pengujian zona hambat	 Percobaan pengujian KHM

Lampiran 2 Hasil Uji Daya Hambat

Kode	Gambar	Keterangan
K+		(kanan)
K-		(kiri)
C10S20		(kanan)

C15S15

(kiri)

C20S20

(kanan)

C25S5

(kiri)

Lampiran 3 SPSS Uji Zona Hambat

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.73480312
Most Extreme Differences	Absolute	.099
	Positive	.078
	Negative	-.099
Test Statistic		.099
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
hambat	Based on Mean	10.379	5	18	.000
	Based on Median	7.345	5	18	.001
	Based on Median and with adjusted df	7.345	5	8.969	.005
	Based on trimmed mean	9.945	5	18	.000

3. OneWay ANOVA

ANOVA

hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	452.209	5	90.442	11.912	.000
Within Groups	136.666	18	7.593		
Total	588.875	23			

4. Uji Tukey HSD

			hambat			
			Subset for alpha = 0.05			
	Perlakuan	N	1	2	3	4
Tukey HSD ^a	6.0	4	.00000			
	2.0	4	2.32500			
	3.0	4	3.87500	3.87500		
	1.0	4	5.15000	5.15000		
	4.0	4		8.56875	8.56875	
	5.0	4			13.28125	
	Sig.		.137	.205	.202	
Duncan ^a	6.0	4	.00000			
	2.0	4	2.32500	2.32500		
	3.0	4	3.87500	3.87500		
	1.0	4		5.15000	5.15000	
	4.0	4			8.56875	
	5.0	4				13.28125
	Sig.		.075	.186	.096	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Lampiran 4 Data Hasil Zona Hambat

Perlakuan	Ulangan	Hambat	Mean	Std
C10S20	1	5,35	5,15	1,052774
	2	3,75		
	3	6,3		
	4	5,2		
C15S15	1	5,1	2,325	2,269178
	2	0,9		
	3	3,2		
	4	0,1		
C20S10	1	3,35	3,875	2,488808
	2	1,9		
	3	2,75		
	4	7,5		
C25S5	1	4,75	8,56875	5,287224
	2	3,325		
	3	13,7		
	4	12,5		
K(+)	1	13,4	13,28125	2,26912
	2	12,7		
	3	16,25		
	4	10,775		
K(-)	1	0	0	0
	2	0		
	3	0		
	4	0		

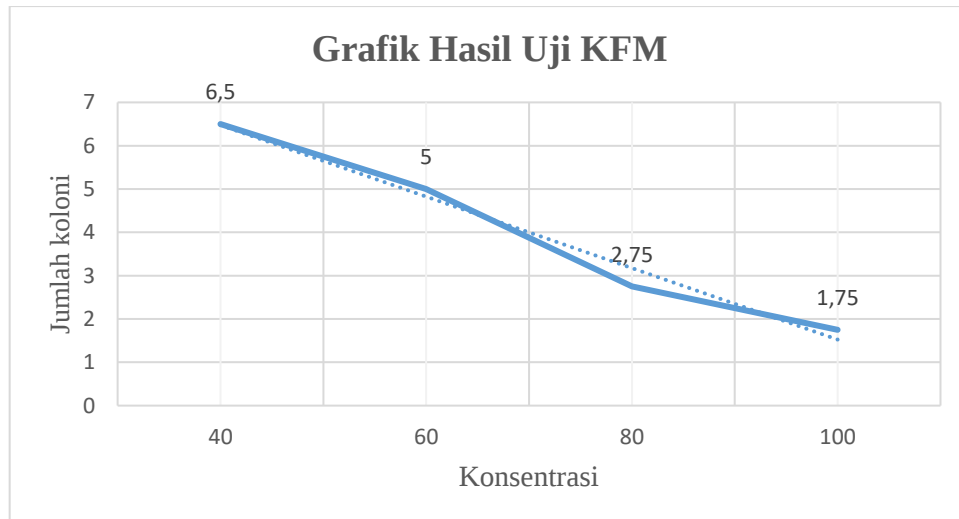
Cara perhitungan rumus zona hambat:

$$\text{Zona hambat} = \frac{(\text{Diameter vertical} - r) + (\text{Diameter vertical} - r)}{2}$$

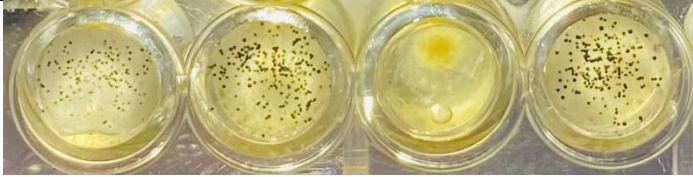
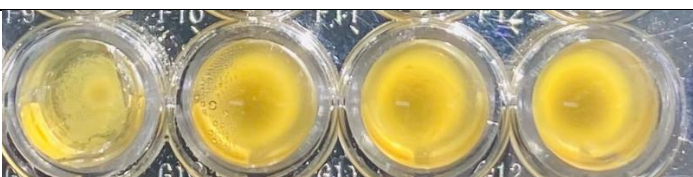
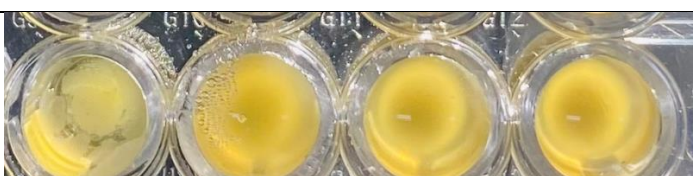
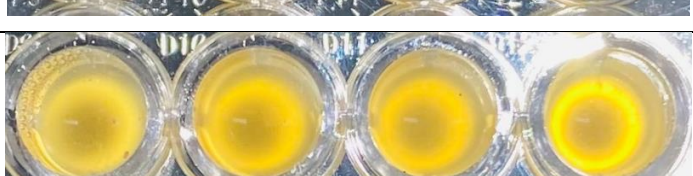
$$\text{C10S20 ulangan 1: } \frac{(14,5 - 6,5) + (9,55 - 6,5)}{2}$$

$$\text{Zona hambat: } \frac{7,65 + 3,05}{2}$$

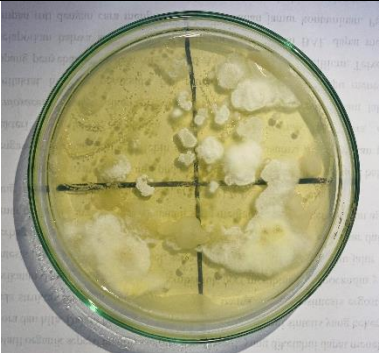
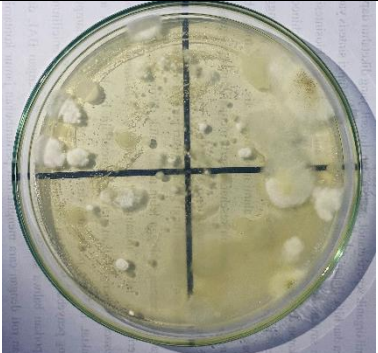
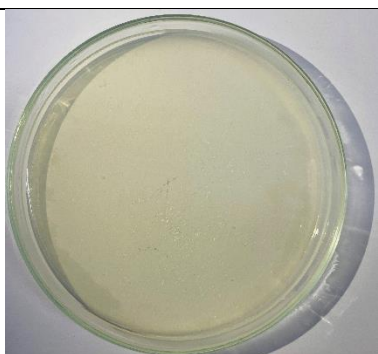
Zona hambat rata-rata = 5,35 mm

Lampiran 5 Grafik Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada uji KFM

Lampiran 6 Hasil Uji KHM

Perlakuan	Ulangan
K-	
20%	
40%	
60%	
80%	
100%	
K+	

Lampiran 7 Hasil Uji KFM

 Konsentrasi 100%	 Konsentrasi 80%
 Konsentrasi 60%	 Konsentrasi 40%
 Kontrol Nagatif (-)	 Kontrol Positif (+)



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 220602110038
Nama : RIZKA FADILLA NAILA SA'ADAH
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si
Dosen Pembimbing 2 : Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Uji Aktivitas Antifungi Sourdough dengan Penambahan Isolat *Lactobacillus plantarum* terhadap *Aspergillus* sp

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	10 September 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Konsultasi judul penelitian	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
2	18 September 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Presentasi Jurnal acuan	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
3	30 September 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Presentasi Judul Skripsi	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
4	07 Oktober 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	revisi proposal penelitian	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	13 Oktober 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	bimbingan mengenai integrasi sains dan qur'an serta tata cara kepenulisan	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	23 Oktober 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Revisi Bab 2	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	29 Oktober 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	ACC BAB I, II, III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	21 April 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Konsultasi Hasil penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	27 April 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Bimbingan BAB III, IV dan V	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	30 April 2026	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Bimbingan Integrasi Agama BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	07 Mei 2026	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	ACC Bab 4 integrasi	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	08 Mei 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	ACC BAB 4 dan 5	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag

Malang, _____
Dosen Pembimbing 1

Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si

Kajur / Kaprodi,

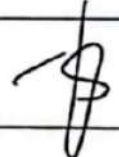


KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Rizka Fadilla Naila Sa'adah
NIM : 220602110038
Judul : Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Starter Sourdough dan *Lactobacillus plantarum* sebagai Agen Antifungi terhadap *Aspergillus niger*

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	24%	

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si

NIP. 19671113 199402 2 001