

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PENGHASIL
EKSOPOLISAKARIDA DARI STARTER SOURDOUGH DENGAN
PENAMBAHAN AIR FERMENTASI APEL MANALAGI (*Malus sylvestris*
Mill.)**

SKRIPSI

**OLEH
ROHMATUL ILMIA
NIM. 220602110030**



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

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PENGHASIL
EKSOPOLISAKARIDA DARI STARTER SOURDOUGH DENGAN
PENAMBAHAN AIR FERMENTASI APEL MANALAGI (*Malus sylvestris*
Mill.)**

SKRIPSI

**OLEH
ROHMATUL ILMIA
NIM. 220602110030**

**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 : Rohmatul Ilmia
NIM : 220602110030
Program Studi : Biologi
Judul Penelitian : IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PENGHASIL EKSOPOLISAKARIDA DARI
STARTER SOURDOUGH DENGAN
PENAMBAHAN AIR FERMENTASI APEL
MANALAGI (*Mallus Sylvestris* Mill.)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan penguji pada tanggal 12 Juni 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 : Ir. Liliek Hariane, A.R., M.P
NIP. 19620901199803 2 001

()

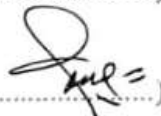
Pembimbing II : Dr. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPPPK. 198211202025 211035

()

Tim Penguji : Prof. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509199903 2 002

(Ketua) ()

: Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 19900428 202321 2 037

(Anggota) ()


Prof. Dr. Remo Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamualaikum Wr. Wb

Dengan penuh rasa syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, nikmat, dan pertolongan-Nya, sehingga skripsi yang berjudul : “IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PENGHASIL EKSOPOLISAKARIDA DARI STARTER SOURDOUGH DENGAN PENAMBAHAN AIR FERMENTASI APEL MANALAGI (*Mallus sylvestris* Mill)” dapat terselesaikan dengan baik. Karya ini penulis persembahkan dengan penuh rasa hormat, cinta dan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta, Ayah Asmu'i dan ibu Khomsiati yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, dukungan, pengorbanan, serta motivasi tanpa henti kepada penulis.
2. Adik-adik tersayang, Masrifah Nabilatul Ilmiah dan Hikmah Mawar Dini, yang senantiasa memberikan semangat, doa, dan warna dalam perjalanan penulis menyelesaikan Pendidikan.
3. Ir. Hj. Liliek Harianie, A.R.,M.P, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, pemikiran dengan penuh kesabaran dalam memberikan arahan, bimbingan, serta motivasi selama proses penyusunan.
4. Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.i, selaku dosen pembimbing agama, yang telah meluangkan waktu, tenaga, memberikan arahan, serta ilmu yang bermanfaat selama proses penyusunan integrasi keilmuan dalam penelitian.
5. Dr. Muhammad Saefi, M.Pd selaku dosen wali yang telah memberikan arahan, dukungan, serta bimbingan akademik selama masa perkuliahan.
6. Abah Dr. Junaedi, M.Pd.I. dan Ustadzah Dr. Mamlu'atul Hasanah, M.Pd. selaku pengasuh Yayasan Pondok Pesantren Darul Hikmah, yang senantiasa mendoakan, membimbing, dan mengarahkan penulis sehingga dapat tetap istiqomah dalam menuntut ilmu dan menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman Pondok Pesantren Darul Hikmah yang telah memberikan dukungan, semangat, doa, serta kebersamaan yang berharga selama proses menuntut ilmu dan penyusunan skripsi ini.
8. Ais, Putri, Ulfa dan Zilvia selaku teman-teman seperjuangan yang selalu hadir memberikan semangat, dukungan, doa, serta menjadi tempat berbagi cerita dan suka duka selama masa perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
9. Teman-teman Biologi Angkatan 2022 dan keluarga besar kelas Biologi Dewa, terima kasih atas kebersamaan, dukungan, pengalaman, canda serta perjuangan yang telah dilalui bersama selama masa perkuliahan
10. Terakhir, untuk diri sendiri, terima kasih karena telah bertahan, berjuang, dan tidak menyerah dalam menghadapi berbagai proses, tantangan, serta keterbatasan selama penyusunan skripsi ini.

. Terima kasih penulis ucapkan, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kemajuan ilmu di masa depan. Amiiin

Wassalamualaikum Wr.Wb

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“ Karena sesungguhnya Bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan ”

"Tidak harus berlari, berjalan pun tidak apa-apa, asalkan tidak berhenti."

~Anonim

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rohmatul Ilmia
NIM : 220602110030
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Identifikasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan 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 di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 Juni 2026
Yang membuat pernyataan,

Rohmatul Ilmia
NIM. 220602110030



PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun bersifat terbuka untuk umum dengan tetap memperhatikan hak cipta yang dimiliki oleh penulis. Pencatatan Daftar Pustaka diperkenankan, sedangkan pengutipan hanya dapat dilakukan atas izin penulis dan wajib mencantumkan sumber sesuai kaidah Ilmiah.

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PENGHASIL
EKSOPOLISAKARIDA DARI STARTER SOURDOUGH DENGAN
PENAMBAHAN AIR FERMENTASI APEL MANALAGI (*Malus sylvestris*
Mill.)**

Rohmatul Ilmia, Liliek Harianie, M. Mukhlis Fahrudin

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

ABSTRAK

Sourdough merupakan adonan roti yang difermentasi secara alami oleh konsorsium mikroorganisme, terutama bakteri asam laktat (BAL) dan ragi. Salah satu senyawa metabolit yang dihasilkan BAL adalah eksopolisakarida (EPS), yang berperan dalam peningkatan viskositas, tekstur, serta stabilitas adonan, sekaligus memiliki nilai fungsional bagi kesehatan. Produksi EPS sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya jenis mikroba dan substrat fermentasi yang digunakan. Air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) berpotensi menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhan BAL karena mengandung gula sederhana, asam organik, dan nutrisi lain yang mendukung aktivitas fermentasi dalam starter sourdough. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida (EPS) dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). Metode yang digunakan meliputi proses fermentasi apel secara alami selama lima hari, pembuatan starter sourdough dengan campuran tepung gandum utuh dan air fermentasi apel selama 10 hari, dilanjutkan dengan isolasi BAL pada media *de Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA). Proses isolasi yang dilakukan berhasil memperoleh enam isolat bakteri dengan kode SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, dan SA-6. Selanjutnya isolat tersebut dilakukan karakterisasi melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia serta pengujian potensi eksopolisakarida (EPS) kasar. Berdasarkan hasil pengujian, isolat SA-4 dan SA-2 menunjukkan produksi EPS tertinggi masing masing sebesar 3.715 mg/L dan 3.515 mg/L. Kedua isolat tersebut kemudian diidentifikasi menggunakan metode MALDI-TOF MS dan menunjukkan hasil identifikasi sebagai *Lactobacillus pentosus*/*Lactobacillus plantarum*/*Lactobacillus paraplantarum*.

Kata kunci: Bakteri asam laktat, eksopolisakarida, air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill), sourdough, MALDI-TOF MS.

IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA PRODUCING OF EXOPOLYSACCHARIDES FROM SOURDOUGH STARTER WITH THE ADDITION OF MANALAGI APPLE (*Malus sylvestris* Mill) FERMENTATION WATER

Rohmatul Ilmia, Liliek Harianie, M. Mukhlis Fahrudin

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

ABSTRACT

Sourdough is a bread dough naturally fermented by a consortium of microorganisms, primarily lactic acid bacteria (LAB) and yeast. One of the metabolites produced by LAB is exopolysaccharide (EPS), which plays a role in enhancing the viscosity, texture, and stability of the dough, while also offering functional health benefits. EPS production is greatly influenced by various factors, one of which is the type of microbes and fermentation substrate used. Fermented water from Manalagi apples (*Malus sylvestris* Mill.) has the potential to serve as a nutrient source for LAB growth because it contains simple sugars, organic acids, and other nutrients that support fermentation activity in the sourdough starter. This study aims to isolate and identify exopolysaccharide (EPS)-producing lactic acid bacteria from sourdough starters with the addition of Manalagi apple fermentation water (*Malus sylvestris* Mill.). The methods used included natural apple fermentation for five days, preparation of sourdough starter using a mixture of whole wheat flour and apple fermentation water for ten days, followed by LAB isolation on de Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA) medium. The isolation process successfully yielded six bacterial isolates designated SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5 and SA-6. Subsequently these isolates were characterized through macroscopic and microscopic observation, biochemical tests and crude exopolysaccharide (EPS) potential testing. Based on the test results, isolates SA-4 and SA-2 showed the highest EPS production at 3715 mg/L and 3515 mg/L, respectively. These two isolates were then identified using the MALDI-TOF MS method and were identified as *Lactobacillus pentosus*/*Lactobacillus plantarum*/*Lactobacillus paraplantarum*

Keywords: Lactic acid bacteria, exopolysaccharides, Manalagi apple (*Malus sylvestris* Mill), fermentation liquid, sourdough, MALDI-TOF MS

تحديد البكتيريا المنتجة لحمض اللاكتيك والإكسبوليسكاريد من خميرة العجين المخمر مع إضافة ماء (*Malus sylvestris* Mill.) تخمير تفاح مانالاغي

رحمة العلمي، ليليك هارياني، محمد مخلص فخر الدين

قسم علم الاحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك ابراهيم الاسلامية الحكومية مالانج

الملخص

العجين المخمر هو عجينة خبز تخمر طبيعياً بواسطة مجموعة من الكائنات الدقيقة، خاصة بكتيريا حمض اللاكتيك ، التي تلعب دوراً في (EPS) هي الكائنات الخارجية BAL والخميرة واحدة من المركبات المستقبلية المهمة التي ينتجها بشكل كبير بنوع EPS زيادة لزوجة العجينة ولمسها واستقرارها، مع وجود قيمة وظيفية للصحة. يتأثر إنتاج لديه القدرة (*Malus sylvestris* Mill.) الميكروبات والركائز المخمرة المستخدمة. الماء المخمر لتفاح مانالاغي لأنه يحتوي على سكريات بسيطة وأحماض عضوية BAL على أن يكون مصدراً للتلقيح والعناصر الطبيعية لنمو ومغذيات أخرى تدعم النشاط التخميري. تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتحديد بكتيريا حمض اللاكتيك المنتجة للحمض (*Malus sylvestris* Mill.) من بادئ العجين المخمر مع إضافة ماء مخمر من تفاح مانالاغي (EPS) الخارجي تشمل الطرق المستخدمة عملية تخمير التفاح بشكل طبيعي لمدة سبعة أيام، وتحضير بادئ العجينة المخمرة على (BAL) بمزيج من دقيق القمح الكامل وماء التفاح المخمر، تليها عزل البكتيريا الحمضية اللبنية (sourdough) SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, و SA-6. وسط مانه روجوزا شارب (MRSA) وسط مانه روجوزا شارب بعد ذلك، تم إجراء توصيف لهذه العزلات من خلال الملاحظة. بناءً على نتائج الاختبارات، أظهر العزلان (EPS) الماكروسكوبية والمجهريّة والاختبارات الكيميائية الحيوية وكذلك اختبار القدرة على إنتاج السكريات الخارجية أعلى إنتاج للسكريات الخارجية، حيث كان الإنتاج SA-2 و SA-4 الخام. بناءً على نتائج الاختبارات، أظهر العزلان وأظهرت MALDI-TOF MS على التوالي 3715 ملغ/ل و 3515 ملغ/ل. ثم تم تحديد هذه العزلات باستخدام طريقة *Lactobacillus pentosus/Lactobacillus plantarum/Lactobacillus paraplantarum* نتائج التعريف أنها تنتمي إلى

الكلمة المفتاحية : بكتيريا حمض اللاكتيك، اكسوبوليسكاريد، ماء تخمير تفاح مانالاغي، عجينة الخميرة

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warrahmatullahi Wabarokatuh

Bismillahirrahmanirrahim. Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)”. Penyusunan skripsi ini tidak dapat terwujud tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nur Diana, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. H. Agus Mulyono, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P dan Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I, selaku Dosen Pembimbing yang telah membimbing dan memberikan arahan kepada kami dalam pelaksanaan penyusunan proposal.
5. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan arahan dan masukan kepada penulis dalam melakukan rencana penelitian.
6. Keluarga tercinta khususnya kedua orang tua dan adik yang senantiasa menjadi sumber doa, semangat serta dukungan bagi penulis
7. Teman-teman Angkatan 2022 dan teman sekelas Biologi Dewa yang telah memberikan doa, dukungan dan motivasi kepada penulis.

Penulis berharap laporan ini dapat memberikan manfaat bagi diri penulis sendiri maupun para pembacanya. Penulisan laporan ini masih jauh dari kata sempurna sehingga saran dan kritik yang membangun sangat dibutuhkan penulis untuk perbaikan dalam menulis laporan di kemudian hari.

Wassalamualaikum Wr.Wb

DAFTAR ISI

HALAMAN COVER	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
المخلص.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.5 Batasan Masalah	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Sourdough.....	12
2.1.1 Sejarah Sourdough	12
2.1.2 Mikroba dalam Sourdough	13
2.1.3 Fermentasi Sourdough.....	16
2.2 Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	19
2.2.1 Deskripsi dan Karakteristik Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	19
2.2.2 Kandungan Nutrisi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.).....	21
2.3. Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	23
2.4 Tepung Gandum Utuh.....	25

2.5 Fermentasi Dalam Perspektif Al-Qur'an	27
2.6 Bakteri Asam Laktat	31
2.6.1 Karakteristik Bakteri Asam Laktat	31
2.6.2 Klasifikasi Bakteri Asam Laktat	32
2.6.3 Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida	36
2.7 Eksopolisakarida (EPS)	38
2.7.1 Definisi dan Klasifikasi EPS	38
2.7.2 Jalur Biosintesis EPS pada BAL	40
2.7.3 Faktor yang Mempengaruhi Eksopolisakarida (EPS)	43
2.7.4 Manfaat EPS dalam Sourdough	46
2.8 MALDI-TOF	47
2.8.1 Prinsip Kerja MALDI-TOF	47
2.8.2 Kelebihan dan Kekurangan MALDI-TOF MS	49
BAB III METODE PENELITIAN	52
3.1 Rancangan Penelitian	52
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	52
3.3 Alat dan Bahan	52
3.3.1 Alat	52
3.3.2 Bahan	53
3.4 Prosedur Penelitian	53
3.4.1 Koleksi Sampel	53
3.4.2 Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	54
3.4.3 Pembuatan Starter sourdough Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	54
3.4.4 Tahap Pembuatan Media	55
3.4.5 Sterilisasi Alat dan Bahan	57
3.4.6 Tahap Isolasi dan Purifikasi BAL Penghasil EPS	57
3.4.7 Identifikasi Karakteristik Bakteri Asam Laktat penghasil EPS ..	58
3.4.8 Tahap Uji Biokimia	59
3.4.9 Screening Isolat BAL penghasil EPS	61
3.4.10 Uji Produksi EPS Kasar	61
3.4.11 Uji MALDI-TOF	62
3.5 Analisis Data	62
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	65
4.1 Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.) ..	65

4.1.1 Identifikasi Makroskopis Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	65
4.1.2 Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill)	67
4.1.3 Uji Biokimia Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill) ..	70
4.2 Kemampuan Produksi Eksopolisakarida Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill)	75
4.2.1 Uji Screening Produksi Eksopolisakarida Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	75
4.2.2 Uji Produksi EPS kasar Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill)	77
4.2.3 Identifikasi MALDI-TOF MS isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough Penambahan air fermentasi apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill) dengan Kemampuan Potensi Terbaik Sebagai Penghasil Eksopolisakarida Kasar	81
4.3 Kajian Hasil Penelitian dengan Perspektif Al-Qur'an.....	84
BAB V PENUTUP.....	86
DAFTAR PUSTAKA	88
DAFTAR LAMPIRAN	101

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	22
Tabel 2.2 Kandungan Nutrisi Tepung Gandum.....	26
Tabel 2.3 Kandungan Mikronutrient Tepung Gandum.....	27
Tabel 4. 1 Morfologi Koloni Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Maluus sylvestris</i> Mill.)	66
Tabel 4. 2 Hasil Identifikasi Mikroskopis Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Mallus sylvestris</i> Mill.)	68
Tabel 4. 3 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Mallus sylvestris</i> Mill.)	71
Tabel 4. 4 Hasil Identifikas MALDI-TOF MS Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Mallus sylvestris</i> Mill.)	81

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tipe Fermentasi Sourdough	18
Gambar 2. 2 Buah Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill).....	21
Gambar 2. 3 Klasifikasi Eksopolisakarida.....	40
Gambar 2. 4 Biosintesis Eksopolisakarida	42
Gambar 2. 5 Alur Kerja Identifikasi Mikroba dengan MALDI-TOF	49
Gambar 4.1 Hasil Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada media MRSA+CaCO ₃	66
Gambar 4. 2 Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL).....	68
Gambar 4. 3 Pewarnaan Endospora Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL).....	70
Gambar 4. 4 Morfologi Makroskopis Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)	76
Gambar 4. 5 Kadar Eksopolisakarida (EPS) Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)	78

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji pH Air Fermentasi Apel Manalagi (<i>Mallus sylvestris</i> Mill.)	101
Lampiran 2. Hasil Uji pH Starter Sourdough	102
Lampiran 3. Hasil Purifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)	103
Lampiran 4. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)	105
Lampiran 5. Hasil Uji Motilitas Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)	107
Lampiran 6. Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)	109
Lampiran 7. Hasil Uji Eksopolisakarida Kasar Isolat Bakteri Asam Laktat	111
Lampiran 8. Perhitungan Nilai Eksopolisakarida Kasar	113
Lampiran 9. Perhitungan dengan Rumus Nilai Eksopolisakarida Kasar	114
Lampiran 10. Hasil Identifikasi Isolat Menggunakan MSLDI-TOF MS	115
Lampiran 11. Jurnal Bibimbing Skripsi	116
Lampiran 12. Form Checklist Plagiasi	118

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produk pangan fermentasi semakin mendapat perhatian karena tidak hanya berfungsi sebagai sumber energi, tetapi juga memiliki nilai fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan. Salah satu produk fermentasi tradisional yang saat ini banyak dikaji adalah sourdough. Sourdough merupakan campuran dari tepung dan air yang diolah melalui proses fermentasi alami yang melibatkan konsorsium mikroba (Arora *et al.*, 2021). Sourdough memiliki cita rasa asam yang khas serta mengandung bakteri asam laktat (BAL) dan ragi sebagai mikroba dominan. Selain kedua kelompok mikroorganisme tersebut, bakteri asam asetat juga dapat ditemukan meskipun dalam jumlah yang relatif lebih sedikit (Pérez-Alvarado *et al.*, 2022)

Selama proses fermentasi starter sourdough, metabolit utama yang dihasilkan BAL adalah asam laktat yang menurunkan pH dan memberi cita rasa asam khas. Khamir berperan dalam pengembangan adonan melalui produksi CO₂ dan alkohol serta ester. Bakteri asam asetat (BAA) juga dapat hadir sebagai mikrobiota dalam jumlah yang sedikit, terutama jika adonan mengandung bahan tambahan seperti buah. Bakteri asam asetat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat yang dapat meningkatkan keasaman aroma sourdough, dan beberapa BAA (misalnya *Lactobacillus sanfranciscensis*) mampu memproduksi fruktan atau polimer lain yang turut memengaruhi tekstur remah (Vuyst *et al.*, 2021)

Bakteri asam laktat dan khamir diketahui mampu menghasilkan metabolit yaitu eksopolisakarida (EPS). Khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces boulardii* telah dilaporkan memiliki kemampuan menghasilkan

Eksopolisakarida (Goktas *et al.*, 2025; Franco *et al.*, 2023). Namun demikian, hasil pengukuran yield eksopolisakarida (EPS) khamir *Saccharomyces servazzii* rendah, yaitu kurang dari 1% sedangkan kelompok bakteri asam laktat (BAL) menunjukkan kemampuan produksi EPS yang lebih tinggi yaitu *Pediococcus pentosaceus* (2%) pada media yang mengandung sukrosa, fruktosa, dan pati, *Lactococcus lactis* (1,8–2%) pada sukrosa, fruktosa, dan laktosa, tetapi tidak menghasilkan EPS pada media berpati. Selain itu, *Lactobacillus plantarum* menghasilkan yield 1,5% pada sukrosa dan fruktosa, sedangkan *Enterococcus faecium*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides*, dan *Weissella cibaria* menghasilkan EPS dengan yield sekitar 1% (Franco *et al.*, 2020). Menurut Galle & Arendt, (2013) bakteri asam laktat lebih banyak dipelajari sebagai penghasil EPS pada sistem sourdough karena produksi EPS selama fermentasi sourdough umumnya dikaitkan dengan aktivitas bakteri asam laktat.

Di sisi lain, Bakteri asam laktat telah lama diakui sebagai mikroorganisme penghasil EPS utama dalam sourdough. Hal ini didukung oleh fakta bahwa rasio populasi BAL terhadap khamir dalam sourdough umumnya mencapai 100:1, yang secara langsung mencerminkan dominasi aktivitas metabolik BAL dalam sistem fermentasi tersebut (Sha *et al.*, 2023). Berbagai spesies BAL seperti *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella cibaria*, dan *Fructilactobacillus sanfranciscensis* telah terbukti menghasilkan EPS dalam jumlah yang lebih besar dan beragam secara struktural, meliputi dextran, fructan, dan glukan, yang masing-masing memberikan kontribusi nyata terhadap perbaikan tekstur, volume spesifik, dan masa simpan produk roti (Tieking & Ganzle, 2005; Sha *et al.*, 2023). Dalam sintesis EPS, BAL memanfaatkan sumber karbon seperti sukrosa, glukosa, dan fruktosa untuk

mendukung pertumbuhan serta biosintesis eksopolisakarida (EPS). Sukrosa berperan sebagai substrat utama dalam pembentukan homopolisakarida, sedangkan glukosa dan fruktosa digunakan sebagai prekursor pembentukan heteropolisakarida (Angelin & Kavitha, 2020).

Studi oleh Palomba *et al.*, (2012) melaporkan bahwa kehadiran eksopolisakarida (EPS) ini memberikan kontribusi terhadap peningkatan sifat viskoelastis adonan. Menurut Korcz & Varga, (2021), eksopolisakarida (EPS) berkontribusi terhadap peningkatan volume dan sifat reologi roti, menghasilkan remah yang lebih lembut, serta mengurangi laju pengerasan (*staling*) sehingga umur simpan produk menjadi lebih panjang. Hal ini disebabkan oleh kemampuan EPS dalam mengikat air dan menghambat retrogradasi pati, yang berperan dalam mempertahankan kelembutan tekstur roti selama penyimpanan. Selain itu, EPS berpotensi digunakan sebagai alternatif hidrokoloid sintetis dalam pembuatan roti untuk mengurangi penggunaan aditif pangan.

Wulansari *et al.*, (2023) menyebutkan bahwa eksopolisakarida memiliki berbagai manfaat dalam bidang kesehatan, di antaranya sebagai anti tumor, anti inflamasi, antikarsinogenik, antioksidan, imunomodulator, serta berperan dalam menurunkan kadar kolesterol darah. Manfaat tersebut menjadikan EPS sebagai komponen fungsional yang tidak hanya bernilai teknologi pangan tetapi juga berdampak positif bagi kesehatan konsumen. Hal ini sejalan dengan anjuran Islam mengenai konsumsi pangan yang baik dan memberikan kemaslahatan bagi kesehatan sebagaimana dijelaskan dalam QS. Al-Maidah [5]:88 sebagai berikut:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا ۚ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ

Artinya: “Makanlah apa yang telah Allah anugerahkan kepadamu sebagai rezeki yang halal lagi baik, dan bertakwalah kepada Allah yang hanya kepada-Nya kamu beriman” (QS. Al-Maidah [5]:88)

Tafsir Al-Munir menjelaskan bahwa dalam QS. Al-Maidah ayat 88, Allah menyerukan kepada orang-orang yang beriman untuk mengonsumsi makanan yang halal dan baik sebagai rezeki yang telah dianugerahkan-Nya, baik yang berasal dari darat maupun laut serta baik dari protein nabati maupun hewani guna menunjang aktivitas kehidupan. Dalam tafsir ini juga menjelaskan bahwa Allah melarang mengonsumsi benda-benda yang haram seperti bangkai, darah, dan daging babi atau makanan haram yang diperoleh dengan cara yang haram (Az-Zuhaili, 2016). Tsani *et al.*, (2021) menyatakan bahwa dalam konteks halal, diartikan sebagai makanan dan minuman yang diperbolehkan untuk dikonsumsi menurut syariat islam. Adapun *thayyib* mengacu pada makanan dan minuman yang tidak hanya halal, tetapi juga baik bagi kesehatan, memberikan manfaat bagi tubuh, serta tidak membahayakan atau menyebabkan penyakit.

Konsep *thayyib* tidak hanya berkaitan dengan kehalalan bahan pangan tetapi juga mencakup kualitas keamanan, dan manfaat pangan bagi kesehatan. Dalam penelitian ini, pemanfaatan air fermentasi apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.) sebagai bahan tambahan dalam pembuatan starter sourdough mencerminkan upaya pengembangan pangan fermentasi alami yang memiliki nilai fungsional dan berkualitas melalui aktivitas bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida. Selain itu, proses fermentasi yang melibatkan mikroorganisme serta metabolit yang

dihasilkannya juga merupakan bentuk pemanfaatan rezeki Allah secara optimal karena dapat memberikan manfaat bagi pangan dan kesehatan.

Produksi eksopolisakarida (EPS) oleh bakteri asam laktat (BAL) dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik yang berasal dari mikroba itu sendiri maupun dari lingkungan sekitarnya. Faktor intrinsik meliputi jenis dan konsentrasi substrat yang digunakan, kondisi fermentasi, serta spesies bakteri asam laktat (BAL) yang terlibat, karena setiap spesies memiliki kemampuan metabolisme dan kapasitas sintesis eksopolisakarida (EPS) yang berbeda (Lawalata *et al.*, 2024). Selain itu, kondisi seperti pH medium, tahap perkembangan sel, serta ketersediaan nutrisi termasuk sumber karbon dan nitrogen, dapat memengaruhi laju pertumbuhan BAL dan produksi polisakarida (Hizrah *et al.*, 2023).

Kuantifikasi eksopolisakarida (EPS) dapat dilakukan dengan berbagai metode, di antaranya gravimetri, kolorimetri, kromatografi, mikroskopi, dan spektroskopi inframerah dekat (NIRS). Di antara metode-metode tersebut, gravimetri merupakan metode yang paling sederhana dan paling umum digunakan untuk estimasi kadar EPS secara kasar, yaitu dengan menimbang berat kering endapan EPS yang diperoleh melalui presipitasi menggunakan etanol dingin. Metode ini tidak membutuhkan peralatan canggih, mudah dilakukan, dan relatif ekonomis, sehingga banyak diterapkan dalam penelitian skrining awal produksi EPS oleh BAL (Yadav *et al.*, 2024). Hal ini juga didukung oleh Fuso *et al.* (2023) yang menyatakan Gravimetri merupakan pendekatan paling sederhana untuk mengkuantifikasi produksi EPS karena tidak memerlukan peralatan khusus dan dapat langsung diterapkan pada hasil ekstraksi EPS dari supernatan bebas sel.

Beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa sari buah dapat berfungsi sebagai substrat yang efektif dalam produksi EPS oleh BAL. Puspawati *et al.* (2022) melaporkan penambahan jus raspberry dapat meningkatkan produksi eksopolisakarida (EPS) oleh *Lactobacillus plantarum*. Produksi EPS tertinggi diperoleh pada konsentrasi substrat buah 35% dengan kadar sebesar 3.928 mg/L, sedangkan pada kontrol yaitu *Lactobacillus plantarum* yang ditumbuhkan dalam media MRSB hanya mencapai 984 mg/L. Sejalan dengan hal tersebut, Zubaidah (2014) membandingkan produksi EPS pada media sari kurma dan sari murbei, dan menemukan bahwa EPS yang dihasilkan pada media sari kurma secara signifikan lebih tinggi yaitu *L. casei* (3.413,33 mg/L), *L. plantarum* (3.316,67 mg/L), dibandingkan media sari murbei yaitu *L. casei* (813,33 mg/L) dan *L. plantarum* (770,00 mg/L).

Guérin *et al.*, (2023) mengevaluasi produksi EPS oleh *Weissella cibaria* dan *Leuconostoc pseudomesenteroides* pada medium berbasis buah tropis. Pada medium berbasis buah, mangga memberikan hasil terbaik dengan *W. cibaria* 21 mencapai 527 mg ekuivalen glukosa/cawan sedangkan nanas menghasilkan EPS yang lebih rendah berkisar 56–445 mg ekuivalen glukosa/cawan. Sebaliknya, medium pepaya tidak mendukung produksi EPS, yang diduga akibat adanya senyawa penghambat alami dalam pepaya.

Kandungan gula dalam buah terbukti dapat menjadi sumber karbon yang mendukung pertumbuhan BAL sekaligus biosintesis EPS, sebagaimana telah dibuktikan pada penelitian menggunakan substrat sari buah, raspberry, kurma dan mangga (Puspawati *et al.*, 2022; Zubaidah, 2014; Guerin *et al.*, 2023). Buah apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) merupakan salah satu jenis apel lokal Malang

yang memiliki tekstur lebih keras dibandingkan varietas apel lainnya, dengan ketersediaan yang melimpah dan harga yang terjangkau (Putri *et al.*, 2022). Apel manalagi diketahui memiliki kandungan total gula yang cukup tinggi, yaitu sebesar $14,19 \pm 1,18$ g/100 ml (Prasetyo & Anwar, 2024), dengan persentase gula total mencapai 13,9% (Fitriyah *et al.*, 2019). Kandungan gula tersebut terdiri atas berbagai jenis gula sederhana, di antaranya fruktosa 4,5 g, sukrosa 4,54 g, dan glukosa 3,72 g per 100 gram buah, dengan gula pereduksi sebesar 6,96 g dan gula reduksi sebesar 6,25% (Widodo *et al.*, 2019; Sa'adah & Estiasih, 2015; Putri *et al.*, 2022)

Beberapa penelitian telah mengkaji penggunaan apel dalam fermentasi sourdough. Gordun *et al.* (2014) melaporkan bahwa penggunaan bahan tambahan yang berbeda dalam pembuatan sourdough, yakni sari buah apel, anggur, dan yoghurt, menghasilkan karakteristik fermentasi yang berbeda-beda. Sourdough berbasis apel dan anggur menunjukkan keragaman spesies BAL yang lebih tinggi, meliputi *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, dan *L. sakei*, dibandingkan sourdough berbasis yoghurt yang hanya didominasi oleh *Pediococcus pentosaceus*. Selain itu, sourdough berbasis apel terbukti mampu mempercepat proses pematangan adonan yang menghasilkan kadar asam laktat sekitar 1,0 g/100 g dengan rasio molar asam laktat terhadap asam asetat sekitar 2,5, sehingga dianggap sebagai alternatif starter yang efektif dan kaya mikroorganisme.

Kajian lebih lanjut terhadap varietas apel lokal dilakukan oleh Manshur *et al.* (2023) yang membandingkan air fermentasi dari empat varietas apel Malang yaitu Manalagi, Wang Lin, Anna, dan Rome Beauty sebagai starter alami sourdough. Hasil penelitian menunjukkan bahwa air fermentasi apel manalagi

(*Malus sylvestris* Mill.) menghasilkan kondisi fermentasi terbaik dengan pH 4,5, TTA sebesar 2,72 mL NaOH, populasi khamir sebesar $26,2 \times 10^9$ CFU/mL, dan populasi BAL sebesar 56×10^9 CFU/mL. Sejalan dengan hal tersebut, Xing (2024) melaporkan bahwa sourdough fermentasi spontan yang ditambahkan air fermentasi apel mengandung rata-rata BAL sebesar 7,92 log CFU/g dan khamir sebesar 5,84 log CFU/g, dengan *Lactobacillus plantarum* teridentifikasi sebagai spesies BAL dominan melalui sekuensing 16S rDNA.

Ketiga penelitian tersebut secara konsisten membuktikan bahwa sourdough berbasis apel mampu menghasilkan populasi dan keragaman BAL yang tinggi, namun belum ada yang mengkaji secara spesifik potensi BAL tersebut dalam menghasilkan EPS maupun identifikasi spesies BAL penghasil EPS-nya. Proses identifikasi BAL dilakukan menggunakan metode MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*). Metode MALDI-TOF MS *fingerprinting* merupakan alternatif yang efektif terhadap sekuensing gen 16S rRNA karena mampu menghasilkan identifikasi yang lebih cepat, dan ekonomis dibandingkan metode konvensional berbasis karakterisasi biokimia maupun morfologi sel (Adelkader *et al*, 2021). Selain itu MALDI-TOF MS mampu memproses banyak sampel sekaligus (*high throughput*) serta identifikasi bakteri dapat diselesaikan dalam waktu kurang dari satu jam dibandingkan metode konvensional yang memerlukan 24 hingga 48 jam (Hou *et al.*, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida (EPS) yang berasal dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) menggunakan

metode MALDI-TOF MS. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui kemampuan produksi EPS dari isolat BAL yang diperoleh melalui uji skrining dan metode gravimetri. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kadar eksopolisakarida (EPS) kasar yang dihasilkan oleh masing-masing isolat bakteri asam laktat (BAL) serta mengetahui spesies BAL yang berpotensi sebagai penghasil EPS.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik isolat bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida (EPS) yang diperoleh dari sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) berdasarkan identifikasi makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia?
2. Bagaimana kemampuan produksi dan kadar eksopolisakarida (EPS) kasar pada isolat bakteri asam laktat (BAL) serta identifikasi isolat dengan produksi EPS tertinggi berdasarkan analisis MALDI-TOF ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengkarakterisasi isolat bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida (EPS) yang diperoleh dari sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) berdasarkan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia.
2. Menentukan kemampuan produksi eksopolisakarida (EPS) melalui uji screening serta menghitung kadar eksopolisakarida (EPS) kasar yang dihasilkan oleh masing-masing isolat BAL dan mengidentifikasi Isolat dengan produksi EPS tertinggi menggunakan MALDI-TOF

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menambah pengetahuan mengenai keberadaan dan karakteristik bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida (EPS) yang berasal dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.).
2. Memberikan dasar ilmiah bagi pemanfaatan air fermentasi buah sebagai sumber nutrisi tambahan untuk mikroba dalam pembuatan sourdough.
3. Hasil penelitian ini berpotensi menjadi referensi bagi pengembangan starter sourdough berbasis bahan lokal, yang mengandung bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida (EPS) dengan kemampuan meningkatkan tekstur, kelembutan, dan viskoelastisitas adonan. Dengan demikian, penelitian ini dapat berkontribusi pada pengembangan produk pangan fungsional khas Indonesia yang bernilai tambah dan lebih ramah lingkungan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Fokus penelitian terbatas pada isolasi, identifikasi, dan kuantifikasi EPS yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida (EPS) dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dan tidak meneliti khamir dan bakteri asam asetat
2. Penelitian tidak mengevaluasi pengaruh eksopolisakarida (EPS) terhadap sifat fisik atau organoleptik roti sourdough.
3. Hanya isolat BAL yang mampu tumbuh pada media MRSA yang dianalisis lebih lanjut meliputi pengamatan makroskopis, mikroskopis dan Uji Biokimia

serta isolat dengan kadar eksopolisakarida (EPS) kasar tertinggi dilanjutkan dengan uji MALDI-TOF.

4. Penelitian ini tidak menganalisis kandungan kimia dan mikrobiologis fermentasi apel yang meliputi kadar gula, asam organik, dan komposisi mikroba.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sourdough

2.1.1 Sejarah Sourdough

Pembuatan roti merupakan salah satu keterampilan tertua manusia yang telah ada sejak sekitar 14.400 tahun lalu, berakar dari masa Neolitik di Asia dan berkembang pada peradaban kuno sekitar abad ke-26 SM. Pada awalnya, seluruh jenis roti beragi dibuat melalui proses fermentasi alami. Namun, seiring munculnya industrialisasi dalam produk roti praktik fermentasi alami mulai jarang digunakan. Namun, belakangan ini roti sourdough yang menggunakan fermentasi alami kembali mengalami peningkatan popularitas baik dalam skala industri, roti artisan maupun pembuatan rumahan. Meskipun dalam prosesnya berbeda, tetapi inti dari pembuatannya tetap terletak pada starter yaitu kultur mikroorganisme alami yang kompleks (Calvert *et al.*, 2021).

Sourdough mulai dikenal luas pada pertengahan abad ke-19. Meskipun penggunaannya dalam pembuatan roti telah ada sejak zaman kuno dan menjadi salah satu bentuk fermentasi tertua yang dikenal manusia. Starter sourdough berfungsi sebagai pengembang alami yang berperan penting dalam proses fermentasi adonan melalui aktivitas mikroorganisme seperti ragi dan bakteri asam laktat (BAL). Tradisi pembuatan roti gandum dengan menggunakan sourdough masih dipertahankan di sejumlah negara Eropa. Di Spanyol, terutama di wilayah Catalonia praktik ini tetap populer di kalangan pembuat roti hingga saat ini (Gordon *et al.*, 2014).

2.1.2 Mikroba dalam Sourdough

Starter sourdough merupakan adonan yang terbuat dari campuran tepung dan air. Kedua bahan ini kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan mengalami proses fermentasi sehingga menghasilkan produk akhir dengan rasa yang asam. Secara umum, starter sourdough ini digunakan untuk pembuatan roti namun selain itu dapat digunakan juga sebagai bahan dasar pembuatan makanan yang berbahan dasar sereal lainnya (Bartkiene *et al.*, 2019). Menurut Costantini *et al.*, (2023) menyatakan starter sourdough dapat diaplikasikan menjadi produk pizza yang bahan dasarnya sereal. Pembuatan pizza dari starter sourdough ini terbukti dapat meningkatkan kualitas gizi dan daya cerna ketika dikonsumsi.

Starter sourdough terdapat konsorsium mikroba yang kompleks. Namun mikroba yang dominan yaitu bakteri asam laktat (BAL) dan ragi yang hidup berdampingan di dalamnya. Ragi tersebut dapat beradaptasi dalam lingkungan yang asam akibat dari metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL). Meskipun ragi termasuk mikroba yang dominan di dalam starter ini, namun jumlahnya terbilang rendah jika dibandingkan dengan bakteri asam laktat (BAL) (Bartkiene *et al.*, 2019).

Mikroba yang dapat ditemukan dalam sourdough meliputi 50 spesies bakteri asam laktat (BAL) dengan genus *Lactobacillus* yang paling dominan dan 20 spesies ragi yang berasal dari genus *Saccharomyces* dan *Candida*. Konsorsium mikroba dalam sourdough dapat dipengaruhi oleh dua faktor yaitu eksternal dan internal. Faktor eksternal dapat disebabkan oleh suhu sedangkan faktor internal berasal dari adonan itu sendiri seperti penambahan garam, jumlah dan komposisi starter, dan penambahan bahan lainnya. Perbandingan antara BAL dan ragi dalam sourdough

umumnya 100:1. Pada fermentasi sourdough tipe I (tradisional) umumnya BAL heterofermentatif yang ditemukan paling banyak dalam sourdough (Vuyst & Neysens, 2005)

Keragaman mikroba yang berasal dari berbagai jenis sourdough di seluruh dunia ini meliputi 60 spesies BAL dan 30 spesies ragi yang keberadaannya telah teridentifikasi. BAL yang dapat ditemukan berasal dari genus *Lactobacillus* yaitu *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. hammesii* yang termasuk dalam Obligat Heterofermentatif. Selain itu juga ditemukan *L. paralimentarius*, *L. sakei*, *L. pentosus*, *L. curvatus*, *L. plantarum* yang merupakan bakteri fakultatif heterofermentatif dan *L. salivarius* serta *L. sakei* yang merupakan bakteri homofermentatif. Sedangkan dari 30 spesies ragi tersebut yang biasanya umum ditemukan yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania humilis*, *Kazachstania exigua*, *Pichia kudriavezii*, dan *Torulaspora delbrueckii* Selain BAL dan ragi, terdapat bakteri asam asetat (BAA) yang biasanya berasal dari genus *Acetobacter*, *Gluconobacter* dan *Komagataeibacter* (Carbonetto *et al.*, 2020).

Interaksi antara BAL dan ragi dapat berbeda-beda dalam lingkungan starter sourdough. Perbedaan tersebut disebabkan oleh pengaruh satu spesies terhadap spesies lain. Asosiasi dapat disebut sebagai sinergisme jika populasi mikroba cenderung meningkat dengan adanya spesies lain, dikatakan antagonis jika populasi mikroba menurun dan dapat netral jika tidak ada perubahan. Contoh spesies *L. sanfranciscensis* merupakan mikroba dalam starter sourdough yang dapat memetabolisme *maltose* kemudian melepaskan dan mengakumulasi glukosa di dalam medium. Dengan demikian ragi maltosa-negatif seperti *C. milleri* atau *S. exiguus* tetap memperoleh sumber makanannya sehingga populasinya tidak

terpengaruh oleh kehabisan sumber nutrisinya. Sebaliknya adanya sukrosa yang dapat dihidrolisis oleh ragi dapat menghasilkan sumber karbon bagi bakteri asam laktat (BAL) dan menstimulasi pertumbuhannya. Keberadaan CO₂ yang dihasilkan ragi juga dapat meningkatkan pertumbuhan BAL seperti *L. sanfranciscensis* dan *L. plantarum* karena dapat menciptakan kondisi lingkungan anaerob yang mendukung metabolismenya. *S. cerevisiae* juga mampu mengonsumsi asam laktat sehingga menimbulkan deasidifikasi lingkungan sourdough (Martín-garcia & López-tamames, 2021).

Interaksi dalam starter sourdough juga dijelaskan oleh (Arena *et al.*, 2020) yang menyatakan bahwa *L. sanfranciscensis* memfermentasi gula dalam adonan dengan menghasilkan asam laktat, asam asetat, dan ethanol sehingga menurunkan pH sekitar 3,5. pH tersebut menyebabkan kondisi asam yang menghambat sebagian besar ragi roti termasuk *S. cerevisiae* kecuali *C. milleri* yang ternyata diuntungkan oleh ketidakmampuan ragi lain dalam memetabolisme nutrisi. Sebaliknya, *C. milleri* menyediakan asam amino bebas dan nutrisi lain yang diperlukan oleh *L. sanfranciscensis*. Hal ini juga didukung oleh Sieuwerts *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa *L. sanfranciscensis* mendapatkan stimulasi pertumbuhan dari senyawa yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae*. Dalam penelitiannya kedua mikroba tersebut ditumbuhkan dalam media MRSA secara berdekatan dan setelah diinkubasi menunjukkan bahwa *L. sanfranciscensis* pertumbuhannya tampak lebih besar jika dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan pada *L. plantarum* tidak menunjukkan hal yang serupa sehingga dapat disimpulkan bahwa interaksi yang terjadi tersebut bersifat spesifik antara bahwa *L. sanfranciscensis* dan *S. cerevisiae*.

S. cerevisiae terbukti berperan penting dalam menstimulasi pertumbuhan *L. sanfranciscensis* pada tahap awal fermentasi sourdough melalui dua mekanisme yaitu produksi CO₂ dan O₂ dalam lingkungan adonan. Gas CO₂ yang dihasilkan ragi tidak hanya berfungsi untuk mengembangkan adonan melainkan juga menciptakan kondisi anaerob atau mikroaerofilik yang dapat menguntungkan bagi pertumbuhan BAL. Dalam percobaan menunjukkan bahwa sel *L. sanfranciscensis* pada adonan aerob hanya mencapai sekitar 10^{5.7} g⁻¹ pada adonan standar dan 10^{5.4} g⁻¹ pada adonan yang disebar, sedangkan pada adonan anaerob meningkat menjadi sekitar 10^{6.4} g⁻¹. Pertumbuhan tertinggi terjadi pada adonan yang dikultur bersama *S. cerevisiae* aktif respirasi, yaitu mencapai 10^{6.7} g⁻¹, sementara pada adonan dengan ragi non-respiring (*rip IΔ*) hanya mencapai sekitar 10^{6.0} g⁻¹ (Sieuwerts *et al.*, 2018)

2.1.3 Fermentasi Sourdough

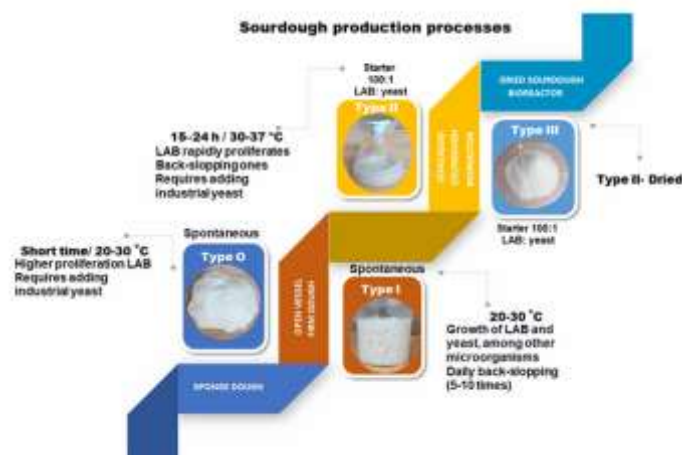
Proses fermentasi sourdough dapat dibedakan berdasarkan jenis inokulasi dan teknik fermentasinya. Berdasarkan jenis inokulasinya terdapat tiga tipe yaitu tipe I, tipe II dan tipe III. Dari ketiga tipe ini memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Pada tipe I, fermentasi dilakukan dengan spontan pada suhu ruang menggunakan mikroba alami yang terdapat pada tepung, air bahkan lingkungan. Mikroba tersebut kemudian akan berkembang seiring dengan berjalannya proses fermentasi dengan memanfaatkan nutrisi yang terdapat dalam tepung serta dilakukan proses penambahan bahan baru backslopping. Tipe II yaitu fermentasi dilakukan penambahan kultur starter mikroba (Akamine *et al.*, 2023). Penambahan kultur starter mikroba bisa berasal dari bakteri asam laktat (BAL) saja atau bisa ditambahkan dengan ragi (Blaiotta *et al.*, 2022). Penelitian Siepmann *et al.*, (2022) menyatakan bahwa pemilihan spesies kultur BAL perlu diperhatikan agar mendapat

hasil akhir yang diinginkan. Spesies *L. Amylovorus*, *L. brevis*, dan *P. pentosaceus* merupakan bakteri asam laktat yang menghasilkan karakteristik yang baik pada sourdough meliputi aroma, produksi ester yang sesuai, kadar alkohol dan asam karboksilat rendah serta tanpa adanya pembentukan senyawa yang tidak diinginkan. Sedangkan *L. reuteri* juga menunjukkan hasil akhir yang baik berupa nilai *Fermentation Quotient* (FQ) yang sesuai tanpa menghambat pertumbuhan ragi dan menghasilkan senyawa volatil yang baik. Sedangkan fermentasi tipe III dilakukan dengan gabungan dari tipe I dan II serta banyak digunakan pada bidang industri.

Fermentasi sourdough berdasarkan teknik fermentasinya dibagi menjadi empat yaitu tipe O, I, II, dan III. Pada tipe O dilakukan dengan cara yang spontan dan dengan durasi waktu yang singkat. Namun ternyata dengan waktu fermentasi yang singkat, tidak cukup untuk menghasilkan starter khas sourdough yang diinginkan sehingga hasil dari fermentasi tipe O ini disebut sebagai “sponge dough”. Pada kenyataannya proses dalam fermentasi sourdough ini bermacam-macam. Hal tersebut terjadi tergantung pada bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan sourdough seperti yoghurt, buah-buahan atau bahan lainnya (Akamine *et al.*, 2023).

Fermentasi sourdough pada tipe I menurut Pérez-Alvarado *et al.*, (2022) merupakan sourdough yang diproses dengan menggunakan metode backslopping yaitu proses inokulasi berulang pada suhu rendah (20–24°C). Dalam metode ini, sebagian adonan dari fermentasi sebelumnya (*mother dough*) digunakan untuk menumbuhkan adonan baru yang berisi tepung dan air segar yang biasanya dilakukan setiap 6-24 jam. Proses ini dapat dilakukan terus menerus selama bertahun-tahun. Dalam fermentasi tipe I ini, mengandung campuran ragi dan BAL

yang sangat beragam namun kekurangannya yaitu metode ini tidak cocok jika digunakan dalam skala industri karena prosesnya memakan waktu yang lama. Sedangkan pada fermentasi sourdough tipe II adonan difermentasi menggunakan strain bakteri tertentu. Biasanya pada tipe ini inkubasi berlangsung selama 15-20 jam dan tekstur adonannya lebih cair dan fermentasinya dilakukan dalam bioreaktor sehingga dapat diproduksi dalam skala industri. Sourdough tipe III merupakan bentuk hasil fermentasi tipe II yang kemudian dikeringkan melalui metode seperti *spray drying* atau *drum drying*. Proses ini menghasilkan kultur yang stabil, tahan lama, dan mudah disimpan maupun diangkut, sehingga cocok untuk produksi roti berskala industri. Strain bakteri asam laktat (BAL) yang digunakan, seperti *Levilactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus*, dan *Lactiplantibacillus plantarum*, dipilih karena kemampuannya menghasilkan asam dan senyawa aroma khas. Sementara itu, sourdough tipe IV menggabungkan penggunaan kultur starter BAL dengan proses backslopping tradisional seperti pada tipe I.. Tipe IV ini menggabungkan keunggulan kontrol fermentasi dari starter dengan keragaman alami dari fermentasi spontan.



Gambar 2. 1 Tipe Fermentasi Sourdough
(Akamine *et al.*, 2023)

Bakteri asam laktat (BAL) homofermentatif memfermentasi heksosa hampir seluruhnya menjadi asam laktat melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) dan tidak mampu memfermentasi pentosa maupun glukonat. Sementara itu, bakteri asam laktat (BAL) fakultatif heterofermentatif sebagian besar memfermentasi heksosa menjadi asam laktat melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) dan memiliki aktivitas enzim aldolase serta fosfoketolase, sehingga mampu memfermentasi tidak hanya heksosa tetapi juga pentosa dan sering kali glukonat. Dalam kondisi terdapat glukosa, aktivitas enzim pada jalur fosfoglukanat akan tertekan (repressed). Sementara itu, BAL obligat heterofermentatif memfermentasi heksosa melalui jalur fosfoglukanat dan menghasilkan laktat, etanol, asam asetat, serta CO₂. Pentosa juga dapat difermentasi melalui jalur yang sama. Di sisi lain, ragi yang bersimbiosis dengan BAL dalam sourdough bersifat *Crabtree-positive*, artinya mereka tetap dapat memfermentasi heksosa meskipun terdapat oksigen selama kadar glukosa mencukupi (Carbonetto *et al.*, 2020).

2.2 Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

2.2.1 Deskripsi dan Karakteristik Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) merupakan salah satu varietas apel yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia terutama di wilayah Malang, Jawa Timur (Kusumiyati *et al.*, 2021). Daerah ini dikenal sebagai pusat produksi apel nasional dengan pusat budidaya utamanya yaitu di kota Batu dan kecamatan Pujon, Kabupaten Malang (Safira *et al.*, 2021). Selain itu menurut Iqbal *et al.*, (2020) menyatakan bahwa penyebaran apel Manalagi tidak hanya terbatas pada dua wilayah tersebut, melainkan juga meliputi daerah Poncokusumo dan kecamatan

Bumiaji yang memiliki ketinggian serta suhu udara ideal bagi perkembangan tanaman apel.

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) ini memiliki karakteristik yang berbeda dari apel lainnya. Jika dilihat dari morfologinya, apel ini memiliki kulit berwarna hijau sedikit kemerahan dengan daging buah berwarna putih (Kusumiyati *et al.*, 2021). Arnetty& Yusuf (2025) menyatakan bahwa Apel Manalagi dikenal memiliki aroma yang khas dan harum yang menjadi daya tarik utamanya. Kulit buahnya halus dengan pori-pori yang jarang, sementara rasanya manis bahkan sebelum benar-benar matang, serta tidak terasa asam. Tidak hanya itu, daging buahnya berwarna putih, agak berair, dan bertekstur agak kenyal dan renyah. Biji buahnya berukuran pendek dengan bentuk bulat dan berwarna cokelat tua.

Secara morfologis, buah apel varietas Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) ini memiliki bentuk bulat dengan diameter berkisar 4-7 cm dan berat sekitar 75-160 gram per buah (Yulianti dkk, 2015). Menurut Kusumiyati *et al.*, (2021) menyatakan bahwa apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) memiliki tingkat kemanisan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan varietas apel lainnya. Kemanisan tersebut sering dijadikan parameter utama dalam menentukan kualitas apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.), sehingga menjadikannya sebagai salah satu varietas yang paling banyak diminati di daerah Malang.



Gambar 2. 2 Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)
(Sumber:Arnetty & Yusuf, 2025)

Warna khas pada apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) menjadi tantangan tersendiri dalam penentuan tingkat kematangannya. Hal ini disebabkan oleh warna kulit apel Manalagi yang tidak mengalami perubahan mencolok selama proses pematangan, sehingga metode prediksi kematangan berbasis citra (*image-based maturity prediction*) menjadi kurang akurat. Model PLS yang menggunakan spektrum parsial menunjukkan kemampuan prediksi yang lebih unggul, khususnya pada parameter kekerasan buah. Hal tersebut menunjukkan bahwa spektroskopi UV/Vis memiliki potensi sebagai metode nondestruktif dalam penilaian kualitas internal apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). Namun, diperlukan peningkatan jumlah sampel, perluasan variasi tingkat kematangan, serta penyempurnaan tahap *preprocessing* spektrum agar model yang dihasilkan lebih stabil dan akurat (Iqbal *et al.*, 2020)

2.2.2 Kandungan Nutrisi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) memiliki berbagai macam kandungan di dalamnya seperti nutrisi, vitamin yang meliputi Vitamin A, Vitamin B2 dan vitamin B1 serta lemak, energi, karbohidrat dan protein (Anggita dkk.,

2025). Menurut Prasetyo & Anwar, (2024) menyatakan bahwa apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) memiliki kandungan gula total yang cukup tinggi yaitu sekitar $14,19 \pm 1,18$ g/100 ml. Selain itu, dalam penelitian Fitriyah *et al* (2019) menyatakan bahwa apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) mengandung gula total sekitar sekitar 13,9%.

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) per 100 gram (Widodo *et al.*, 2019; Sa'adah & Estiatih, 2015)

Komposisi	Total
Total Gula	8,29
Keasaman	0,32
Vitamin C	6,6
Gula Pereduksi	6,96
pH Cairan Buah	4,62
Fruktosa	4,5
Glukosa	3,72
Sukrosa	4,54
Gula/Asam	42,56
Aktivitas antioksidan	6,53
Total padatan terlarut	17,1

Selain kandungan nutrisi yang telah dijelaskan, buah apel juga mengandung mikroba seperti BAL. Dalam penelitian Tkesheliadze *et al.*, (2023) menyatakan bahwa terdapat empat kandidat yang potensial dalam isolasi buah apel dari varietas yang berbeda di wilayah Georgia Timur dan Barat. Apel yang digunakan untuk isolasi bakteri asam laktat (BAL) terdiri atas apel dalam kondisi matang dan mentah. Spesies BAL yang ditemukan yaitu *Lactiplantibacillus plantarum* 52, yang diperoleh dari varietas apel Lechkhumuri Sinapi, *Lactiplantibacillus plantarum* 53 dari varietas Georgian Sinap, *Lactiplantibacillus plantarum* 74 dari varietas Kekhura dan *Lactiplantibacillus plantarum* 76 dari varietas Kekhura. Penggunaan apel dalam isolasi BAL ini digunakan yang matang maupun yang mentah.

2.3. Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) merupakan salah satu varietas apel lokal Malang yang memiliki kandungan gula cukup tinggi, terutama glukosa, fruktosa, dan sukrosa, serta senyawa fenolik dan asam organik alami. Kandungan gula yang melimpah menjadikannya substrat potensial bagi pertumbuhan mikroorganisme fermentatif seperti ragi dan bakteri asam laktat (BAL). Selain itu, apel Manalagi juga mengandung vitamin, mineral, dan serat larut yang dapat berperan sebagai faktor pendukung metabolisme mikroba. Komposisi nutrisi tersebut memberikan kondisi optimal bagi fermentasi spontan maupun terarah, tergantung pada mikroba dominan yang berkembang selama proses (Widodo *et al.*, 2019).

Selama fermentasi, kandungan gula sederhana dalam sari apel mengalami degradasi melalui aktivitas mikroorganisme menjadi berbagai metabolit sekunder, terutama asam laktat, asam asetat, dan etanol. Pada hari ke-1 hingga ke-3 nilai pH menurun akibat produksi asam organik seperti asam asetat, asam laktat, dan asam propionat oleh bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari buah. Sedangkan ragi hanya sedikit mempengaruhi pH nya. Pada hari ke-5, pH yang dihasilkan cenderung stabil karena keasaman yang tinggi menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Analisis HPLC menunjukkan bahwa gula terlarut utama dikonsumsi selama fermentasi, sementara kandungan asam organik meningkat dan mencapai puncak pada hari ke-3 hingga ke-5, lalu melambat pada hari ke-7 ketika aktivitas metabolik mulai stabil (Xuanyu Xing, 2024). Selama proses fermentasi berlangsung glukosa dalam sari buah mengalami perubahan melalui jalur Embden-Meyerhof-Panass menghasilkan asam laktat sebagai produk utama metabolisme. Pembentukan asam

laktat ini menyebabkan penurunan nilai pH pada sari buah. Semakin tinggi kandungan glukosa yang tersedia semakin besar pula jumlah asam laktat yang dihasilkan, sehingga pH sari buah akan menurun secara signifikan (Ardhian dkk., 2019)

Penelitian oleh Manshur *et al.*, (2023) menyatakan bahwa apel secara alami mengandung populasi BAL yang sangat tinggi, mencapai sekitar 10^8 CFU/ml pada permukaan kulit dan jaringan daging buahnya. Beberapa spesies *Lactobacillus* yang berhasil diidentifikasi meliputi *Lactobacillus (para)collinoides*, *L. diolivorans*, *L. hilgardii*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. sicerae*, dan *L. suebicus*. Menurut penelitian Wijayanti dkk., (2012) menyatakan bahwa viabilitas *Lactobacillus plantarum* pada sari buah apel tergolong stabil dibandingkan dengan pada sari buah pepaya, nanas, maupun tomat. Pada sari buah apel jumlah total BAL yaitu 10×10^6 CFU/ml, sedangkan pada sari buah papaya dan tomat memiliki viabilitas terendah, masing-masing sekitar 8×10^6 CFU/ml dan 7×10^6 CFU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa sari buah apel mengandung nutrisi yang cukup untuk mendukung aktivitas metabolisme dari *Lactobacillus plantarum* selama proses inkubasi.

Penelitian Gordun *et al.*, (2014) menyatakan bahwa perbedaan bahan awal dalam pembuatan sourdough dengan penambahan buah apel, anggur, dan yoghurt memberikan dampak karakteristik yang berbeda. Sourdough dengan starter apel dan anggur yang keduanya berasal dari sari buah fermentasi menunjukkan adanya keragaman spesies bakteri asam laktat (BAL) yang lebih tinggi seperti *L. plantarum*, *L. brevis*, dan *L. sakei*. Selain itu, pada tahap awal fermentasi kedua jenis sourdough ini memiliki populasi khamir non-Saccharomyces yang tinggi yaitu ($>10^7$ CFU/g) meskipun jumlah ini menurun seiring waktu. Sebaliknya, sourdough

dengan starter yoghurt didominasi oleh *Pediococcus pentosaceus* dengan tingkat keragaman BAL yang rendah. Dari segi fisikoimia, sourdough dengan buah anggur memerlukan waktu paling lama yaitu sekitar 4 hari untuk mrncapai pH yang stabil sekitar 4. Sementara sourdough apel dan yogurt mencapai pH serupa lebih cepat bahkan terbentuk pada fase pra-fermentasi. Adapun nilai TTA dari ketiga nya hampir sama yaitu sekitar 6 mL, tetapi kadar asam laktat pada GS jauh lebih rendah (0,4 g/100 g) dibandingkan sourdough apel dan yogurt yang masing-masing mencapai sekitar 1,0 g/100 g. Secara keseluruhan, penggunaan air fermentasi apel terbukti mampu mempercepat proses pematangan adonan serta menghasilkan tingkat keasaman yang tinggi, sehingga dianggap sebagai alternatif starter yang efektif dan kaya mikroorganisme.

2.4 Tepung Gandum Utuh

Tepung gandum utuh adalah tepung yang dihasilkan dari penggilingan seluruh biji gandum tanpa pemisahan kulit ari, sehingga memiliki warna agak kecokelatan dan tekstur yang lebih kasar dibandingkan tepung terigu biasa. Tepung ini mengandung protein dan serat yang lebih tinggi, bersifat mudah menyerap cairan, serta menghasilkan produk olahan dengan tekstur lebih padat dan berat (Arwini, 2021). Kandungan serat yang tinggi pada tepung gandum utuh juga dinyatakan oleh Hughes *et al.*, (2020) yang membandingkan dengan tepung gandum yang dimurnikan.

Tabel 2.2 Kandungan Nutrisi Tepung Gandum Utuh dan Tepung Gandum Yang Dimurnikan dalam per 100 gram (Hughes *et al.*, 2020)

Kriteria Nutrisi	Gandum Utuh (n=25)	Gandum yang Dimurnikan (n=91)
Energi (kJ)	1420 (921–1606)	1470 (644–1615)
Protein (g)	11.3 (7.6–14.6)	9.0 (0–15.9)
Total Lemak (g)	2.4 (1.6–5.9)	1.4 (0–8.2)
Lemak Jenuh (g)	0.7 (0.3–1)	0.4 (0–2.0)
Karbohidrat (g)	63.3 (39.8–71.0)	72.7 (36.5–90)
Gula (g)	1.6 (0.4–7.0)	1.0 (0–12.0)
Serat Makanan (g)	8.8 (5.7–10.7)	3.1 (0–10)
Natrium (mg)	7.0 (1–685)	8.0 (0–1000)

Tepung gandum utuh memiliki kandungan nutrisi makro yang lebih kaya jika dibandingkan dengan gandum yang telah dimurnikan. Dalam setiap 100 gram, tepung gandum utuh mengandung sekitar 75 gram karbohidrat, 10 gram protein, 2 gram lemak, serta serat pangan yang jauh lebih tinggi yakni sekitar 13 gram. Sebaliknya tepung gandum yang dimurnikan memang sedikit lebih tinggi karbohidratnya yaitu 76 gram tetapi hanya memiliki sekitar 3 gram serat dengan kandungan protein dan lemak yang sedikit lebih rendah. Perbedaan ini disebabkan oleh adanya lapisan dedak dan lembaga pada gandum utuh yang tetap dipertahankan (Thielecke *et al.*, 2021). Sedangkan kandungan mikronutrien dalam kedua tepung gandum tersebut Adalah sebagai berikut:

Tabel 2.3 Kandungan Mikronutrien Tepung Gandum Utuh dan Tepung Gandum yang Dimurnikan dalam per 100 gram (Thielecke *et al.*, 2021)

Nutrien (per 100 g)	Gandum Utuh	Gandum yang Dimurnikan
Vitamin		
Tiamin (mg)	0.3	0.1
Riboflavin (mg)	0.2	0.04
Niasin (mg)	5.3	1.3
Piridoksin (mg)	0.2	0.04
Folat (µg)	28	26
Mineral		
Zat Besi (Fe) (mg)	3.7	1.2
Seng (Zn) (mg)	3.0	0.7
Magnesium (Mg) (mg)	117	22
Natrium (Na) (mg)	3.0	2.0

2.5 Fermentasi Dalam Perspektif Al-Qur'an

Fermentasi merupakan proses biokimia dimana senyawa organik diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Proses ini dapat berlangsung secara aerob maupun anaerob tergantung dari jenis mikroorganisme dan kondisi lingkungannya (Setiawati dkk., 2024). Proses fermentasi ini juga dapat diamati pada minuman hasil fermentasi buah, salah satunya cuka apel yang telah banyak dikenal masyarakat. Keberadaan cuka juga telah disinggung dalam sebuah HR. Ibnu Majah No.3317 sebagai berikut:

عَنْ جَابِرِ بْنِ عَبْدِ اللَّهِ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ نِعْمَ الْإِدَامُ الْخَلُّ

Artinya: “Dari Jabir bin Abdillah RA, ia berkata, “Rasulullah SAW bersabda , “Lauk pauk yang paling nikmat adalah cuka” (HR. Ibnu Majah No. 2217)

Hadis tersebut menunjukkan bahwa sejak masa Nabi, produk hasil fermentasi alami telah dikonsumsi dan dimanfaatkan oleh manusia. Dalam perspektif islam, fermentasi pada pangan pada dasarnya diperbolehkan selama tidak

menghasilkan zat yang bersifat memabukkan dan tetap memenuhi prinsip halal dan *thayyib*. Hal ini berkaitan dengan konsep *istihalah* yaitu perubahan suatu zat menjadi bentuk baru dengan karakteristik yang berbeda dari asalnya. Pada proses pembentukan cuka, gula di fermentasi menjadi ethanol dalam jumlah tertentu, kemudian mengalami perubahan lanjutan menjadi asam asetat sehingga kehilangan sifat memabukkan dan dapat dikonsumsi secara halal (Pauzi & Man, 2016). Berdasarkan Fatwa MUI No. 10 Tahun 2018, keberadaan etanol alami yang dihasilkan melalui fermentasi tidak serta-merta menjadikan suatu minuman haram, selama kadarnya kurang dari 0,5% (v/v), tidak bersifat memabukkan, dan tidak menimbulkan dampak yang membahayakan bagi kesehatan (Suhardi dkk., 2025).

Menurut Laily *et al.*, (2019) menyatakan bahwa cuka terbentuk melalui proses fermentasi dua tahap yaitu fermentasi gula menjadi etanol oleh ragi seperti *Saccharomyces* dan fermentasi asam asetat oleh bakteri *Acetobacter*. Prinsip fermentasi yang terkandung dalam hadis tersebut memiliki relevansi langsung dengan penelitian ini. Air fermentasi apel Manalagi yang digunakan dalam penelitian merupakan hasil proses fermentasi alami yang juga melibatkan aktivitas BAL dan khamir sehingga dapat membantu mempercepat proses fermentasi pada adonan sourdough.

Hadis tersebut menjelaskan bahwa ajaran Rasulullah SAW yang menilai cuka sebagai lauk terbaik tidak hanya bernilai spiritual, tetapi juga didukung secara ilmiah melalui pemanfaatan poduk fermentai dalam bidang pangan. Fermentasi apel menghasilkan berbagai senyawa organik dan nutrisi yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL). Penambahan air fermentasi apel Manalagi pada starter sourdough digunakan sebagai sumber

nutrisi tambahan untuk mendukung pertumbuhan BAL khususnya BAL penghasil eksopolisakarida (EPS) yang berpotensi dimanfaatkan dalam pengembangan pangan fermentasi karna berbagai manfaatnya. Dengan demikian, pemanfaatan buah melalui proses fermentasi tidak hanya mencerminkan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi pangan, tetapi juga menunjukkan bagaimana sumber daya alam yang telah Allah SWT sediakan dapat diolah secara optimal menjadi pangan yang bermanfaat dan tetap sesuai dengan prinsip halal serta *thayyib*. Hal ini telah dijelaskan dalam QS. ‘Abasa [80]: 24-32 sebagai berikut:

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ ۚ أَنَّا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا
وَعِنَبًا وَقَضْبًا وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا وَحَدَائِقَ غُلْبًا وَفَاكِهَةً وَأَبًّا مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ

Artinya: “24. Maka, hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya. 25. Sesungguhnya Kami telah mencurahkan air (dari langit) dengan berlimpah. 26. Kemudian, Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya. 27. Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian, 28. anggur, sayur-sayuran, 29. zaitun, pohon kurma, 30. kebun-kebun (yang) rindang, 31. buah-buahan, dan rerumputan. 32. (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu” (QS. ‘Abasa [80]: 24-32)

Dalam Tafsir Al-Munir menjelaskan bahwa dalam QS. ‘Abasa ayat 24-32 Allah SWT memerintahkan manusia untuk memperhatikan dan mengambil pelajaran dari makanan yang dikonsumsi serta proses penciptaannya. Allah menurunkan air dari langit kemudian menumbuhkan berbagai jenis tanaman di bumi sebagai sumber kehidupan bagi manusia dan hewan. Dalam ayat tersebut disebutkan beragam tumbuhan seperti biji-bijian, anggur, sayuran, zaitun, kurma, kebun yang lebat, buah-buahan dan rerumputan. Biji-bijian didahulukan karena berperan sebagai makanan pokok manusia sedangkan buah-buahan dan tumbuhan lainnya menjadi bentuk nikmat dan rezeki yang dapat dimanfaatkan dalam

kehidupan sehari-hari. Seluruh ciptaan tersebut menunjukkan kasih sayang dan kekuasaan Allah dalam menyediakan kebutuhan makhluk-Nya sekaligus menjadi tanda kebesaran-Nya (Az-Zuhaili, 2016). Hal ini menunjukkan bahwa berbagai tumbuhan dan buah-buahan yang Allah sediakan memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam pengembangan pangan yang bermanfaat. Pemanfaatan apel sebagai bahan fermentasi dapat dipandang sebagai salah satu bentuk pengolahan sumber daya alam untuk menghasilkan produk pangan berkualitas.

Wahyudi & Ihsan, (2025) menjelaskan bahwa rangkaian ayat tersebut dapat dijadikan landasan etis dalam upaya mewujudkan ketahanan pangan melalui pengelolaan sumber daya alam yang mandiri dan berkelanjutan. Pandangan ini selaras dengan prinsip *hifz al-bi'ah* (pelestarian lingkungan) dalam maqasid al-syariah yang menekankan kewajiban manusia untuk menjaga kelestarian bumi sebagai amanah dari Allah SWT. Dengan demikian, pemanfaatan sumber daya alam perlu dilakukan secara bijaksana agar tetap memberikan manfaat bagi kehidupan

Pemanfaatan buah dan biji-bijian dalam perkembangan ilmu pangan salah satunya dilakukan melalui proses fermentasi. Buah-buahan dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi sedangkan gandum digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan produk fermentasi seperti sourdough. Proses fermentasi tersebut melibatkan aktivitas bakteri asam laktat dan khamir yang mampu menghasilkan senyawa bermanfaat bagi pangan salah satunya seperti eksopolisakarida. Hal tersebut sejalan dengan perintah Allah SWT untuk memperhatikan makanan yang dikonsumsi manusia termasuk kualitas dan manfaat yang dihasilkan dari pengolahan pangan tersebut. Eksopolisakarida diketahui memiliki berbagai manfaat baik dalam bidang pangan maupun kesehatan. Selain itu penelitian ini juga

memanfaatkan air fermentasi apel Manalagi yang juga berpotensi memberikan manfaat sebagai bahan pendukung dalam pengembangan produk pangan fermentasi.

2.6 Bakteri Asam Laktat

2.6.1 Karakteristik Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan golongan dari bakteri Gram-positif yang tidak membentuk spora. Mereka tidak melakukan respirasi tetapi dapat bertahan di lingkungan beroksigen (aerotoleran). Peran utamanya adalah menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi karbohidrat. Selain asam laktat, BAL juga menciptakan senyawa organik lain yang sangat penting dalam memberikan rasa, tekstur, dan aroma unik pada produk, yang secara keseluruhan disebut karakteristik organoleptik (Ayivi *et al.*, 2020). Menurut Ferreira *et al.*, (2014) bakteri asam laktat (BAL) termasuk bakteri dengan katalase negatif dan umumnya tidak motil (kecuali beberapa spesies dari genus *Lactobacillus*). BAL memiliki toleransi yang tinggi terhadap asam dan uniknya, meskipun tidak melakukan respirasi, bakteri ini tetap dapat tumbuh dalam kadar oksigen yang sedikit karena bersifat anaerob fakultatif. Mereka dapat dikelompokkan sebagai mesofilik (30 °C hingga 37 °C) atau termofilik (42°C hingga 50 °C), namun umumnya dinonaktifkan pada suhu di atas 70 °C. Menurut Ojo & Smidt, (2023), suhu pertumbuhan yang optimal bagi BAL dapat bervariasi dari 20 hingga 45 °C tergantung dari setiap spesies bakteri, sedangkan untuk pH optimal berkisar antara 5,5 hingga 6,5, dan ini juga tergantung dari spesies BAL.

Bakteri asam laktat (BAL) memiliki ciri khas yang membedakannya dari kelompok bakteri lain. Secara morfologi makroskopis, BAL umumnya berukuran

sedikit lebih besar dibandingkan bakteri pada umumnya dan memiliki bentuk mikroskopis yang bervariasi, seperti bulat, batang, lonjong, atau menyerupai koma (Rahmadi, 2019). Selain itu, bakteri ini memiliki kemampuan bertahan pada pH rendah dan menghasilkan berbagai enzim (glikolitik, lipolitik, proteolitik). Enzim-enzim ini mengubah nutrisi menjadi senyawa yang menghasilkan sifat sensorik (rasa, aroma) yang diinginkan dalam produk fermentasi. Selain itu, BAL melindungi makanan dengan memproduksi faktor antimikroba seperti asam organik, bakteriosin, diasetil, dan asetaldehida. Manfaat BAL meluas ke tekstur makanan, di mana beberapa spesies mampu mensekresikan eksopolisakarida (EPS). EPS ini sangat penting dalam produk susu fermentasi, berfungsi untuk meningkatkan viskositas, mengurangi sineresis (pemisahan air), dan secara keseluruhan berkontribusi pada tekstur, *mouthfeel*, stabilitas, dan persepsi rasa pada produk akhir (Ferreira *et al.*, 2014).

2.6.2 Klasifikasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) dikelompokkan pertama kali oleh Orla Jensen pada tahun 1919. Dasar pengelompokan tersebut meliputi beberapa kriteria yaitu jenis fermentasi glukosa yang dilakukan, bentuk sel (morfologi), kemampuan dalam menggunakan berbagai jenis gula dan rentang suhu optimum untuk pertumbuhannya. Oleh karena itu terdapat empat pengelompokan BAL yang diakui yaitu *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, dan *Streptococcus* (Ayivi *et al.*, 2020). Menurut Yao *et al.*, (2023) menyatakan bahwa saat ini BAL yang telah berhasil ditemukan di alam terdapat 23 genus taksonomi. Namun yang umum digunakan baik dalam bidang obat-obatan, makanan dan lain-lainnya meliputi

Lactobacillus, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Bifidobacterium*.

Bakteri asam laktat (BAL) berdasarkan jalur metabolisme karbohidrat dapat dibedakan menjadi dua yaitu homofermentatif dan heterofermentatif (Bartkiene *et al.*, 2019). Menurut Buron-Moles *et al.*, (2019) juga menyatakan bahwa berdasarkan produk fermentasi akhirnya dibedakan menjadi dua yaitu Homofermentatif dan Heterofermentatif. Namun terdapat pembagian lagi dari bakteri asam laktat yang tergolong dalam Heterofermentatif yaitu Heterofermentatif fakultatif dan Heterofermentatif Obligat. Adapun penjelasan dari BAL tipe tersebut adalah sebagai berikut:

1. **Bakteri Homofermentatif** : Dikatakan homofermentatif jika spesies tersebut mampu mengubah glukosa menjadi asam laktat sebagai hasil utamanya dan beberapa produk sampingan namun dengan jumlah yang sedikit. Secara umum bakteri homofermentatif ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 37°C atau suhu di atasnya. Contoh spesies homofermentatif yaitu *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii* (Rahmadi, 2019). Kelompok bakteri homofermentatif memfermentasi heksosa hampir sepenuhnya menjadi asam laktat melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) atau glikolisis. Pada tahap ini, setiap satu molekul glukosa diubah menjadi dua molekul asam laktat, mekanisme ini mampu memaksimalkan konversi substrat menjadi energi dengan efisiensi yang optimal. Enzim utama yang berperan dalam jalur ini adalah aldolase, yang berfungsi memecah fruktosa-1,6-bisfosfat menjadi dua molekul tiga karbon. Meskipun demikian, tidak semua bakteri

homofermentatif mampu mendegradasi gula pentose (Tejedor-Sanz et al., 2022)

Selain itu terdapat pula istilah Homolaktat yaitu bakteri asam laktat (BAL) yang tergolong homofermentatif, seperti *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus salivarius*. Bakteri ini memetabolisme glukosa melalui jalur *Embden–Meyerhof–Parnas* (EMP) atau glikolisis. Dalam jalur ini, glukosa dikonversi hampir sepenuhnya menjadi asam laktat sebagai produk akhir utama, tanpa menghasilkan gas atau produk samping lain. Namun, meskipun tergolong homofermentatif, beberapa Bakteri asam laktat homofermentatif juga dapat mengalami perubahan metabolik dan menghasilkan asam format atau melakukan fermentasi campuran dengan bantuan enzim piruvat-format liase. Hal ini dapat terjadi apabila kondisi lingkungan tidak mendukung seperti sumber karbon terbatas, kenaikan pH atau penurunan suhu (Ojo & Smidt, 2023).

2. **Bakteri Heterofermentatif Fakultatif:** Dikatakan sebagai heterofermentatif jika spesies tersebut menghasilkan hasil akhir yang beragam yang meliputi asam laktat dalam jumlah yang sedikit, etanol, asam asetat, dan asam format. Bakteri heterofermentatif fakultatif memiliki kemampuan metabolik yang lebih adaptif dibandingkan jenis lainnya. Spesies seperti *Leuconostoc* dan beberapa *Lactobacillus* mampu menggunakan jalur EMP untuk memfermentasi heksosa menjadi asam laktat, namun juga dapat memanfaatkan pentosa atau glukonat melalui jalur fosfoketolase. Karena memiliki kedua enzim utama, yaitu aldolase dan fosfoketolase, mereka dapat beralih antara fermentasi

homofermentatif dan heterofermentatif sesuai kondisi lingkungan atau jenis substrat yang tersedia. Contoh dari kelompok ini adalah *Lactobacillus plantarum subsp. plantarum* dan *Lactobacillus casei* (Tejedor-Sanz et al., 2022a). Hal ini juga dijelaskan oleh Abedi & Hashemi, (2020) yang menyatakan bahwa bakteri kelompok heterofermentatif fakultatif dapat mendegradasi heksosa melalui jalur EMP dan juga memetabolisme pentosa serta glukonat karena memiliki aldolase dan fosfoketolase, memungkinkan mereka untuk beralih antara fermentasi homofermentatif dan heterofermentatif tergantung pada kondisi. Contoh dari bakteri ini yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, dan *Lactobacillus curvatus*

3. **Heterofermentatif Obligat:** Bakteri heterofermentatif obligat merupakan kelompok bakteri asam laktat yang tidak dapat memanfaatkan heksosa melalui jalur Embden–Meyerhof–Parnas (EMP) karena tidak memiliki enzim glikolitik fruktosa-1,6-bisfosfat aldolase yang dibutuhkan dalam jalur tersebut. Sebagai gantinya, kelompok bakteri ini memecah heksosa melalui jalur fosfoglukonat, menghasilkan asam laktat sebagai produk utama disertai sejumlah etanol atau asam asetat serta karbon dioksida sebagai produk sampingan. Enzim khas yang dimiliki kelompok ini adalah fosfoketolase, yang berperan penting dalam konversi gula melalui jalur heterofermentatif (Tejedor-Sanz et al., 2022a).

Pada bakteri heterofermentatif obligat, gen pengode enzim 1-fosfofruktokinase (PFK) yang berperan penting dalam jalur homofermentatif tidak ditemukan. Sebaliknya, beberapa di antaranya, termasuk kelompok fakultatif, memiliki operon *araBAD* yang memungkinkan konversi L-arabinosa menjadi xylulosa-5-fosfat, metabolit utama pada jalur

heterofermentatif. Contoh BAL heterofermentatif obligat meliputi *Oenococcus*, *Leuconostoc*, dan beberapa *Lactobacillus* seperti *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, dan *Lactobacillus reuteri* (Abedi & Hashemi, 2020).

Semua jalur fermentasi yang telah dijelaskan baik homofermentatif maupun heterofermentatif memiliki peran besar dalam menentukan karakteristik sensorik, seperti rasa dan aroma, serta berkontribusi terhadap daya tahan dan umur simpan produk fermentasi. Oleh karena itu, pemahaman mengenai perbedaan metabolisme dan regulasi genetik pada kedua kelompok bakteri ini sangat penting untuk pengembangan teknologi fermentasi yang efisien dan terarah (Tejedor-Sanz *et al.*, 2022)

2.6.3 Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme yang banyak dikaji karena memiliki kemampuan tinggi dalam menghasilkan eksopolisakarida (EPS). Beberapa strain seperti *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, dan *Weissella* diketahui berpotensi besar dalam produksi senyawa ini. Bakteri asam laktat dikategorikan sebagai mikroorganisme yang aman (*GRAS- Generally Recognized As Safe*) dan mampu menghasilkan eksopolisakarida (EPS) dengan beragam struktur tanpa menimbulkan efek merugikan bagi kesehatan (Nguyen *et al.*, 2020). Selain itu hal ini juga disampaikan oleh Fuso *et al.*, (2023) bahwa terdapat sekitar 30 spesies bakteri asam laktat (BAL) yang diakui mampu mensintesis eksopolikarida (EPS) dengan *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, , *Lacticaseibacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus*,

Lactobacillus sakei, dan *Lactiplantibacillus plantarum* sebagai contoh yang paling terkenal. Kebanyakan dari produsen ini telah diisolasi dari produk pangan tradisional dimana mereka berkontribusi dalam meningkatkan tekstur, stabilitas, dan sensasi di mulut (*mouthfeel*).

Adebayo-tayo *et al.*, (2024) menyatakan bahwa kemampuan bakteri asam laktat (BAL) dalam memproduksi eksopolisakarida (EPS) ditunjukkan oleh isolat tertentu yaitu isolat W3 yang memiliki tingkat kesesuaian skuens sebesar 100,0% dengan *Pediococcus acidilactici*. Isolat ini diperoleh dari produk susu fermentasi tradisional dan terbukti menghasilkan EPS dalam jumlah yang tinggi dengan produksi mencapai 6204,50 mg/L. Secara umum, beberapa genus BAL antara lain seperti *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, dan *Weissella* telah dilaporkan memiliki kemampuan untuk memproduksi EPS.

Bakteri penghasil eksopolisakarida (EPS) juga dijelaskan oleh Netrusov *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa dari berbagai kelompok filogenetik dan mencakup bakteri Gram-negatif maupun Gram-positif. Pada bakteri Gram-negatif produsen EPS ditemukan pada beberapa kelas antara lain *Alphaproteobacteria* yang meliputi genus *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter*, *Komagataeibacter*, *Kozakia*, *Neoasaia*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, dan *Zymomonas* ; *Betaproteobacteria* seperti *Alcaligenes* dan *Achromobacter*; serta *Gammaproteobacteria* yang mencakup *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas*, *Xanthomonas*, *Halomonas*, *Erwinia*, *Vibrio*, dan *Klebsiella*. Selain itu, bakteri Gram-positif penghasil EPS juga berasal dari beberapa kelas di antaranya Bacilli yang mencakup *Bacillus*, *Paenibacillus*,

Lactobacillus, *Leuconostoc*, dan *Streptococcus*; kelas *Clostridia* seperti *Sarcina* sp; serta kelas *Actinomycetia* yang meliputi *Bifidobacterium* dan *Rhodococcus*.

Salimi & Farrokh, (2023) menyatakan bahwa berbagai mikroorganisme penghasil eksopolisakarida yang sebagian besar berasal dari kelompok bakteri asam laktat. Spesies yang dilaporkan meliputi beberapa anggota genus *Lactobacillus*, seperti *Lactobacillus plantarum* (strain C70 dan YW32), *Lactobacillus kefiranofaciens* DN1, *Lactobacillus gasseri* FR4, *Lactobacillus johnsonii* FI9785, dan *Lactobacillus fermentum* LB-69. Genus terkait seperti *Lacticaseibacillus paracasei* (strain M7 dan AS20(1)) juga tercatat. Mikroorganisme lain yang termasuk juga dapat menghasilkan EPS adalah *Bacillus licheniformis* Dahb1, *Weissella cibaria* 27, *Leuconostoc pseudomesenteroides* YB-2, serta beberapa spesies dari genus *Streptococcus* dan *Lactococcus*, yaitu *Streptococcus thermophilus* GST, *Lactococcus lactis* F-mou strain, dan *Lactococcus garvieae* C47. Selain itu, beberapa strain tambahan seperti *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus* sp. Ca6, dan *Enterococcus durans* DU1 juga dilaporkan sebagai produsen EPS.

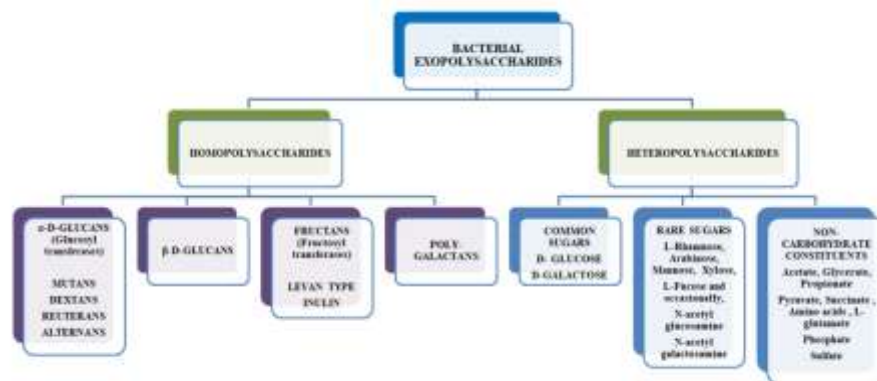
2.7 Eksopolisakarida (EPS)

2.7.1 Definisi dan Klasifikasi EPS

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polisakarida yang disekresikan secara ekstraseluler oleh banyak mikroorganisme salah satunya yaitu BAL. Istilah EPS pertama kali diperkenalkan oleh Sutherland pada tahun 1972 untuk mendeskripsikan polisakarida yang bervariasi yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan berada di luar dinding sel. Senyawa ini memiliki kemampuan yang kuat maupun lemah dalam menempel pada permukaan sel tergantung pada

kondisi struktural dan fungsional dengan sel penghasilnya. Bakteri banyak dimanfaatkan untuk produksi EPS karena tumbuh cepat dan menghasilkan EPS yang mudah dipisahkan dari sel (Yadav *et al.*, 2024). Menurut Yao *et al* (2023) menyatakan bahwa eksopolisakarida merupakan senyawa karbohidrat kompleks (polisakarida) yang disintesis dan disekresikan di luar dinding sel bakteri. Sebagian dari senyawa ini dapat menempel pada bagian dinding sel sehingga membentuk polisakarida kapsular sedangkan sebagian sisanya larut dalam medium fermentasi sebagai polisakarida lendir. Berat dari EPS ini berkisar antara $4,0 \times 10^4$ hingga $6,0 \times 10^6$ Da.

Struktur kimia dari eksopolisakarida (EPS) dapat berbeda-beda. Berdasarkan strukturnya EPS dibedakan menjadi 2 yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Homopolisakarida tersusun dari satu jenis monosakarida dan dibedakan lagi menjadi empat yaitu α -D-glukan, β -D-glukan, fruktan, dan galaktan. Adapun contoh dari masing-masing tersebut yaitu α -D-glukan: dekstran, pullulan dan galaktan. Contoh dari β -D-glukan adalah curdlan dan skleroglukan sedangkan fruktan contohnya adalah levan. Adapun heteropolisakarida terdiri dari unit pengulangan dua atau lebih monosakarida yang berbeda yang umumnya mencakup D-glukosa, D-galaktosa, dan L-ramnosa. Namun beberapa juga mengandung N-asetilglukosamin (GlcNAc), N-asetilgalaktosamin (GalNAc), serta gugus substituen seperti asam glukuronat, fosfat, asetil, atau gliserol (Yadav *et al*, 2024).

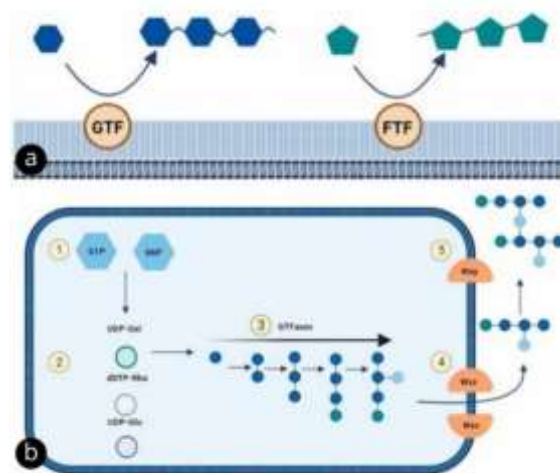


Gambar 2. 3 Klasifikasi Eksopolisakarida
(Sumber: Angelin & Kavita, 2020)

2.7.2 Jalur Biosintesis EPS pada BAL

Biosintesis EPS pada BAL dapat berlangsung melalui jalur ekstraseluler maupun jalur intraseluler. Pada jalur ekstraseluler, sukrosa dipecah oleh enzim glikosiltransferase menjadi glukosa dan fruktosa yang kemudian langsung dipolimerisasi menjadi homopolisakarida, seperti dekstran atau levan. Sementara itu, pada jalur intraseluler, glukosa masuk ke dalam sel melalui sistem transport aktif atau PEP-PTS, lalu difosforilasi oleh enzim heksokinase menjadi glukosa-6-fosfat. Senyawa ini kemudian diubah menjadi glukosa-1-fosfat oleh fosfoglukomutase, yang merupakan prekursor nukleotida-gula aktif, seperti UDP-glukosa, UDP-galaktosa, UDP-N-asetil glukosamin, UDP-N-asetil galaktosamin, dan TDP-rhamnosa. Nukleotida-gula tersebut menjadi bahan baku untuk unit oligosakarida berulang yang dipolimerisasi oleh glikosiltransferase menjadi rantai polisakarida panjang, yang selanjutnya dimodifikasi melalui aktivasi, asetilasi, sulfatasi, atau metilasi sebelum diekspor keluar sel oleh flippase, transporter ABC, atau permease (Angelin & Kavitha, 2020).

Proses biosintesis ini juga dijelaskan oleh (Sørensen *et al.*, 2022) yang menyatakan bahwa pada biosintesis homopolisakarida dikatalisis oleh enzim ekstraseluler glikansukrase yang menempel pada dinding sel. Enzim ini terbagi menjadi dua tipe yaitu glikosiltransferase (GTF) dan fruktosiltransferase (FTF). GTF berperan dalam memindahkan molekul glukosa sedangkan FTF memindahkan fruktosa ke rantai homopolisakarida yang sedang terbentuk. Setiap enzim ini memiliki kekhususan tersendiri dalam membentuk jenis ikatan glikosidik tertentu pada struktur polisakarida yang dihasilkan. Pada biosintesis heteropolisakarida, berlangsung melalui jalur Wzx/Wzy yang terdiri dari 5 tahapan. Pertama, molekul gula diangkut ke dalam sel dan difosforilasi menjadi glukosa-1-fosfat atau glukosa-6-fosfat. Kedua, didalam sel terbentuk nukleotida-gula seperti UDP-glukosa, UDP-galaktosa, dan dTDP-rhamnosa sebagai precursor utama. Ketiga, unit pengulangan gula tersebut kemudian diikat pada molekul jangkar difosfat (UDA) yang berada dalam membran sel dan perakitannya dikatalisis oleh beberapa enzim GTF. Keempat, protein flippase Wzx memindahkan unit oligosakarida yang telah terbentuk ke sisi luar membran. Terakhir protein membrane luar Wzy menggabungkan unit-unit gula tersebut menjadi rantai heteropolisakarida yang Panjang dan kemudian diekspor ke luar sel.



Gambar 2. 4 Biosintesis Eksopolisakarida. Keterangan: a). Biosintesis Homopolisakarida b). Biosintesis Heteropolisakarida (Sørensen *et al.*, 2022)

Kuantifikasi eksopolisakarida (EPS) dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti gravimetri, kolorimetri, kromatografi, mikroskopi, dan spektroskopi inframerah dekat (NIRS). Metode gravimetri merupakan cara paling sederhana, yaitu dengan menimbang berat kering endapan EPS. Metode ini tidak membutuhkan peralatan canggih, cocok untuk estimasi kasar. Namun, metode ini dianggap kurang akurat karena hasil timbangan juga mencakup pengotor atau residu lain. Oleh karena itu hasil dari metode ini disebut dengan EPS kasar. Metode kolorimetri digunakan untuk menentukan jumlah karbohidrat dalam EPS dengan cara yang mudah dan murah, meskipun hasilnya bisa dipengaruhi oleh senyawa lain dalam media. Dua metode kolorimetri yang umum digunakan yaitu fenol-asam sulfat dan antron-asam sulfat (Yadav *et al.*, 2024).

Metode kolorimetri seperti fenol-asam sulfat dan antron-asam sulfat digunakan untuk mengukur total karbohidrat secara cepat dan sederhana, di mana hasil diukur secara spektrofotometrik pada panjang gelombang masing-masing 490

nm dan 620 nm. Meskipun sensitif, keduanya rentan terhadap gangguan senyawa lain dan ketidakstabilan reagen. Metode kromatografi, termasuk SEC, HPLC, dan HPAEC-PAD, menawarkan hasil yang lebih akurat karena mampu memisahkan komponen EPS, tetapi bersifat mahal dan kompleks. Analisis mikroskopi seperti CLSM dan EM memungkinkan visualisasi serta kuantifikasi struktur EPS secara detail, namun memerlukan peralatan canggih dan persiapan sampel yang teliti. Sementara itu, Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) menjadi metode cepat untuk memantau EPS selama fermentasi tanpa isolasi terlebih dahulu, meskipun memiliki keterbatasan dalam hal spesifisitas dan kebutuhan kalibrasi yang ketat (Yadav *et al*, 2024).

2.7.3 Faktor yang Mempengaruhi Eksopolisakarida (EPS)

Kadar dan karakter fungsional eksopolisakarida (EPS) dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu sumber karbon, sumber nitrogen, suhu fermentasi, pH medium, agitasi (pengadukan), aerasi (ketersediaan oksigen) dan durasi lama fermentasi. Suhu optimum umumnya berkisar antara 25–40 °C, namun dapat berbeda antar strain; misalnya *Lactobacillus paracasei* menghasilkan EPS maksimal pada suhu 30 °C. pH sedikit asam (5–7) mendukung aktivitas enzim glikosiltransferase, sedangkan kondisi terlalu asam atau basa dapat menurunkan hasil EPS. Selain itu, faktor fisik seperti agitasi, aerasi, dan lama fermentasi juga berperan. Agitasi ringan membantu distribusi sel yang merata, tetapi agitasi berlebih dapat merusak rantai polimer EPS. Produksi eksopolisakarida (EPS) biasanya terjadi pada fase akhir pertumbuhan hingga awal fase stasioner, sementara fermentasi yang terlalu lama (>48 jam) dapat menurunkan hasil akibat degradasi enzimatik atau habisnya nutrisi (Liu *et al.*, 2025). Hal ini sejalan dengan penelitian

Lawalata *et al.*, (2023) bahwa fase stasioner isolat bakteri asam laktat (BAL) umumnya terjadi dalam rentang waktu 20-24 jam. Pada penelitiannya digunakan isolat BAL berumur 24 jam, karena pada usia tersebut fase logaritmik telah berakhir dan bakteri mulai memasuki fase stasioner yaitu tahap ketika produksi EPS mencapai tingkat optimal.

Faktor lain yang mempengaruhi EPS juga disebutkan oleh Nguyen *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa faktor yang memengaruhi produksi eksopolisakarida (EPS) oleh bakteri asam laktat (BAL) secara umum dibagi menjadi tiga kelompok yaitu stres nutrisi, stres fisik, dan co-kultivasi. Pada kondisi stres nutrisi, keterbatasan nitrogen dapat merangsang pembentukan EPS, contohnya *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LC 330, sedangkan pada beberapa spesies lain seperti *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, suplai nitrogen tinggi justru meningkatkan produksinya. Kelebihan gula juga terbukti meningkatkan sintesis EPS pada berbagai BAL, termasuk *Lactobacillus confusus*, *L. helveticus*, dan *Streptococcus thermophilus*, karena ketersediaan energi dan bahan pembangun yang melimpah. Selain itu, konsentrasi CO₂ dan oksigen terlarut turut memengaruhi, di mana peningkatan CO₂ dapat memperkuat produksi EPS, sedangkan kadar O₂ tinggi cenderung menghambatnya. Dari sisi stres fisik, kondisi lingkungan seperti pH, suhu tinggi, dan tekanan osmotik dapat mendorong atau juga menekan produksi EPS namun tergantung pada jenis spesiesnya. Contoh *Lactobacillus helveticus* menghasilkan lebih banyak EPS pada pH rendah, tetapi produksinya menurun pada kadar NaCl tinggi. Selain itu, stres panas ringan justru dapat meningkatkan EPS pada *Bifidobacterium*.

Rentang pH yang optimum untuk produksi eksopolisakarida (EPS) oleh *Lactobacillus plantarum* R301 adalah 7. Hal ini didasarkan pada optimasi dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM), nilai pH tersebut menghasilkan produksi EPS tertinggi. Sedangkan suhu fermentasi optimum untuk sintesis EPS adalah 27°C yang lebih rendah dibandingkan suhu pertumbuhan optimal *L. plantarum* R301, yaitu 37°C (Wang *et al*, 2023). Menurut Hizrah dkk (2023) menyatakan bahwa spesies BAL juga mempengaruhi kadar EPS. Hal ini dikarenakan setiap spesies memiliki kemampuan metabolisme dan kapasitas sintesis EPS yang berbeda.

Perbedaan kadar EPS yang dihasilkan oleh masing-masing spesies BAL juga dijelaskan dalam Sorensen *et al* (2022) yang menyatakan bahwa strain BAL penghasil EPS dapat tumbuh pada berbagai sumber karbon seperti sukrosa, glukosa, galaktosa, fruktosa, laktosa, maltosa, serta media berbasis susu dan pati. Namun perlu digaris bawahi bahwa sumber karbon yang paling disukai untuk produksi EPS bergantung pada spesies dan strain tertentu. Contoh *Streptococcus thermophilus* menunjukkan preferensi terhadap sukrosa dengan hasil EPS 108 mg/L diikuti oleh glukosa dan galaktosa. Spesies *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* menghasilkan EPS tertinggi ketika ditumbuhkan pada glukosa dan laktosa dengan hasil yang jauh lebih rendah pada fruktosa. *Lactobacillus casei* terdapat beberapa yang menyatakan bahwa hasil tertinggi pada galaktosa yaitu 120 mg/L sementara ada yang menyatakan bahwa tertinggi pada glukosa yaitu 160 mg/L. Selain itu juga pada spesies *Lactobacillus rhamnosus* menunjukan hasil EPS tertinggi yaitu galaktosa (185 mg/L), laktosa (165 mg/L) dan fruktosa (152,84 mg/L).

2.7.4 Manfaat EPS dalam Sourdough

Eksopolisakarida memiliki berbagai manfaat dalam bidang kosmetik, farmasi bahkan pangan. Dalam bidang pangan EPS memberikan manfaat seperti sebagai pengental, pengemulsi, dan penstabil (Angelin & Kavitha, 2020). Dalam sourdough, EPS ini memiliki manfaat yang penting yaitu mampu memodifikasi sifat viskoelastis adonan, sehingga dapat meningkatkan kekenyalan dan stabilitas struktur roti. Selain itu, EPS juga mampu memperlambat proses retrogradasi pati yaitu mekanisme utama yang menyebabkan pengerasan roti selama penyimpanan sehingga mampu memperpanjang umur simpan produk. Adanya manfaat tersebut memberikan pandangan bahwa keberadaan EPS berpotensi untuk digunakan sebagai *bread improver* alami yang dapat menggantikan hidrokoloid sintetis atau aditif komersial, sejalan dengan tren industri pangan menuju formulasi yang lebih bersih (*clean-label*) (Galle & Arendt, 2014).

Manfaat EPS pada sourdough juga disebutkan oleh Torino *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa produksi EPS oleh bakteri genus *Lactobacillus* seperti *Levan β -(2,6)* yang disintesis oleh strain sourdough *L. sanfranciscensis* memberikan manfaat yaitu peningkatan sifat tekstur roti dengan cara meningkatkan kapasitas penyerapan air, melunakkan gluten, memperbaiki pembentukan struktur adonan dan menghambat pengerasan (*stalling*). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Galle & Arendt, (2014) menyatakan bahwa penggunaan BAL yang menghasilkan HePS dalam fermentasi sourdough berfungsi meningkatkan sifat reologi adonan sorgum. Tidak hanya itu penggunaan BAL HePS juga meningkatkan variasi jenis EPS serta mikroorganisme yang berpotensi diaplikasikan dalam proses pembuatan roti.

Kebermanfaatan EPS ini tidak hanya dapat dilihat dalam produk makanan seperti sourdough melainkan juga dapat bermanfaat untuk bakteri itu sendiri. Fungsi EPS dalam lingkungan mikroba terutama dalam melindungi sel bakteri dari kondisi eksternal yang merugikan seperti kekeringan, perubahan pH, tekanan osmotik, paparan cahaya, ion logam, bakteriosin, fagositosis, serta senyawa toksik lainnya. Selain itu EPS juga dapat berperan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme tertentu. Namun sebagian besar bakteri penghasil EPS tidak memiliki gen yang mengkode enzim untuk mendegradasi polisakarida tersebut sehingga mereka tidak mampu memanfaatkan EPS yang dihasilkannya sebagai sumber energi (Sørensen *et al.*, 2022)

2.8 MALDI-TOF

2.8.1 Prinsip Kerja MALDI-TOF

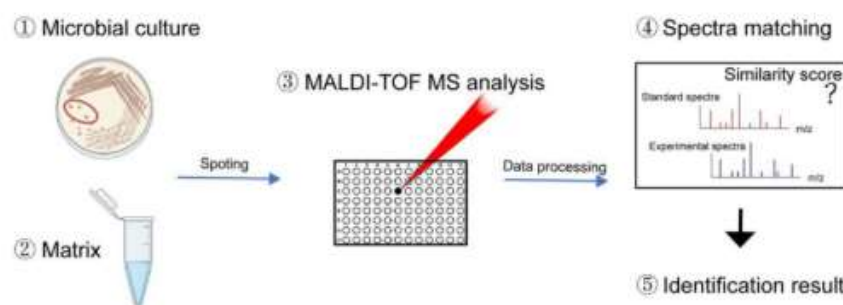
MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*) merupakan metode identifikasi mikroorganisme yang bekerja berdasarkan analisis rasio massa terhadap muatan (*mass-to-charge ratio*, m/z) dari molekul-molekul ion. Prinsip dasarnya melibatkan pencampuran sampel mikroba dengan zat matriks organik yang berfungsi melindungi molekul dari kerusakan selama proses ionisasi. Sampel kemudian disinari dengan pulsa laser singkat yang menyebabkan molekul terionisasi dan terlepas dari permukaan. Ion-ion tersebut dipercepat dalam medan listrik dan bergerak melalui tabung hampa udara. Waktu yang dibutuhkan setiap ion untuk mencapai detektor, disebut *time of flight* (TOF), bergantung pada massa dan muatan ion. Hasil pengukuran ini menghasilkan spektrum protein khas (*fingerprint*) yang merepresentasikan profil protein, terutama protein ribosomal, dari setiap mikroorganisme. Spektrum tersebut

kemudian dibandingkan dengan data referensi dalam basis data untuk menentukan identitas spesies mikroba secara cepat dan akurat (Calderaro & Chezzi, 2024).

Prinsip kerja MALDI-TOF MS juga dijelaskan oleh Damayanti *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa metode ini didasarkan pada konsep protein fingerprint, yaitu proses identifikasi bakteri melalui profil protein spesifik yang dimilikinya. Metode ini terbukti memiliki tingkat akurasi yang tinggi dalam mengenali berbagai jenis mikroorganisme. Hal tersebut juga diperkuat oleh hasil penelitian Singhal *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa teknik MALDI-TOF MS mampu mengidentifikasi 95,1% dari total 327 isolat yang diuji, sehingga menunjukkan keandalan dan ketepatan metode ini dalam identifikasi bakteri. Menurut Croxatto *et al.*, (2011) menyatakan bahwa protein-protein yang terdeteksi sebagai biomarker dalam spektrum MALDI-TOF umumnya memiliki massa molekuler di bawah 15 kDa, sebagian besar adalah protein ribosom, protein pengikat asam nukleat, dan protein cold-shock, yang sangat konservatif dan melimpah dalam sel, menjadikannya ideal untuk identifikasi rutin bakteri karena minimnya pengaruh kondisi lingkungan

Proses identifikasi mikroba menggunakan MALDI-TOF MS terdiri atas beberapa tahapan. Tahap awal melibatkan pengkulturan mikroba hingga diperoleh koloni tunggal, kemudian dilanjutkan dengan preparasi sampel, yaitu menempatkan sel mikroba atau ekstraknya pada pelat target MALDI dan menambahkan matriks. Setelah itu, dilakukan analisis menggunakan instrumen MALDI-TOF MS untuk menghasilkan spektrum massa molekul seluler. Spektrum yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan basis data referensi, dan hasil identifikasi ditentukan berdasarkan tingkat kesesuaian spektral antara sampel dengan galur standar dalam

basis data tersebut Li *et al.*, (2022). Perlu diperhatikan bahwa konsistensi spektrum yang dihasilkan oleh MALDI-TOF sangat bergantung pada berbagai faktor, termasuk usia mikroorganisme, perbandingan antara sampel dan matriks, konsentrasi sel, jenis media kultur, serta kondisi pertumbuhan. Oleh karena itu, penetapan dan penerapan parameter yang terstandar menjadi hal krusial untuk memperoleh hasil analisis yang optimal (Croxatto *et al.*, 2011).



Gambar 2. 5 Alur Kerja Identifikasi Mikroba dengan MALDI-TOF
(Sumber: Calderaro & Chezzi, 2024)

2.8.2 Kelebihan dan Kekurangan MALDI-TOF MS

MALDI-TOF memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan metode lain. Adapun keunggulan yang dimiliki oleh MALDI-TOF yaitu memiliki sistem kerja yang cepat, efisien, berbiaya rendah, dan mampu memproses banyak sampel sekaligus (*high throughput*). Waktu analisis yang dibutuhkan dari alat ini sangat singkat, karena identifikasi bakteri dapat diselesaikan dalam waktu kurang dari satu jam, sedangkan metode konvensional biasanya memerlukan 24 hingga 48 jam Hou *et al.*, (2019). Menurut Šebela, (2022) menyatakan bahwa MALDI-TOF MS juga unggul karena proses analisisnya yang sederhana dengan kebutuhan persiapan sampel yang minimal serta toleransi tinggi terhadap garam dan pengotor. Selain itu, metode ini memiliki tingkat sensitivitas, akurasi, dan reproduktibilitas

yang tinggi, serta mendukung otomatisasi dan efektivitas biaya. MALDI-TOF MS juga mampu mengidentifikasi dan menganalisis berbagai senyawa secara komprehensif, baik molekul hidrofilik maupun hidrofobik dari berat molekul rendah hingga polipeptida, dengan ketepatan dan spesifisitas yang lebih unggul dibandingkan teknik konvensional seperti kromatografi cair.

MALDI-TOF MS juga memiliki beberapa keterbatasan. Salah satunya adalah terbatasnya basis data spektral yang tersedia serta kebutuhan akan kultur bakteri murni untuk memperoleh hasil identifikasi patogen yang akurat, mengingat tingkat positif kultur klinis masih rendah. Selain itu, metode ini masih kurang efektif dalam membedakan subspecies maupun galur yang resisten terhadap antibiotik. Reproduksiabilitas yang tidak selalu konsisten juga menjadi kendala dalam analisis kuantitatif, karena proses kristalisasi sampel yang acak dapat memengaruhi hasil. Pada analisis asam nukleat, MALDI-TOF MS masih bergantung pada situs yang telah ditentukan sebelumnya, sehingga belum mampu mendeteksi pola mutasi acak secara menyeluruh. Selain itu pemilihan matriks yang kurang tepat akibat juga menjadi masalah dalam metode ini (Li *et al*, 2022). Selain itu Croxatto *et al.*, (2012) juga menyatakan keterbatasan dari MALDI-TOF yaitu mikroorganisme yang memiliki dinding sel kuat atau sulit dilisiskan, serta yang menghasilkan sinyal protein lemah seperti *S. pneumoniae* berkapsul dan *Actinomyces* seringkali menimbulkan kesulitan dalam proses identifikasi menggunakan MALDI-TOF MS

Jumlah sampel yang tidak mencukupi juga dapat mengurangi keberhasilan identifikasi mikroba. Dalam analisis menggunakan MALDI-TOF MS, jumlah sel bakteri yang terlalu sedikit tidak mampu menghasilkan spektrum yang akurat dan

representatif. Diperlukan sekitar 10^6 sel bakteri per sumur untuk memperoleh skor identifikasi di atas 2, yang menunjukkan ketepatan hingga tingkat spesies. Sebaliknya, ketika jumlah bakteri hanya sekitar 10^2 – 10^4 per sumur, skor identifikasi umumnya berada di bawah 1,7, menandakan kegagalan dalam menentukan spesies secara pasti. Kondisi ini sering dijumpai pada kultur yang belum mencapai fase pertumbuhan optimal, misalnya setelah inkubasi singkat selama 2–4 jam, sehingga jumlah sel yang terbentuk belum cukup untuk menghasilkan spektrum yang kuat dan stabil (Croxatto *et al.*, 2012).

Identifikasi spesies sering melibatkan perbandingan antara MALDI-TOF MS dan PCR, yang dianggap sebagai standar emas metode molekuler. PCR memiliki keunggulan dari sisi akurasi serta kemampuan mendeteksi variasi genetik secara spesifik, namun metode ini memerlukan waktu yang lebih lama dan biaya lebih tinggi. Sebaliknya, MALDI-TOF MS menawarkan proses analisis yang lebih cepat, sederhana, dan hemat biaya karena mampu mengenali banyak sampel sekaligus tanpa tahapan amplifikasi genetik. Meskipun demikian, PCR tetap dijadikan acuan utama untuk verifikasi hasil, terutama ketika diperlukan ketelitian tinggi dalam membedakan spesies atau mendeteksi galur tertentu (Caroline *et al.*, 2022)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan penelitian deskriptif. Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif kualitatif yang meliputi karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari masing-masing isolat bakteri asam laktat (BAL) penghasil eksopolisakarida yang diperoleh dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill). Selain itu, dilakukan uji biokimia dan penimbangan EPS kasar serta identifikasi hingga tingkat spesies terhadap isolat yang menghasilkan kadar eksopolisakarida kasar tertinggi menggunakan MALDI-TOF MS untuk mengetahui spesiesnya.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dan pengujian dilakukan pada bulan Desember 2025-Maret 2026. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Program Studi Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Pisau, Talenan kayu, Sterofoam, Toples, Laminar Air Flow, Autoklaf, Inkubator, Vortex, Hot Plate, Sentrifugasi, Timbangan Digital, Timbangan Analitik, Kulkas, Mikropipet, Mikroskop Cahaya, Oven, *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF), Cawan Petri, Erlenmeyer, Spatula, Jarum Ose, Batang

Penyebar, Batang Pengaduk, Rak tabung reaksi, Tabung reaksi, Gelas Ukur, Tabung sentrifugase 15 ml, Blue tip, Tabung durham, Beaker Glass, Termometer, pH Meter, Bunsen, Object glass, dan Cover glass.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) yang diperoleh dari toko Buah di daerah Pujon, Air Mineral, Tepung gandum utuh, Garam, Gula, Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), Media *de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB), Media *Sulfide-Indole-Motility* (SIM), NaCl 0,9%, Ethanol 96%, H₂O₂ 3%, Sukrosa 2%, Sukrosa 5%, CaCO₃ 1%, Alkohol 70%, Blue Tip, Kertas saring, Serbuk kalibrasi pH Meter, Aquades, Kertas label, Plastik wrap, Kapas, Kasa, plastik petromax, Aluminium foil, karet gelang, Crystal Violet, Safranin, Iodin, *Malachite green* 5%, Lateks, dan Masker.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Koleksi Sampel

Buah apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) diperoleh dari toko buah di daerah Pujon, Malang. Apel ini merupakan salah satu varietas yang banyak dijumpai di wilayah tersebut. Varietas ini dipilih karena memiliki popularitas dan permintaan yang tinggi di kalangan konsumen (Manshur *et al.*, 2023). Selain itu menurut Xuanyu-Xing, (2024) menyatakan bahwa buah apel dipilih sebagai substrat fermentasi karena pada percobaan pendahuluan, apel menunjukkan pembentukan gelembung yang merata serta konsistensi hasil yang baik. Hal ini mengindikasikan bahwa apel berperan sebagai substrat fermentasi yang efisien dan stabil dalam menghasilkan sourdough alami.

3.4.2 Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

Fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dilakukan dengan mengacu pada prosedur Manshur *et al.*, (2023). Apel dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dipotong berbentuk dadu dengan ukuran $\pm 2 \times 2$ cm. Sebanyak 100 g potongan apel ditimbang dan dimasukkan ke dalam 250 mL air mineral yang telah ditambahkan 10 g gula. Campuran tersebut difermentasi secara alami pada suhu ruang menggunakan wadah toples, kemudian ditempatkan di dalam sterofoam selama 5 hari. Selama proses fermentasi, pengukuran pH dilakukan pada hari ke-1, 3 dan 5 fermentasi menggunakan pH meter terkalibrasi untuk memantau perubahan keasaman medium fermentasi (Yusfiani *et al.*, 2025).

3.4.3 Pembuatan Starter sourdough Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Proses pembuatan starter sourdough dilakukan dengan mengacu pada prosedur Akiki *et al.*, (2025) menggunakan metode backslopping, yaitu Teknik fermentasi dimana sebagian starter lama digunakan sebagai inokulum untuk batch baru. Starter sourdough dibuat dengan mencampurkan 50 g tepung gandum utuh dan 50 ml air fermentasi apel, kemudian difermentasi secara spontan selama 24 jam pada suhu ruang di dalam sterofoam. Setelah fermentasi awal, dilakukan proses backslopping selama 10 hari dengan cara mengambil 50 g adonan hasil fermentasi sebelumnya lalu menambahkannya kedalam campuran baru yang terdiri atas 50 g tepung gandum utuh, 50 ml air kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu ruang didalam sterofoam. Tahapan ini diulangi setiap 24 jam untuk menjaga aktivitas dan kestabilan mikroorganisme pada sourdough.

Selama fermentasi, pengukuran pH dilakukan pada hari ke-1, 5 dan 10 menggunakan pH meter terkalibrasi untuk memantau perubahan keasaman medium

fermentasi (Fekensa, 2021). Penambahan air fermentasi apel manalagi dilakukan hanya pada tahap awal pembuatan starter dengan tujuan sebagai sumber inokulum BAL sekaligus sumber nutrisi tambahan untuk BAL. Pada tahap backslopping selanjutnya digunakan air biasa karena BAL yang telah berhasil tumbuh dan mendominasi pada tahap awal akan terus terbawa dan diseleksi secara alami dalam setiap siklus pembaruan starter, sehingga tidak diperlukan penambahan air fermentasi buah secara berulang (De Vuyst *et al.*, 2021).

3.4.4 Tahap Pembuatan Media

3.4.4.1 Media MRSA

Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) dibuat sebanyak 500 mL dengan cara menambahkan 500 mL akuades ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan bubuk MRSA sebanyak 34,1 g. Komposisi dalam media MRSA berupa: Pepton 10 g, NB 8 g, Ekstrak *Yeast* 4 g, $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 20 g, Tween 80 1 mL, K_2HPO_4 2 g, $COONa$ 5 g, $C_6H_8O_7 \cdot 2NH_3$ 2 g, $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,04 g, $MgSO_4$ 0,05 g, agar 14 g (Roza dkk., 2015). Media MRSA yang digunakan untuk isolasi BAL diperkaya dengan $CaCO_3$ 1% sebagai media selektif guna mempermudah identifikasi koloni penghasil asam (Murwani *et al.*, 2024). Sementara itu, untuk pengujian produksi eksopolisakarida digunakan MRSA yang mengandung sukrosa 2% sebagai sumber karbon tambahan yang dapat merangsang pembentukan eksopolisakarida (Franco *et al.*, 2020). Campuran media dipanaskan sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut sempurna, kemudian ditutup dengan kapas, dibungkus plastik tahan panas, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah sterilisasi, media dituangkan masing-masing sebanyak 20 mL ke dalam cawan petri steril, dibiarkan

hingga memadat, kemudian dibungkus menggunakan plastik *wrap* dan disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C hingga digunakan (Salsabila & Trimulyono, 2022).

3.4.4.2 Media MRSB

Media *de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) dibuat sebanyak 250 ml dengan cara menambahkan 250 aquades, kemudian ditambahkan bubuk MRSB sebanyak 13,75 gram. Komposisi dalam media MRSB berupa: Pepton 10 g, NB 8 g, Ekstrak Yeast 4 g, $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 20 g, Tween 80 1 ml, K_2HPO_4 2 g, $COONa$ 5 g, $C_6H_8O_7 \cdot 2NH_3$ 2 g, $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,04 g, $MgSO_4$ 0,05 g (Roza dkk., 2015). Campuran media dipanaskan sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut sempurna, kemudian ditutup dengan aluminium foil, dibungkus plastik tahan panas, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah sterilisasi, media dituangkan masing-masing sebanyak 5 mL ke dalam cawan petri steril, dibiarkan hingga memadat, kemudian dibungkus menggunakan plastik *wrap* dan disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C hingga digunakan (Salsabila & Trimulyono, 2022).

3.4.4.3 Media SIM

Media *Sulfide-Indole-Motility* (SIM) dibuat sebanyak 100 mL dengan cara menambahkan 100 mL akuades ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan bubuk *Sulfide-Indole-Motility* (SIM) sebanyak 3 g. Menurut Shields & Cathcart, (2016) menyatakan kandungan media SIM berupa peptone sebanyak 30 g, *beef extract* 3 g, ferrous ammonium sulfate $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 0,2 g, sodium thiosulfate $(Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O)$ 5 g, dan agar 3 g. Tahap selanjutnya campuran media dipanaskan sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut sempurna, kemudian ditutup dengan aluminium foil, dibungkus plastik tahan panas, dan

disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah sterilisasi, media dituangkan masing-masing sebanyak 5 mL ke dalam cawan petri steril, dibiarkan hingga memadat, kemudian dibungkus menggunakan plastik *wrap* dan disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C hingga digunakan (Salsabila & Trimulyono, 2022).

3.4.5 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Peralatan gelas seperti tabung reaksi, cawan petri, pipet, dan erlenmeyer disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15–20 menit. Bahan-bahan cair seperti media pertumbuhan disterilisasi dengan cara yang sama. Alat logam seperti jarum ose, dan spatula disterilisasi dengan pemanasan langsung di atas api bunsen hingga berpijar sebelum digunakan. Prosedur sterilisasi ini bertujuan untuk memastikan kondisi aseptik selama proses isolasi, identifikasi, dan pengujian bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida.

3.4.6 Tahap Isolasi dan Purifikasi BAL Penghasil EPS

Proses isolasi bakteri asam laktat (BAL) mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Murwani *et al.*, (2024). Proses isolasi dilakukan dengan mengambil 1 g sampel starter sourdough, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dihomogenkan menggunakan vortex, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-7} dengan cara memindahkan 1 mL suspensi dari pengenceran sebelumnya ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL NaCl fisiologis 0,9%, kemudian dihomogenkan kembali. Suspensi hasil pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7}

diinokulasikan masing-masing sebanyak 100 μL pada media MRS Agar yang telah ditambahkan CaCO_3 1% menggunakan metode spread plate. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam hingga tampak pertumbuhan koloni. Koloni tunggal bakteri asam laktat (BAL) yang tumbuh dengan karakteristik berbeda serta terdapat zona bening di sekitar koloni kemudian dimurnikan. Proses pemurnian dilakukan dengan mengambil 1 koloni dengan jarum ose secara aseptis kemudian diinokulasikan ke media MRS Agar yang ditambah CaCO_3 1% menggunakan metode *streak plate*.

3.4.7 Identifikasi Karakteristik Bakteri Asam Laktat penghasil EPS

3.4.7.1 Pengamatan Makroskopis

Koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) yang telah dimurnikan diamati secara makroskopis dengan memperhatikan beberapa parameter, yaitu bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni. Data hasil pengamatan dicatat sebagai dasar dalam mendukung proses karakterisasi isolat BAL lebih lanjut. Isolat BAL yang teridentifikasi kemudian dilanjutkan untuk pengamatan mikroskopis dan uji biokimia

3.4.7.2 Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis yang dilakukan mengacu pada Giyatno & Retnaningrum, (2020). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk mengamati bentuk, susunan, dan warna dari sel bakteri setelah pewarnaan Gram. Selain itu juga dilakukan pengamatan pewarnaan endospora. Pewarnaan Gram dilakukan pada semua isolat BAL dengan langkah sebagai berikut: Kultur bakteri yang berumur 24 jam diambil secara aseptik menggunakan jarum ose, kemudian diletakkan pada kaca preparat yang telah diberi dua tetes akuades.

Suspensi dihomogenkan hingga merata, lalu difiksasi dengan cara melewatkan kaca preparat di atas nyala api bunsen. Selanjutnya dilakukan proses pewarnaan dengan meneteskan larutan kristal violet selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades. Preparat ditetesi larutan iodine selama 1 menit, dibilas kembali, lalu ditetesi etanol 96% selama 10 detik dan dibilas dengan akuades. Pewarnaan terakhir dilakukan dengan meneteskan larutan safranin selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Preparat yang telah kering diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif sehingga hasil pengecatan gram menghasilkan warna ungu.

Pewarnaan endospora pada isolat BAL bertujuan untuk mendeteksi ada tidaknya endospora di dalam sel bakteri. Prosedur diawali dengan mengambil satu ose isolat BAL, kemudian diratakan pada kaca objek yang telah diberi dua tetes akuades, lalu difiksasi menggunakan panas di atas nyala api bunsen hingga kering. Setelah itu, preparat ditutup menggunakan kertas saring dan ditetesi larutan malachite green hingga seluruh permukaan tertutup, lalu didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya preparat dibilas dengan air, dan kertas saring dilepaskan. Tahap berikutnya adalah meneteskan larutan safranin pada preparat dan membiarkannya selama 1 menit, kemudian dibilas kembali dengan air dan dikeringanginkan. Preparat yang telah selesai diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000× (Falakh & Asri, 2022).

3.4.8 Tahap Uji Biokimia

3.4.8.1 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan metode slide. Koloni bakteri berumur 24 jam yang terisolasi diambil menggunakan jarum ose steril secara aseptis, lalu

ditempatkan pada kaca objek bersih. Satu tetes larutan H_2O_2 3% diteteskan langsung pada sampel di kaca objek tanpa diaduk, kemudian kaca objek segera ditutup dengan cawan petri untuk mengurangi terbentuknya aerosol. Reaksi positif ditandai dengan munculnya gelembung segera setelah penambahan H_2O_2 3%, sedangkan tidak adanya gelembung menunjukkan hasil negatif. Protokol ini dilakukan sesuai dengan panduan dari *American Society for Microbiology* (Reiner, 2016).

3.4.8.2 Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan dengan mengacu pada metode yang dilakukan oleh Salsabilla & Trimulyono, (2022). Isolat bakteri asam laktat (BAL) yang telah dimurnikan diinokulasikan secara tegak lurus ke dalam media *Sulfite Indole Motility* (SIM) semi padat di dalam tabung reaksi menggunakan jarum ose steril dengan kedalaman sekitar $\frac{1}{4}$ dari tinggi media. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan oleh pertumbuhan bakteri yang menyebar dari jalur tusukan, yang menandakan bahwa bakteri bersifat motil, sedangkan pertumbuhan yang terbatas pada jalur inokulasi menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memiliki kemampuan bergerak (non motil).

3.4.8.3 Uji Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi mengacu pada prosedur Nuryanti *et al.*, (2021). Uji ini dilakukan dengan menyiapkan media MRS Broth pada tabung reaksi sebanyak 10 ml. Langkah selanjutnya dimasukkan tabung Durham ke setiap tabung reaksi yang berisi media kemudian di inokulasikan bakteri dengan cara mengambil satu koloni bakteri dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah dipersiapkan sebelumnya. Setelah itu, sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah inkubasi, produksi gas CO_2 diamati secara visual berdasarkan terbentuknya

gelembung pada tabung Durham. Isolat yang menunjukkan pembentukan gas dinyatakan memiliki aktivitas fermentasi heterofermentatif, sedangkan isolat tanpa pembentukan gas dicatat sebagai bakteri homofermentatif.

3.4.9 Screening Isolat BAL penghasil EPS

Isolat bakteri asam laktat (BAL) yang telah dimurnikan kemudian dilakukan screening untuk menentukan apakah isolat dapat menghasilkan EPS. Prosedur ini mengacu pada penelitian Tapsoba *et al.*, (2017). Langkah pertama isolat diinokulasikan pada media MRSA yang diperkaya sukrosa 2% menggunakan metode streak plate. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Setelah inkubasi, koloni diamati secara makroskopis. Koloni yang menunjukkan lendir (*mucoïd*) dan ropy diamati sebagai tanda bahwa koloni tersebut mampu menghasilkan EPS. Koloni lendir umumnya tampak mengkilap dan berlendir tetapi tidak membentuk filamen, sementara koloni ropy dapat membentuk filamen panjang saat disentuh dengan jarum ose.

3.4.10 Uji Produksi EPS Kasar

Uji produksi EPS kasar dilakukan dengan metode Gravimetri. Isolat bakteri asam laktat (BAL) ditumbuhkan dalam medium MRS Broth yang diperkaya sukrosa 5% masing-masing sebanyak 5 ml kedalam tabung sentrifugasi sehingga total volume kultur menjadi 10 ml kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C. Setelah inkubasi, kultur kemudian disentrifugasi pada suhu 4 °C dengan kecepatan 4000 rpm selama 45 menit untuk memisahkan sel bakteri dari supernatan. Setelah proses ini, supernatan didinginkan hingga suhu ruang, kemudian supernatan yang diperoleh diambil sebanyak 5 mL dan ditambahkan etanol dingin 96% sebanyak 10 mL (2 kali volume sampel) dan disimpan pada suhu

4 °C selama 24 jam untuk memfasilitasi presipitasi eksopolisakarida (EPS). Endapan yang terbentuk dipisahkan kembali dengan sentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm selama 45 menit. Pellet eksopolisakarida (EPS) yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan menggunakan Oven suhu 100°C selama 15 menit (Lawalata *et al.*, 2023; Garcia-Muchart *et al.*, 2024). Penimbangan dilakukan dengan mengacu pada rumus Nasution dkk., (2022) dengan cara ditimbang berat tabung berisi EPS kering lalu dikurangi berat tabung kosong yang semula, hingga didapatkan berat konstannya lalu ditentukan rendemannya dengan rumus:

$$Kadar\ EPS\ (\frac{mg}{L}) = \frac{Berat\ EPS\ Kering\ (mg)}{Volume\ Media\ (L)}$$

3.4.11 Uji MALDI-TOF

Pengamatan molekuler dilakukan dengan menggunakan metode *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF) dengan mengacu pada Hodille *et al.*, (2023). Identifikasi spesies Bakteri Asam Laktat dilakukan dengan menggunakan spektrometri massa VITEK®MS (bioMérieux, Prancis). Prosedur dimulai dengan mengambil satu koloni murni yang kemudian ditempatkan langsung pada pelat target VITEK®MS. Setelah dikeringkan, ditambahkan 0,5 µL asam format, diikuti 1 µL matriks CHCA setelah sampel mengering. Instrumen dikalibrasi menggunakan strain referensi *Escherichia coli* ATCC 8739 sebelum analisis. Slide kemudian dimasukkan kedalam alat untuk menghasilkan spektrum massa yang dibandingkan dengan basis data VITEK®-MS IVD dan hasil identifikasi dinyatakan valid apabila tingkat kepercayaan $\geq 99,9\%$.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil identifikasi disajikan secara deskriptif kualitatif meliputi karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari masing-masing

isolat bakteri asam laktat (BAL) yang telah diisolasi dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dan gambar diagram nilai eksopolisakarida kasar yang dihasilkan.

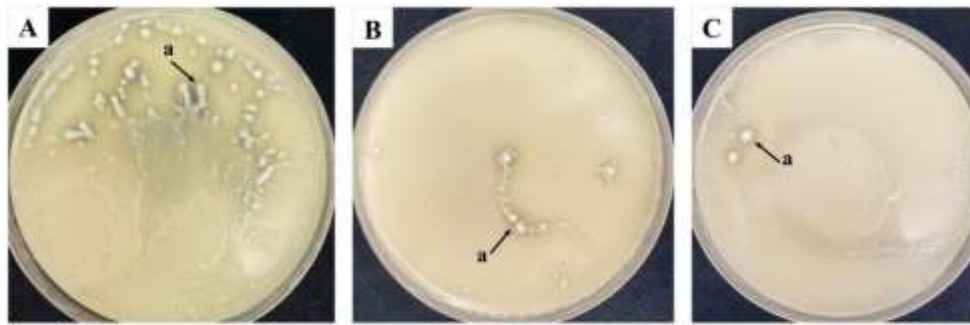
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

4.1.1 Identifikasi Makroskopis Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari sampel starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terdapat karakteristik koloni yang serupa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enam koloni bakteri asam laktat dengan karakteristik serupa yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni (Gambar 4.1). Hal ini mengindikasikan bahwa isolat yang diperoleh merupakan Bakteri Asam Laktat (BAL). Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengacu pada *Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9th* (Holt *et al.*, 1994) . Parameter yang diamati meliputi bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni BAL yang tumbuh pada media MRS Agar. Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa semua isolat memiliki bentuk koloni bulat (*circular*) dengan tepian rata (*entire*), elevasi cembung (*convex*) serta warna putih susu (Tabel 4.1 dan Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Hasil Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada media MRSA+CaCO₃. Keterangan: A). Pengenceran 10⁻⁵ B). Pengenceran 10⁻⁶ C). Pengenceran 10⁻⁷. a). Zona bening

Tabel 4. 1 Morfologi Koloni Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Kode Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
SA 1	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
SA 2	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
SA 3	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
SA 4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
SA 5	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
SA 6	Bulat	Rata	Cembung	Putih Susu

Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni sejalan dengan Lawalata *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa keberadaan CaCO₃ dalam media dapat digunakan sebagai indikator adanya bakteri penghasil asam, termasuk Bakteri Asam Laktat (BAL). Media yang mengandung CaCO₃ awalnya tampak keruh, namun akan terlarut oleh asam yang dihasilkan oleh BAL sehingga terbentuk zona bening. Menurut Sumual dkk., (2019) menyatakan bahwa koloni bakteri asam laktat akan tumbuh membentuk zona jernih di sekitarnya. Zona jernih terbentuk akibat produksi asam laktat oleh bakteri yang bereaksi dengan CaCO₃ dalam media. Reaksi tersebut menyebabkan CaCO₃ yang semula tidak larut menjadi larut, sehingga menghasilkan area jernih di sekitar koloni.

Hasil identifikasi makroskopis yang diperoleh dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian Afianti *et al.*, (2025) yang melaporkan karakteristik isolat bakteri asam laktat (BAL) dari starter sourdough berbentuk bulat dan berwarna putih susu. Selain itu Kocaslan *et al.*, (2021) juga melaporkan bahwa isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari starter sourdough memiliki karakteristik koloni yang berbentuk bulat, tepian rata dan elevasi cembung yang sesuai dengan hasil yang ditemukan dalam penelitian ini. Kesamaan karakteristik makroskopis tersebut mengindikasikan bahwa isolat yang diperoleh merupakan BAL yang umum ditemukan dalam ekosistem sourdough.

4.1.2 Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

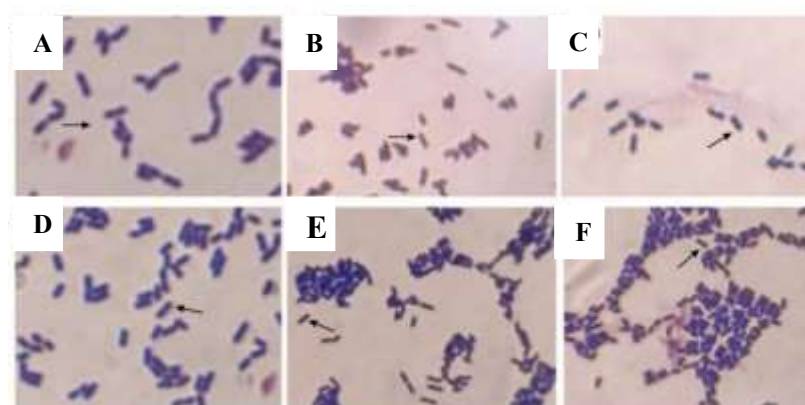
Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui karakteristik sel isolat BAL yang diperoleh dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) melalui dua metode pewarnaan, yaitu pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora. Pewarnaan Gram dilakukan untuk menentukan tipe dinding sel bakteri, sedangkan pewarnaan endospora dilakukan untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh bukan merupakan bakteri pembentuk spora yang dapat mengindikasikan kontaminasi atau kehadiran bakteri non-BAL dalam starter sourdough. Hasil pengamatan pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora seluruh isolat disajikan pada (Tabel 4.2).

Tabel 4. 2 Hasil Identifikasi Mikroskopis Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.)

Karakteristik Mikroskopis			
Kode Isolat	Bentuk	Pewarnaan Gram	Pewarnaan Endospora
SA 1	Batang pendek	(+)	(-)
SA 2	Batang pendek	(+)	(-)
SA 3	Batang pendek	(+)	(-)
SA 4	Batang pendek	(+)	(-)
SA 5	Batang pendek	(+)	(-)
SA 6	Batang pendek	(+)	(-)

Keterangan: + = Gram positif
- = Tidak terdapat Endospora

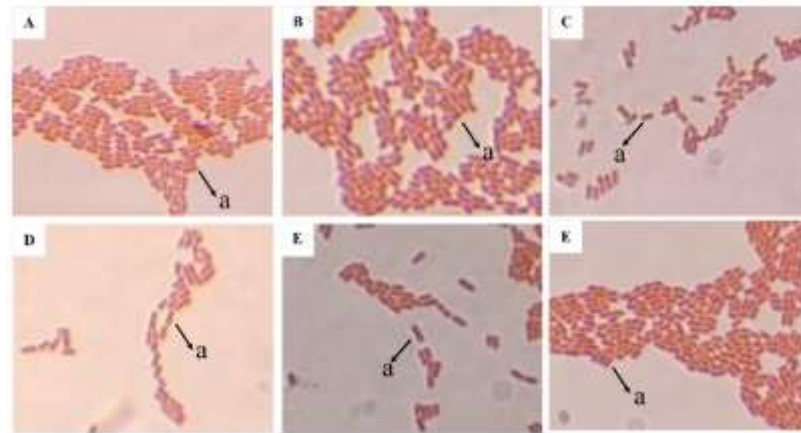
Hasil identifikasi mikroskopis menunjukkan bahwa isolat SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, dan SA-6 termasuk bakteri gram positif karena terlihat berwarna ungu dan memiliki bentuk sel batang pendek (Gambar 4.2). Hasil ini sesuai dengan penelitian Urshev *et al.*, (2024) yang melaporkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari starter sourdough didominasi oleh sel berbentuk batang pendek serta tergolong Gram positif dan tidak membentuk spora. Selain itu hal ini juga didukung oleh Widodo (2019) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk bakteri gram positif dan berbentuk batang atau bulat.



Gambar 4. 2 Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) (Perbesaran 1000x). Keterangan: A). Isolat SA-1 B). Isolat SA-2 C). Isolat SA-3 D). Isolat SA-4 E). Isolat SA-5 F). Isolat SA-6

Warna ungu yang tampak pada seluruh isolat menunjukkan bahwa dinding sel bakteri mampu mengikat pewarna kristal violet pada pewarnaan gram. Menurut Husain *et al.*, (2022) menyatakan bahwa bakteri Gram positif berwarna ungu karena mampu mempertahankan kompleks kristal violet-iodin meskipun dicuci dengan alkohol, akibat struktur dinding sel yang tebal dan permeabilitasnya menurun. Sebaliknya bakteri Gram negatif berwarna merah karena kandungan lipid yang tinggi pada dinding selnya rusak oleh alkohol sehingga kompleks kristal violet terlepas dan sel menyerap pewarna safranin.

Hasil pewarnaan endospora pada isolat SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, dan SA-6 menunjukkan bahwa semua isolat tidak membentuk endospora yang ditandai dengan tidak ditemukannya endospora yang terwarnai hijau oleh *Malachite green* pada pengamatan mikroskopis (Gambar 4.3). Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL). Hal ini sesuai dengan penelitian Amaliah *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa pada pewarnaan endospora, bakteri yang membentuk endospora akan terwarnai hijau oleh malachite green, sedangkan bakteri non-endospora tidak menyerap pewarna tersebut dan hanya sel vegetatif yang terwarnai merah oleh safranin. Selain itu hasil ini juga sejalan dengan penelitian Urshev *et al.*, (2024) yang menyatakan bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari starter sourdough pada hasil pewarnaan endospora menunjukkan hasil negatif.



Gambar 4. 3 Pewarnaan Endospora Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) (Perbesaran 1000x). Keterangan: A). Isolat SA-1 B). Isolat SA-2 C). Isolat SA-3 D). Isolat SA-4 E). Isolat SA-5 F). Isolat SA-6 a). Sel vegetatif

Bakteri asam laktat tidak membentuk endospora karena secara genetik tidak memiliki mekanisme sporulasi. Endospora hanya dimiliki oleh kelompok bakteri tertentu seperti *Bacillus* dan *Clostridium* yang mempunyai jalur genetik khusus untuk membentuk spora. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan membentuk endospora merupakan ciri taksonomis yang terbatas pada beberapa genus bakteri (Harmoko dkk., 2025).

4.1.3 Uji Biokimia Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

Uji biokimia terhadap enam isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.) dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisiologis dan metabolik isolat yang diperoleh. Pengujian ini meliputi beberapa parameter seperti uji katalase, uji motilitas, dan uji tipe fermentasi. Hasil uji biokimia digunakan sebagai

dasar dalam identifikasi awal bakteri asam laktat (BAL). Data hasil pengujian biokimia dilampirkan dalam Tabel 4.3

Tabel 4. 3 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.)

Uji Biokimia				
No	Kode Isolat	Katalase	Tipe Fermentasi	Motilitas
1	SA 1	(-)	Homofermentatif	(-)
2	SA 2	(-)	Heterofermentatif	(-)
3	SA 3	(-)	Homofermentatif	(-)
4	SA 4	(-)	Heterofermentatif	(-)
5	SA 5	(-)	Homofermentatif	(-)
6	SA 6	(-)	Homofermentatif	(-)

4.1.3.1 Uji Katalase

Hasil uji biokimia dari isolat SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, dan SA-6 menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki karakteristik yang mengarah ke bakteri asam laktat. Hal ini ditunjukkan oleh hasil uji katalase pada seluruh isolat negatif, yaitu tidak terbentuk gelembung ketika ditetesi larutan H_2O_2 3% (Lampiran 4). Sejalan dengan pernyataan Julendra *et al.*, (2017) bahwa bakteri asam laktat (BAL) pada uji katalase menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung setelah penambahan H_2O_2 3%. Menurut Medaando dkk., (2024) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa BAL yang diisolasi dari kulit buah nanas memiliki karakteristik katalase negatif.

Sifat katalase negatif pada isolat diduga berkaitan dengan karakter metabolisme bakteri asam laktat (BAL) yaitu tumbuh pada kondisi anaerob fakultatif atau mikroaerofilik (Holt *et al.*, 1994). Mikroorganisme anaerob umumnya tidak memiliki enzim katalase sehingga tidak menunjukkan pembentukan gelembung (Effendi, 2020). Sedangkan mikroorganisme aerob menghasilkan H_2O_2

sebagai produk samping metabolisme yang bersifat toksik sehingga memerlukan enzim katalase untuk menguraikannya (Cappucino & Sherman 2014). Menurut Frazier dan Westhoff (1988) dalam Finanda *et al.*, (2021) menyatakan bahwa bakteri asam laktat (BAL) umumnya tidak menghasilkan enzim katalase karena bersifat anaerob fakultatif. Sebagai gantinya, bakteri ini memiliki enzim lain seperti peroksidase yang berperan dalam memecah H_2O_2 menjadi senyawa organik dan H_2O dan tidak menghasilkan gelembung udara.

Penggunaan kultur bakteri yang berumur 24 jam pada uji katalase mengacu pada Khatoon *et al.*, (2022), yang menyatakan bahwa enzim hanya terdapat pada sel hidup, sehingga penggunaan kultur yang terlalu tua yaitu melebihi 24 jam dapat menyebabkan hasil negatif palsu. Selain itu pada uji ini digunakan larutan H_2O_2 dengan konsentrasi 3%. Menurut Reiner (2016) menyatakan bahwa penggunaan H_2O_2 3% pada uji katalase merupakan standar untuk pengujian rutin pada bakteri aerob dan fakultatif anaerob. Sementara itu, konsentrasi yang lebih tinggi seperti 15% digunakan untuk bakteri anaerob obligat yang memiliki aktivitas enzim rendah.

4.1.3.2 Uji Motilitas

Hasil uji motilitas menunjukkan hasil negatif yaitu koloni bakteri tidak tumbuh menyebar di media sehingga mengindikasikan bahwa isolat bakteri bersifat non-motil (Lampiran 5). Hal ini sesuai dengan penelitian Medaando dkk, (2024) bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari kulit buah nanas memiliki karakteristik yaitu non-motil. Menurut Julendra *et al.*, (2017) menyatakan bahwa bakteri asam laktat tidak memiliki flagel sebagai alat gerak. Hal ini menyebabkan

pertumbuhan bakteri pada media SIM tidak menyebar sehingga menunjukkan sifat non-motil.

Sifat non-motil pada isolat juga dapat menjadi salah satu indikator awal bahwa bakteri tersebut termasuk kelompok bakteri asam laktat (BAL), karena sebagian besar BAL umumnya tidak memiliki alat gerak berupa flagel sehingga tidak mampu melakukan pergerakan aktif (Zheng *et al.*, 2020). Namun beberapa spesies tertentu dilaporkan memiliki kemampuan motilitas karena adanya flagel seperti *Lactobacillus agilis* dan *Lactobacillus ruminis* (Gemmell & Hodkiss, 1964; Neville *et al.*, 2012). Selain itu, Kajikawa *et al.*, (2016) juga melaporkan bahwa *Lactobacillus agilis* memiliki karakter motilitas yang tinggi akibat keberadaan protein flagelin pada struktur flagelanya.

4.1.3.3 Uji Tipe Fermentasi

Hasil uji tipe fermentasi menunjukkan bahwa isolat SA-1, SA-3, SA-5, dan SA-6 bersifat homofermentatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas (CO₂) pada tabung durham sedangkan isolat SA-2, dan SA-4 bersifat heterofermentatif yang ditandai dengan adanya gelembung gas (CO₂) pada tabung durham (Lampiran 6). Hal ini sesuai dengan pernyataan Yasmin dkk., (2022) yang menyatakan bahwa isolat bakteri asam laktat yang menghasilkan gelembung gas pada tabung durham dikategorikan sebagai heterofermentatif, sedangkan jika bakteri tidak menghasilkan gelembung gas dikategorikan sebagai homofermentatif. Menurut Buron-Moles *et al.*, (2019) bakteri homofermentatif memetabolisme glukosa melalui jalur *Embden–Meyerhof–Parnas* (EMP) atau glikolisis. Dalam jalur ini, glukosa dikonversi hampir sepenuhnya menjadi asam laktat sebagai produk akhir utama, tanpa menghasilkan gas atau produk samping lain sehingga

pada uji tipe fermentasi tidak ada gelembung (CO₂) yang terbentuk. Sedangkan bakteri heterofermentatif menghasilkan berbagai produk akhir fermentasi tidak hanya asam laktat sebagai produk utama tetapi juga etanol, asam asetat dan karbon dioksida (CO₂) yang kemudian dalam uji tipe fermentasi terlihat adanya gelembung pada tabung Durham

Hasil karakterisasi bakteri berdasarkan identifikasi makroskopis, mikroskopis dan biokimia menunjukkan bahwa isolat SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, dan SA-6 menunjukkan ciri bakteri asam laktat dalam genus *Lactobacillus*. Hal ini sejalan dengan penelitian Afianti *et al.*, (2025) yang melaporkan bahwa isolat BAL dari starter sourdough memiliki ciri Gram positif, berbentuk basil, dan katalase negatif, dengan tipe fermentasi homofermentatif dan heterofermentatif. Menurut Bartkiene *et al.*, (2020) kelompok *Lactobacillus* dapat berupa homofermentatif fakultatif, atau heterofermentatif obligat sedangkan *Leuconostoc* bersifat heterofermentatif obligat dengan bentuk sel bulat. Selain itu menurut Holt *et al.*, (1994) menyatakan bahwa genus *Lactobacillus* selnya berbentuk batang, Gram positif, berukuran 0,5-1,2 x 1,0-10,0 µm, umumnya tersusun rantai pendek, tidak membentuk spora, jarang motil, bersifat anaerob fakultatif atau mikroaerofilik serta banyak ditemukan pada bahan fermentasi dan jarang bersifat patogen.

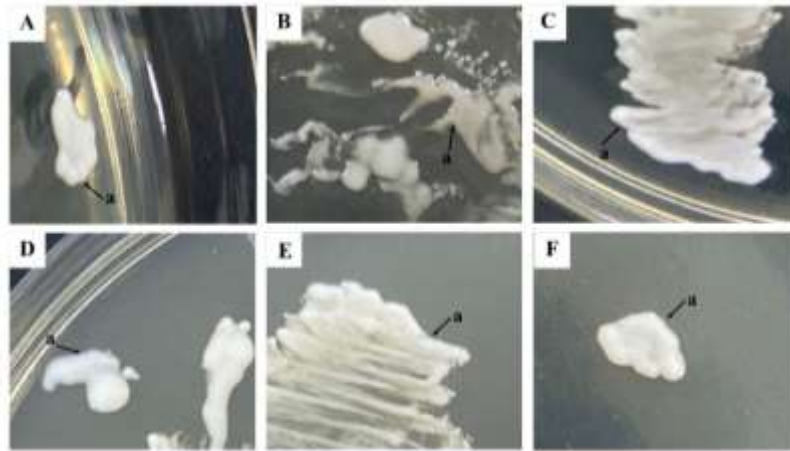
Dugaan bahwa isolat termasuk genus *Lactobacillus* juga didukung oleh pH starter sourdough yang bersifat asam yaitu sebesar 4,2. Kondisi tersebut masih dalam rentang toleransi dari beberapa spesies seperti dalam penelitian Kondybayev *et al.*, (2022) yang melaporkan bahwa spesies *Lactobacillus casei* mampu tumbuh pada pH minimum sekitar 3,84 dengan pH optimum 6,69 serta *Lactobacillus kefir* memiliki kisaran pertumbuhan pada pH 3,35-7,64 dengan pH optimal 5,93. Selain

itu menurut Vera-peña & Rodriguez, (2020) menyatakan bahwa sebagian besar bakteri asam laktat mampu bertahan pada kondisi asam di bawah pH 5,0 karena umumnya berasal dari habitat asam meskipun tingkat toleransi terhadap pH rendah berbeda pada setiap strain.

4.2 Kemampuan Produksi Eksopolisakarida Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

4.2.1 Uji Screening Produksi Eksopolisakarida Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Hasil uji screening pada seluruh isolat SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, dan SA-6 menunjukkan bahwa semua koloni yang ditumbuhkan pada media MRSA dengan penambahan sukrosa 2% menghasilkan koloni berlendir (*mucoïd*), yang mengindikasikan adanya produksi eksopolisakarida (Gambar 4.4) . Hal ini sejalan dengan penelitian Yuliana *et al.*, (2020) yang melaporkan bahwa isolat BAL yang menunjukkan potensi produksi eksopolisakarida ditandai dengan terbentuknya lapisan lendir pada permukaan koloni sehingga koloni tampak mengkilap. Hal ini juga didukung oleh Dertli *et al.*, (2016) yang berhasil mengisolasi 249 bakteri asam laktat dari sourdough gandum tradisional Turki yang tergolong ke dalam 47 strain dan 11 spesies. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berbagai strain BAL dalam sourdough memiliki kemampuan menghasilkan eksopolisakarida (EPS) yang ditandai dengan koloni *mucoïd* (berlendir), serta terdeteksinya gen-gen yang berperan dalam biosintesis EPS. Temuan tersebut mengindikasikan bahwa sourdough merupakan sumber yang kaya akan bakteri asam laktat penghasil EPS.



Gambar 4. 4 Morfologi Makroskopis Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL).
Keterangan: A). Isolat SA-1 B). Isolat SA-2 C). Isolat SA-3 D). Isolat SA-4 E). Isolat SA-5 F). Isolat SA-6 a). Lendir

Penelitian ini menggunakan media MRSB dengan penambahan sukrosa 2%.

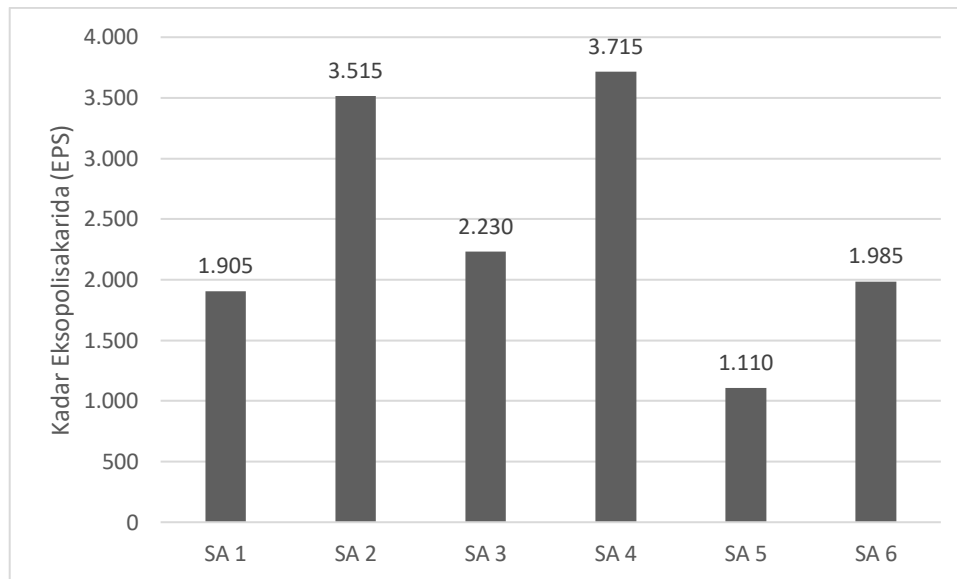
Sukrosa berfungsi sebagai sumber karbon dan energi bagi bakteri yang mendukung pertumbuhan serta aktivitas metabolisme termasuk produksi eksopolisakarida (EPS). Sejalan dengan hal tersebut Jin *et al.*, (2019) melaporkan bahwa dari berbagai sumber karbon yang diuji untuk screening EPS yaitu glukosa, sukrosa, galaktosa, laktosa, fruktosa, rafinosa dan maltosa, sukrosa merupakan sumber karbon utama yang menghasilkan produksi EPS tertinggi. Namun penelitian Yuliana *et al.*, (2020) melaporkan bahwa pengaruh berbagai sumber karbon terhadap produksi EPS menunjukkan hasil yang berbeda pada tiap isolat. Sukrosa memberikan produksi EPS tertinggi pada enam isolat sedangkan dua isolat lainnya lebih optimal jika menggunakan galaktosa dan laktosa.

Midik *et al* (2020) melaporkan bahwa penambahan glukosa 2% pada media MRS Broth tidak memberikan perubahan terhadap produksi eksopolisakarida pada beberapa strain BAL, seperti *L. plantarum* MF169, *L. plantarum* MF176, *P. ethanolidurans* MF194, *L. plantarum* MF400, *L. plantarum* MF460 dan *L.*

plantarum MF556. Namun, pada beberapa strain lain seperti *L. namurensis* MF210, *L. plantarum* MF232 dan *L. plantarum* MF303 penambahan glukosa menyebabkan sedikit peningkatan produksi EPS. Hasil tersebut menunjukkan bahwa respon produksi EPS terhadap sumber karbon tambahan dapat berbeda pada setiap strain bakteri asam laktat.

4.2.2 Uji Produksi EPS kasar Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

Hasil produksi eksopolisakarida (EPS) kasar pada isolat SA-1, SA-2, SA-3, SA-4, SA-5, dan SA-6 menunjukkan bahwa isolat SA-4 dan SA-2 memiliki kemampuan produksi tertinggi dibandingkan isolat lainnya. Isolat SA-4 menghasilkan EPS kasar sebesar 3.715 mg/L, diikuti oleh isolat SA-2 sebesar 3.515 mg/L. Sementara itu, isolat lainnya menghasilkan EPS dalam jumlah yang lebih rendah yaitu SA-3 sebesar 2.230 mg/L, SA-6 sebesar 1.985 mg/L, SA-1 sebesar 1.905 mg/L dan SA-5 sebesar 1.110 mg/L (Gambar 4.5). Hasil ini sebanding dengan penelitian Puspawati *et al.*, (2021) yang melaporkan kadar EPS *Lactobacillus plantarum* pada substrat jus raspberry berkisar antara 1.221–4.792 mg/L, serta lebih tinggi dibandingkan penelitian Zubaidah *et al.*, (2014) yang melaporkan kadar EPS *L. casei* dan *L. plantarum* pada media sari kurma masing-masing sebesar 3.413,33 mg/L dan 3.316,67 mg/L.



Gambar 4. 5 Kadar Eksopolisakarida (EPS) Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat yang berasal dari sourdough tanpa penambahan buah umumnya menghasilkan EPS dalam jumlah yang bervariasi. Lutter *et al.*, (2025) melaporkan bahwa isolat *Lactiplantibacillus plantarum* yang diisolasi dari *rye* sourdough menghasilkan EPS sebesar 131,4–225,2 mg/L. Sementara itu, Abedfar *et al.*, (2018) melaporkan bahwa isolat *Lactobacillus plantarum* dan *Pediococcus pentosaceus* yang berasal dari sourdough dedak gandum (*wheat bran sourdough*) menghasilkan EPS masing-masing sebesar $408,443 \pm 14,833$ mg/L dan $263,629 \pm 16,107$ mg/L. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian ini, kadar EPS yang dihasilkan oleh isolat dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi buah menunjukkan nilai kadar EPS yang lebih tinggi. Hal tersebut mengindikasikan bahwa penambahan air fermentasi buah berpotensi menyediakan substrat dan nutrisi tambahan yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat serta meningkatkan sintesis eksopolisakarida.

Selain pada sourdough, bakteri asam laktat (BAL) penghasil EPS juga banyak ditemukan pada berbagai buah-buahan. Lawalata *et al* (2023), tujuh belas isolat BAL yang berasal dari buah pakoba (*Syzygium luzonense*) dan tergolong dalam genus *Lactobacillus* menunjukkan kemampuan menghasilkan eksopolisakarida (EPS) dengan kadar yang bervariasi, yaitu berkisar antara 102–1.570 mg/L. sedangkan Giyatno & Retnaningrum, (2020) melaporkan isolat BAL yang berasal dari buah kersen (*Muntingia calabura* L.) menghasilkan eksopolisakarida (EPS) dalam jumlah yang bervariasi, yaitu berkisar antara 870–1.910 mg/L. Produksi EPS tertinggi ditemukan pada *Lactobacillus plantarum* DC4B sebesar $1.910 \pm 164,62$ mg/L, sedangkan yang terendah dihasilkan oleh *L. plantarum* DC1A sebesar $870 \pm 20,00$ mg/.

Produksi EPS oleh enam isolat BAL dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi Apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.) menunjukkan jumlah yang bervariasi meskipun keenam isolat ini diidentifikasi dalam genus yang sama yaitu *Lactobacillus*. Menurut Lawalata *et al* (2023) menyatakan bahwa perbedaan hasil kadar EPS dapat dipengaruhi oleh keragaman genetik. Perbedaan gen pada spesies maupun strain mempengaruhi proses metabolisme dan jumlah metabolit yang dihasilkan. Selain itu, faktor lingkungan seperti suhu, pH, ketersediaan nutrisi, serta kondisi fisiologis sel juga menentukan jumlah polimer yang disekresikan. Selain itu, waktu inkubasi berperan penting karena produksi eksopolisakarida (EPS) dipengaruhi oleh fase pertumbuhan bakteri, di mana sintesis EPS umumnya meningkat pada fase logaritmik akhir hingga fase stasioner awal.

Waktu inkubasi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dalam menghasilkan eksopolisakarida. Hasil penelitian Permanasari *et al.*, (2024) melaporkan bahwa produksi EPS meningkat seiring dengan bertambahnya kadar sukrosa dan lamanya waktu fermentasi. Pada *Lactobacillus fermentum*, produksi eksopolisakarida (EPS) tertinggi sebesar 12,613 g/L diperoleh pada media dengan penambahan sukrosa 3% dan inkubasi selama 48 jam, yang menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan inkubasi 12 maupun 24 jam. Penelitian (Mıdık et al., 2020) Mıdık *et al.*, (2020) melaporkan bahwa waktu inkubasi 48 jam merupakan periode optimal untuk produksi EPS dalam jumlah yang tinggi pada bakteri asam laktat indigenous. Selain itu optimalisasi kondisi kultur bersifat spesifik untuk setiap strain (*strain-specific*), sehingga penentuan kondisi terbaik harus disesuaikan secara individual untuk meningkatkan hasil produksi EPS. Penelitian K *et al.*, (2017) melaporkan bahwa produksi EPS mencapai maksimum pada rentang 18-96 jam kemudian mengalami penurunan setelah 96 jam.

Penelitian Tijani *et al.*, (2025) melaporkan bahwa produksi EPS oleh *Lactobacillus sp* dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan nutrisi selama fermentasi. Suhu optimal 30° C menghasilkan EPS 1,15 g/100 mL sedangkan suhu lebih tinggi menurunkan produksinya. pH optimum dalam menghasilkan EPS berada pada 7,0 dengan hasil 1,87 g/100 mL, sementara kondisi basa menghambat pertumbuhannya. Produksi maksimum terjadi pada inkubasi 48 jam yaitu dengan hasil EPS 1,02 g/100 mL kemudian akan menurun akibat degradasi oleh enzim. Sumber karbon terbaik dalam penelitian ini yaitu pati dengan hasil 4,86 g/100 mL.

4.2.3 Identifikasi MALDI-TOF MS isolat Bakteri Asam Laktat Asal Starter Sourdough Penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dengan Kemampuan Potensi Terbaik Sebagai Penghasil Eksopolisakarida Kasar

Hasil identifikasi isolat BAL yang memiliki potensi terbaik penghasil EPS yaitu isolat SA-2 dan SA-4 dengan menggunakan metode MALDI-TOF MS menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut memiliki tingkat kemiripan tinggi dengan kelompok *Lactobacillus* yaitu *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus paraplantarum* dengan nilai kesesuaian 99,9% (Tabel 4.4). Ketiga spesies tersebut termasuk dalam kelompok *Lactobacillus* yang memiliki kemiripan profil protein sangat tinggi sehingga sulit dibedakan secara spesifik menggunakan MALDI-TOF MS. Hal ini sesuai menurut pernyataan Kim *et al.*, (2020) yang menyatakan identifikasi kelompok *Lactobacillus* yang mencakup *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* dan *Lactobacillus pentosus* sulit dilakukan menggunakan MALDI-TOF MS karena tingginya kemiripan fenotip, profil protein, dan kesamaan genetik (99,4-99,9% pada gen 16S rRNA). Akibatnya satu isolat dapat teridentifikasi sebagai beberapa spesies dengan skor yang serupa.

Tabel 4. 4 Hasil Identifikas MALDI-TOF MS Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.)

No	Kode isolat	Spesies	Confident
1	SA-4	<i>Lactobacillus pentosus</i> / <i>Lactobacillus plantarum</i> / <i>Lactobacillus paraplantarum</i>	99,9%
2	SA-2	<i>Lactobacillus pentosus</i> / <i>Lactobacillus plantarum</i> / <i>Lactobacillus paraplantarum</i>	99,9%

Hal tersebut juga sesuai menurut pernyataan Li *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa metode MALDI-TOF MS memiliki prinsip kerja yang didasarkan pada konsep protein fingerprint, yaitu proses identifikasi bakteri melalui profil protein spesifik yang dimilikinya. Namun metode ini masih kurang efektif dalam membedakan subspecies maupun galur yang resisten terhadap antibiotik. Keterbatasan tersebut disebabkan oleh tingginya kemiripan profil protein antar spesies atau strain sehingga nilai kesesuaian yang dihasilkan serupa dalam proses identifikasi. Menurut Rychert, (2019) juga menyatakan keterbatasan MALDI-TOF MS yaitu ketidakmampuan membedakan spesies mikroorganisme dengan profil kemiripan yang tinggi. Hal ini menyebabkan beberapa spesies yang berkerabat dekat sulit diidentifikasi secara spesifik.

Hasil uji MALDI-TOF menunjukkan bahwa isolat SA-2 dan SA-4 masing-masing memiliki tingkat kepercayaan sebesar 99,9% yang mengindikasikan hasil identifikasi yang valid (Tabel 4.4). Isolat tersebut teridentifikasi sebagai kelompok spesies yang berkerabat dekat, yaitu *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus paraplantarum*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hodille *et al.*, (2023) menyatakan bahwa hasil identifikasi MALDI-TOF dinyatakan valid apabila tingkat kepercayaan $\geq 99,9\%$. Selain itu menurut Ashmawy *et al.*, (2025) MALDI-TOF menghasilkan skor kepercayaan antara 0-99,9%. Skor 95-99,9% menunjukkan identifikasi yang sangat tinggi pada tingkat spesies, sedangkan skor 90-94% menunjukkan identifikasi pada tingkat genus. Pada rentang 50-94% identifikasi hanya dapat diterima pada tingkat genus apabila kecocokan berasal dari beberapa spesies dalam genus yang sama, jika berasal dari genus berbeda maka hasil dianggap tidak valid.

Keberhasilan identifikasi menggunakan MALDI-TOF MS tidak hanya dipengaruhi oleh instrumen yang digunakan, tetapi juga oleh tahapan preparasi sampel. Dalam penelitian ini, penggunaan asam format dan matriks CHCA diduga turut berperan dalam mendukung keberhasilan identifikasi karena keduanya membantu proses preparasi protein. Menurut Calderaro & Cezzii (2023)., matriks *α -cyano-4-hydroxycinnamic acid* (CHCA) digunakan untuk menyerap energi laser dan mentransfernya kepada molekul sampel selama proses ionisasi, sehingga dapat mengurangi fragmentasi berlebih serta memfasilitasi pembentukan kristal bersama antara matriks dan sampel. Sementara itu, asam format berfungsi sebagai agen praperlakuan (*pretreatment*) yang membantu merusak atau melunakkan dinding sel mikroorganisme yang tebal dan kompleks, terutama pada bakteri Gram positif dan jamur, sehingga protein ribosomal di dalam sel dapat dilepaskan dan selanjutnya diionisasi oleh sistem MALDI-TOF MS.

Haider *et al.*, (2023) juga menjelaskan bahwa penggunaan *matriks α -cyano-4-hydroxycinnamic acid* (CHCA) dan asam format memiliki peran penting dalam proses preparasi sampel dan ionisasi pada MALDI-TOF MS. CHCA berfungsi sebagai matriks yang menyerap energi laser dan mentransfernya ke molekul analit untuk memicu proses desorpsi dan ionisasi, sehingga analit dapat terdeteksi tanpa mengalami kerusakan yang berlebihan. Sementara itu, asam format digunakan pada tahap preparasi sampel untuk membantu ekstraksi protein, terutama protein ribosomal, sehingga dihasilkan profil protein yang khas dan dapat digunakan untuk identifikasi mikroorganisme.

4.3 Kajian Hasil Penelitian dengan Perspektif Al-Qur'an

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari sourdough dengan penambahan air fermentasi apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.) memiliki karakteristik yang mengarah pada kemampuan menghasilkan eksopolisakarida (EPS). Selain itu penggunaan air fermentasi apel dalam penelitian ini dimaksudkan sebagai bahan pendukung fermentasi sourdough yang dapat menyediakan lingkungan dan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroorganisme fermentatif. Dalam perspektif islam, pemanfaatan bahan pangan hasil fermentasi yang aman dan bermanfaat sejalan dengan perintah Allah SWT dalam QS. Al-Baqarah [2]: 168 sebagai berikut:

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

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.” (QS. Al-Baqarah [2]: 168)

Ayat ini menegaskan bahwa konsumsi makanan tidak hanya cukup memperhatikan kehalalannya secara syariat, namun juga harus “*Thayyib*” yaitu baik dari segi mutu dan aman untuk kesehatan. Lafadz طَيِّبًا dalam tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa makanan yang halal belum tentu thayyib, dan yang thayyib belum tentu halal karena pilihan “baik” dapat berbeda bagi setiap orang sesuai kondisi masing-masing. Ada jenis makanan yang halal dan bermanfaat bagi seseorang dengan kondisi tertentu namun kurang sesuai bagi orang lain, meskipun baik baginya (Shihab, 2000). Prinsip ini mengajarkan bahwa selain memperhatikan

kehalalan, umat manusia juga harus bijak memilih makanan yang memberikan kebaikan dan kemaslahatan bagi tubuh serta tidak menimbulkan mudharat.

Dalam penelitian ini, penggunaan bakteri asam laktat dalam fermentasi pangan, termasuk pada sourdough, mencerminkan upaya pemanfaatan mikroorganisme yang secara umum diakui aman (*Generally Recognized as Safe/GRAS*) dalam menghasilkan produk pangan yang lebih baik kualitasnya (Nguyen *et al.*, 2020). Eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan BAL juga diketahui memiliki manfaat dalam bidang pangan, seperti meningkatkan tekstur, viskositas, dan stabilitas produk, sehingga mendukung pengembangan pangan yang lebih berkualitas dan bernilai fungsional (Angelin & Kavitha, 2020). Eksopolisakarida tidak hanya bermanfaat dalam bidang pangan namun juga dalam bidang kesehatan. Menurut Wulansari dkk., (2023) menyebutkan bahwa Eksopolisakarida bermanfaat dalam bidang kesehatan seperti sebagai anti tumor, anti inflamasi, anti infeksi, antikarsinogenik, antioksidan, imunomodulator, dan menurunkan kolesterol darah. Selain itu penggunaan air fermentasi apel pada penelitian ini juga dapat dikaitkan dengan anjuran Rasulullah SAW terhadap cuka sebagai hasil fermentasi alami dalam HR. Tirmidzi No.1955 sebagai berikut:

حدثنا الحسن بن عرفة — حدثنا مبارك بن سعيد هو أخو سفيان بن سعيد
الثوري عن سفيان عن أبي الزبير، عن جابر عن النبي صلى الله عليه وسلم قال: «نِعْمَ
الإِدَامُ الحُلُّ» قال وفي الباب عن عائشة وأم هانئ

Artinya: “Hasan bin ‘Arafah telah menceritakan kepada kami, Mubarak bin Sa’id saudara Sufyan bin Sa’id Ats-Tsauri telah menceritakan kepada kami dari sufyan, dari Abu Az-Zubair, dari Jabir, bahwa Nabi SAW bersabda: ‘Sebaik-baik lauk adalah cuka’ ” (HR. Tirmidzi No.1955)

Hadis tersebut menunjukkan bahwa cuka merupakan bahan pangan yang memiliki nilai manfaat dan telah dikenal sejak masa Nabi Muhammad SAW. Dalam perspektif pangan, cuka merupakan hasil fermentasi yang mengandung berbagai senyawa organik terutama asam asetat yang dapat memberikan cita rasa sekaligus berpotensi memberikan manfaat kesehatan. Beberapa penelitian juga melaporkan pemanfaatan cuka dalam bidang kesehatan, salah satunya menurut Islami (2022) menyatakan bahwa campuran habbatussauda' dengan cuka dan madu dipercaya berpotensi membantu proses penyembuhan berbagai jenis luka. Hadis ini juga mencerminkan anjuran untuk mengonsumsi makanan yang sederhana namun tetap memiliki nilai kebermanfaatan bagi tubuh

Dalam konteks penelitian ini, fermentasi apel Manalagi memiliki keterkaitan dengan hadis tersebut karena proses fermentasi apel melibatkan pembentukan berbagai asam organik yang merupakan karakteristik umum pada produk fermentasi, termasuk cuka. Pemanfaatan air fermentasi apel Manalagi sebagai bahan tambahan dalam starter sourdough menunjukkan bahwa bahan pangan alami yang tersedia di lingkungan dapat diolah dan dimanfaatkan secara optimal untuk mendukung pengembangan pangan fermentasi yang bernilai fungsional. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya memberikan kontribusi dalam pengembangan sains dan pemanfaatan mikroorganisme yang bermanfaat tetapi juga memperkuat nilai tauhid melalui penghayatan terhadap kebesaran ciptaan Allah SWT serta mendorong sikap syukur dan tanggung jawab dalam menggali serta memanfaatkan potensi alam yang telah Allah SWT ciptakan untuk memberikan manfaat bagi kehidupan manusia.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hasil data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Karakteristik isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari starter sourdough dengan penambahan air fermentasi apel manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.) menunjukkan bahwa enam koloni yang diperoleh berbentuk bulat, dengan tepian rata, permukaan cembung dan berwarna putih susu. Secara mikroskopis, isolat memiliki bentuk sel batang, Gram positif dan tidak membentuk endospora. Adapun secara biokimia, isolat menunjukkan katalase negatif, non-motil dan tipe fermentasi bisa berupa homofermentatif maupun heterofermentatif. Berdasarkan karakteristik tersebut isolat diduga tergolong dalam genus *Lactobacillus*
2. Isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh menunjukkan kemampuan produksi eksopolisakarida (EPS) yang berbeda dengan potensi tertinggi di peroleh oleh isolat SA-4 sebesar 3.715 mg/L dan SA-2 sebesar 3.515 mg/L. Hasil identifikasi menggunakan *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry* (MADLI-TOF) menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki tingkat kemiripan tinggi dengan kelompok *Lactobacillus* yaitu *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus paraplantarum* dengan nilai kesesuaian 99,9%

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan beberapa hal sebagai berikut:

1. Kadar eksopolisakarida yang diperoleh dalam penelitian ini masih berupa EPS kasar dan belum melalui tahap pemurnian, sehingga penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan proses pemurnian EPS agar diperoleh kadar EPS yang lebih akurat.
2. Identifikasi isolat pada penelitian ini masih menunjukkan beberapa kemungkinan spesies dalam satu isolat. Penelitian ini masih mengidentifikasi beberapa spesies pada satu isolat. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan analisis molekuler, seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR) atau *16S rRNA gene sequencing*, guna memastikan identitas spesies bakteri secara lebih akurat.
3. Penelitian ini hanya berfokus pada identifikasi isolat dengan kemampuan produksi EPS tertinggi, sehingga penelitian selanjutnya disarankan untuk turut melakukan identifikasi terhadap isolat yang menghasilkan EPS dengan kadar rendah.
4. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menambahkan kontrol positif pada tahap skrining bakteri penghasil eksopolisakarida (EPS), berupa strain bakteri yang telah diketahui memiliki kemampuan menghasilkan EPS. Selain itu Penelitian selanjutnya juga disarankan untuk menambahkan kontrol negatif berupa sourdough tanpa penambahan buah sehingga pengaruh penambahan buah produksi EPS tiap isolat selama fermentasi dapat dievaluasi secara lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abedfar, A., Hosseini-zhad, M., Sadeghi, A., Raeisi, M., & Feizy, J. (2018). Investigation on 'Spontaneous Fermentation' and the productivity of Microbial Exopolysaccharides by *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* isolated from Wheat Bran Sourdough. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.071>
- Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10). <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E04974>
- Adebayo-tayo, B. C., Ogundele, B. R., Ajani, O. A., & Olaniyi, O. A. (2024). Review Article Characterization of Lactic Acid Bacterium Exopolysaccharide , Biological , and Nutritional Evaluation of Probiotic Formulated Fermented Coconut Beverage. *International Journal of Food Science*, 2024.
- Afianti, L. D., Saefi, M., & Wahyudi, D. (2025). Enhancing Sourdough Starter Using Ambon Banana Fermentation : A Comparative Study of Type I and Type III Starters Focusing on Lactic Acid Bacteria and Quality. *Journal of Biological Science and Education*, 2029.
- Akamine, I. T., Mansoldo, F. R. P., & Vermelho, A. B. (2023). Probiotics in the Sourdough Bread Fermentation: Current Status. *Fermentation*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/fermentation9020090>
- Akiki, A., Muhammed, Y., Muhammed, R., & Minervini, F. (2025). Development of Organic Sourdough Bread with Paste from Germinated Seeds. *Foods*, 14(i), 1–15.
- Amaliah, Z. Z., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI LIMBAH CAIR RENDAMAN KACANG KEDELAI. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253–257.
- Angelin, J., & Kavitha, M. (2020). Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *Internatiobak Journal of Biological Macromo;Ecules*, 162(January), 853.
- Anggita, D. Y., Sukardi, S., & Elianarni, D. (2025). Pengembangan Minuman Probiotik dengan Fermentasi Spontan Berbahan Apel Manalagi dari Beberapa Daerah di. *Food Technology and Halal Science Journal*, 8(1), 75–89.
- Ardhian, K., Kartika, I. D. P., & Duniaji, A. S. (2019). STUDI VIABILITAS *Lactobacillus plantarum* FNCC-0027 PADA SARI BUAH APEL (*Malus sylvestris* Mill) DENGAN VARIETAS YANG BERBEDA. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(4), 440–447. <https://doi.org/10.24843/ITEPA.2019.V08.I04.P10>
- Arena, M. P., Russo, P., Spano, G., & Capozzi, V. (2020). From Microbial Ecology to Innovative Applications in Food Quality Improvements: the Case of Sourdough as a Model Matrix. *J Multidisciplinary Scientifict Journal*, 3(1), 9–19. <https://doi.org/10.3390/j3010003>

- Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2021). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 108, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.008>
- Arwini, N. P. D. (2021). Roti, Pemilihan Bahan Dan Proses Pembuatan. *Jurnal Ilmiah Vastuwidya*, 4(1), 33–40. <https://doi.org/10.47532/jiv.v4i1.249>
- Ashmawy, M. M., Khairat, S. M., Reda, N. M., & Abdelhalim, M. M. (2025). Rapid and cost-effective identification of microorganisms from positive blood cultures using MALDI-TOF MS. *BMC Infectious Diseases*, 25(736), 1–10.
- Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. C. da, & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic Acid Bacteria: Food Safety and Human Health Applications. *Dairy*, 1(3), 202–232. <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>
- Az-Zuhaili. (2016). *Tafsir Al-Munir*.
- Bartkiene, E., Lele, V., Ruzauskas, M., Domig, K. J., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., Bartkevics, V., & Pugajeva, I. (2020). Lactic Acid Bacteria Isolation from Spontaneous Sourdough and Their Characterization Including Antimicrobial and Antifungal Properties Evaluation. *Microorganisms*, 8(64).
- Bartkiene, E., Lele, V., Ruzauskas, M., Domig, K. J., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., Bartkevics, V., Pugajeva, I., Klupsaite, D., Juodeikiene, G., Mickiene, R., & Rocha, J. M. (2019). Lactic acid bacteria isolation from spontaneous sourdough and their characterization including antimicrobial and antifungal properties evaluation. *Microorganisms*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010064>
- Blaiotta, G., Romano, R., Trifuoggi, M., Aponte, M., & Miro, A. (2022). Development of a Wet-Granulated Sourdough Multiple Starter for Direct Use. *Foods*, 11(9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/foods11091278>
- Buron-Moles, G., Chailyan, A., Dolejs, I., Forster, J., & Mikš, M. H. (2019). Uncovering carbohydrate metabolism through a genotype-phenotype association study of 56 lactic acid bacteria genomes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(7), 3135–3152. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09701-6>
- Calderaro, A., & Chezzi, C. (2024). MALDI-TOF MS: A Reliable Tool in the Real Life of the Clinical Microbiology Laboratory. *Microorganisms*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS12020322>
- Calvert, M. D., Madden, A. A., Nichols, L. M., Haddad, N. M., Lahne, J., Dunn, R. R., & McKenney, E. A. (2021). A review of sourdough starters: ecology, practices, and sensory quality with applications for baking and recommendations for future research. *PeerJ*, 9, e11389. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.11389>
- Carbonetto, B., Nidelet, T., Guezenec, S., Perez, M., Segond, D., & Sicard, D. (2020). Interactions between *Kazachstania humilis* yeast species and lactic

acid bacteria in Sourdough. *Microorganisms*, 8(2).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8020240>

- Caroline, F., Volpato, Z., Hernandez, M., & Wink, P. (2022). Evaluation of MALDI-TOF MS System for the Identification and Differentiation of Burkholderia cepacia Complex Species Bacterial specimens. *Brazilian Archives of Bioogy and Technology*, 65.
- Costantini, A., Verni, M., Mastrolonardo, F., Rizzello, C. G., Di Cagno, R., Gobbetti, M., Breedveld, M., Bruggink, S., Lefever, K., & Polo, A. (2023). Sourdough “Biga” Fermentation Improves the Digestibility of Pizza Pinsa Romana: An Investigation through a Simulated Static In Vitro Model. *Nutrients*, 15(13), 2958. <https://doi.org/10.3390/NU15132958/S1>
- Croxatto, A., Prod’hom, G., & Greub, G. (2011). Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2), 380–407. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>
- Damayanti, E., Hamid, F., & Sjahril, R. (2022). Isolasi Antimikroba Baru dari Bakteri Tanah Program Pascasarjana Ilmu Biomedik , Universitas Hasanuddin Bagian Mikrobiologi , Universitas Hasanuddin Abstract : Antibiotics are ingredients that play an important role in tackling infectious diseases . Antim. JUMANTIK (Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan), 7(2), 176–181. <https://doi.org/10.30829/jumantik.v7i2.11266>
- Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M. T., & Sağdıç, O. (2016). Characterisation of Lactid Acid Bacteria from Turkish Sourdough and Determation of their Exopolysaccharide (EPS) Production Characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.030>
- Falakh, M. F., & Asri, M. T. (2022). Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (Borassus flabellifer L .) sebagai Antimikroba terhadap Salmonella typhi Potential Test of Lactic Acid Bacteria Isolates from Palm Sap (Borassus flabellifer L .) as Antimicrobial against Salmonell. *Lentera Bio*, 11, 514–524.
- Fekensa, W. F. (2021). The Effect of Traditional Sourdough Starter Culture and Involved Microorganisms on Sensory and Nutritional Quality of Whole Wheat Bread. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 9(6), 178–187. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20210906.15>
- Ferreira, A. A., Souza Tette, P. A., Santos Mendonça, R. C., De Souza Soares, A., & De Carvalho, M. M. (2014). Detection of exopolysaccharide production and biofilm-related genes in staphylococcus spp. Isolated from a poultry processing plant. *Food Science and Technology (Brazil)*, 34(4), 710–716. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6446>
- Finanda, A., Mukarlina, & Rahmawati. (2021). ISOLASI DAN KARAKTERISASI GENUS BAKTERI ASAM LAKTAT DARI FERMENTASI DAGING BUAH. *Jurnal Protiobiont*, 10(2), 37–41.

- Franco, W., Pérez-Díaz, I. M., Connelly, L., & Diaz, J. T. (2020). Isolation of Exopolysaccharide-Producing Yeast and Lactic Acid Bacteria from Quinoa (*Chenopodium Quinoa*) Sourdough Fermentation. *Foods* 2020, Vol. 9, Page 337, 9(3), 337. <https://doi.org/10.3390/FOODS9030337>
- Fuso, A., Bancalari, E., Castellone, V., Caligiani, A., Gatti, M., & Bottari, B. (2023). Feeding Lactic Acid Bacteria with Different Sugars: Effect on Exopolysaccharides (EPS) Production and Their Molecular Characteristics. *Foods* 2023, Vol. 12, Page 215, 12(1), 215. <https://doi.org/10.3390/FOODS12010215>
- Galle, S., & Arendt, E. K. (2013). Exopolysaccharides from Sourdough Lactic Acid Bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(7), 891–901. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.617474>
- Gemmel, M., & Hodkiss, W. (1964). The Physiological Characters and Flagellar Arrangement of Motile Hornofermentative Lactobacilli. 1964, 35, 519–526.
- Giyatno, D. C., & Retnaningrum, E. (2020a). ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT PENGHASIL EKSOPOLISAKARIDA DARI BUAH KERSEN (*Muntingia calabura* L .) ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCER LACTIC ACID BACTERIA FROM KERSEN FRUIT (*Muntingia calabura* L .). *Jurnal Sains Dasar*, 9(2), 42–49.
- Giyatno, D. C., & Retnaningrum, E. (2020b). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Sains Dasar*, 9(2), 42–49. <https://doi.org/10.21831/jsd.v9i2.34523>
- Goktas, H., Agan, C., Bekiroglu, H., & Bozkurt, F. (2025). Exopolysaccharide Production from Six Different *S. boulardii* Strains and Determination of Monosaccharide Composition , Rheological and Antioxidant Properties. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 13(10), 2959–2965.
- Gordun, E., Valle, L. J. del, Ginovart, M., & Carbo, R. (2014). Comparison of the microbial dynamics and biochemistry of laboratory sourdoughs prepared with grape , apple and yogurt. *Food Science and Technology International*, 1–12. <https://doi.org/10.1177/1082013214543033>
- Guérin, M., Garcia, C., Silva, C. R. Da, Couprie, J., & Remize, F. (2023). Characterization of Bacterial Exopolysaccharides Produced from Different Fruit-Based Solid Media. *Fermentation*, 9(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/fermentation9070657>
- Haider, A., Ringer, M., Kotrocz, Z., & Moh, C. (2023). The Current Level of MALDI-TOF MS Applications in the Detection of Microorganisms : A Short Review of Benefits and Limitations. *Microbiology Research*, 14, 80–90.
- Harmoko, D., Suryani, E. M., & Ningrum, R. K. (2025). Jurnal Biologi Tropis Isolation of Lactic Acid Bacteria from California Papaya and Antibacterial

Activity as a Potential Starter Culture. *Jurnal Biologi Tropis*, 25(4).

- Hizrah, N., Manalu, K., & Nst, R. A. (2023). Seleksi Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Eksopolisakarida Yang Diperoleh Dari Terasi Udang Rebon (*Mysis relicta*) Di Desa Perlis Kec. Berandan Barat Kab. Langkat. *BEST JOURNAL: Biology Education Science & Technology*, 6(1), 648–654.
- Hodille, E., Dumitrescu, O., Benito, Y., Dauwalder, O., & Lina, G. (2023). Rapid , Easy , and Reliable Identification of *Nocardia* sp . by Database , Using Direct Deposit. *International Journal of Molecular Sciences*, 24.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. ., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9 th.
- Hou, T., Chiang-ni, C., & Teng, S. (2019). ScienceDirect Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(2), 404–414. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.01.001>
- Hughes, J., Vaiciurgis, V., & Grafenauer, S. (2020). Flour for Home Baking : A Cross-Sectional Analysis of. *Nutrients*, 12(2058), 1–14.
- Husain, R., Ester, F., Kandou, F., & Pelealu, J. J. (2022). ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ENDOPHYTIC BACTERIA OF GEDI LEAVES (*Abelmoschus manihot* L .) ON THE GROWTH OF *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus* Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT DAUN GEDI (*Abelmoschus manihot* L .) TERHADAP PERTUMBUH. *PHARMACON*, 11, 1245–1254.
- Iqbal, Z., Adiyaksa, I. P., Komariyah, A. N., Damayanti, R., Kamal, M. A., Hawa, L. C., & Hendrawan, Y. (2020). Developing partial least square (PLS) internal parameters of apple (*Malus sylvestris* L.) cv. Manalagi by means of UV/Vis spectroscopy. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 475(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/475/1/012004>
- Islami, M. (2022). Hadis-hadis tentang Pengobatan Herbal: Studi Takhrij dan Syarah Hadis dengan Tinjauan Kesehatan. *Jurnal Penelitian Ilmu Ushuluddin*, 2(3), 503–526. <https://doi.org/10.15575/jpiu.v2i3.14453>
- Jin, H., Jeong, Y., Yoo, S. H., Johnston, T. V, Ku, S., & Ji, G. E. (2019). Isolation and characterization of high exopolysaccharide - producing *Weissella confusa* VP30 from young children ' s feces. *Microbial Cell Factories*, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1158-1>
- Julendra, H., Suryani, A. E., Istiqomah, L., Damayanti, E., Anwar, M., & Fitriani, N. (2017). Isolation of Lactic Acid Bacteria with Cholesterol-Lowering Activity from Digestive Tracts of Indonesian Native Chickens. *Media Peternakan*, 40(April), 35–41.
- K, B. M., A, T. T. M., & Boumédiene, M. (2017). Optimization of production of Microbial Exopolysaccharides (EPS) with essential oils from two medicinal plants. *Journal of Applied Biosciences*, 10925–10933.
- Kajikawa, A., Midorikawa, E., Masuda, K., Kondo, K., & Irisawa, T. (2016).

- Characterization of flagellins isolated from a highly motile strain of *Lactobacillus agilis*. *BMC Microbiology*, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0667-x>
- Khatoon, H., Anokhe, A., & Kalia, V. (2022). Catalase Test: A Multidisciplinary Monthly Online Magazine. *AgriCos E-Newsletter*, 3(1), 53–55.
- Kim, E., Yang, S., Kim, H., & Kim, H. (2020). Novel specific peaks for differentiating the *Lactobacillus plantarum* group using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods*, 178(September), 106064. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.106064>
- Kocaslan, S., Sevgili, A., & Erkmen, O. (2021). MORPHOLOGICAL AND TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ISOLATED YEAST AND LACTID ACID BACTERIA SPECIES FROM SOURDOUGH SAMPLES. *EJONS: International Journal On Mathematics, Engineering & Natural Sciences*, 30.07.2021, 13.
- Kondybayev, A., Konuspayeva, G., Strub, C., Loiseau, G., Mestres, C., Grabulos, J., Manzano, M., Akhmetsadykova, S., & Achir, N. (2022). Growth and Metabolism of *Lacticaseibacillus casei* and *Lactobacillus kefir* Isolated from Qymyz , a Traditional Fermented Central Asian Beverage. *Fermentation*, 8, 367.
- Korcz, E., & Varga, L. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 110(February), 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.014>
- Kusumiyati, K., Hadiwijaya, Y., Suhandy, D., & Munawar, A. A. (2021). Prediction of water content and soluble solids content of “manalagi” apples using near infrared spectroscopy. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 922(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/922/1/012062>
- Laily, I., Santy, W. H., & Nu, V. (2019). PENGARUH KULTUR CAMPURAN DALAM FERMENTASI ALKOHOL TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA DAN SENSORIS CUKA BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L .) Effect of Mixed Cultures in Alcoholic Fermentation on the Physicochemical and Sensory Properties of Bilimbi Vinegar (A. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 7(3), 9–18.
- Lawalata, H. J., Kumajas, J., Tengker, S. M., Runtuwene, K. M., Hasani, R. S., & Weken, M. M. (2023a). Lactic Acid Bacteria as an Exopolysaccharides (EPS) Producing Starter from Pakoba Fruit (*Syzygium* sp .), Endemic Species at Minahasa , North Sulawesi. *JPAM: Journal Of Pure and Applied Microbiology*, 17(October), 2536–2546. <https://doi.org/10.22207/JPAM.17.4.51>
- Lawalata, H. J., Kumajas, J., Tengker, S. M., Runtuwene, K. M., Hasani, R. S., & Weken, M. M. (2023b). Lactic Acid Bacteria as an Exopolysaccharides (EPS)

- Producing Starter from Pakoba Fruit (*Syzygium* sp.), Endemic Species at Minahasa, North Sulawesi. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 17(4), 2536–2546. <https://doi.org/10.22207/JPAM.17.4.51>
- Li, D., Yi, J., Han, G., & Qiao, L. (2022). MALDI-TOF Mass Spectrometry in Clinical Analysis and Research. *ACS Measurement Science*, 2(385). <https://doi.org/10.1021/acsmeasuresciau.2c00019>
- Liu, W., Wei, Y., Xiang, R., Dong, B., & Yang, X. (2025). Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Unveiling Multifaceted Insights from Structure to Application in Foods and Health Promotion. *Foods*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/foods14050823>
- Lutter, L., Sahharov, P., Othman, S. Ben, Andreson, H., Luik, L., Pikkell, N., & Schneider, A. (2025). Metabolic and Safety Characterization of *Lactiplantibacillus plantarum* Strains Isolated from Traditional Rye Sourdough. *Fermentation*, 11, 24.
- Manshur, H. A., Putri, D. N., Pakpahan, O. P., Akalentera, Q. W., & Harini, N. (2023). The Application of Various Fermented Malang Apple Water As A Source Of Natural Yeast for Sourdough Bread Processing. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, 20(2).
- Martín-garcía, A., & López-tamames, E. (2021). Influence of Process Parameters on Sourdough Microbiota , Physical Properties and Sensory Profile Influence of Process Parameters on Sourdough Microbiota , Physical. *Food Reviews International*, 00(00), 1–15. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1906698>
- Medaando, Rahmawati, & Turnip, M. (2024). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Kemiripan Fenotipik dari Kulit Nanas yang asam dan memanfaatkan sumber gula untuk pertumbuhannya . Kelompok bakteri ini juga tahan dikelompokkan pada satu spesies dengan nilai indeks similaritas $\geq$. *Life Science*, 13(1), 23–34.
- Midik, F., Tokatlı, M., Bağder, S., & Filiz, E. (2020). Influence of different culture conditions on exopolysaccharide production by indigenous lactic acid bacteria isolated from pickles. *Archives of Microbiology*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01799-6>
- Murwani, R., Anggraeni, R., Setiawan, G. N. A., Astari, P. D., Cahyani, N. K. D., Sibero, M. T., & Ambariyanto, A. (2024). Lactic Acid Bacteria Isolates and the Microbiome of Cincalok, Tempoyak, and Mandai: A Traditional Fermented Food from Kalimantan Island, Indonesia. *International Journal of Food Science*, 2024, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2024/6589766>
- Nasution, A. Y., Rasyidah, & Mayasari, U. (2022). Potensi Bakteri Asam Laktat Sebagai Penghasil Eksopolisakarida Dari Dekke Na Niura. *JURNAL AL-AZHAR INDONESIA SERI SAINS DAN TEKNOLOGI*, 7(3), 214–220.
- Netrusov, A. I., Liyaskina, E. V, Kurgaeva, I. V, Liyaskina, A. U., Yang, G., & Revin, V. V. (2023). Exopolysaccharides Producing Bacteria : A Review. *Microorganisms*, 11(1541).

- Neville, B. A., Forde, B. M., Claesson, M. J., Darby, T., Coghlan, A., Nally, K., Ross, P., & Toole, P. W. O. (2012). Characterization of Pro-Inflammatory Flagellin Proteins Produced by *Lactobacillus ruminis* and Related Motile Lactobacilli. *Plos One*, 7(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040592>
- Nguyen, P. T., Nguyen, T. T., Bui, D. C., Hong, P. T., Hoang, Q. K., & Nguyen, H. T. (2020). Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6(4), 451–469. <https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2020027>
- Nuryanti, S., Fitriana, F., & Pratiwi, A. R. (2021). KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 13(1), 71–79. <https://doi.org/10.33096/jifa.v13i1.768>
- Ojo, O. A., & Smidt, de O. (2023). Lactic Acid Production to Purification: A Review. *BioResources*, 12(2), 4364–4383.
- Palomba, S., Cavella, S., Torrieri, E., Piccolo, A., Mazzei, P., Blaiotta, G., Ventorino, V., & Pepe, O. (2012). Polyphasic screening, homopolysaccharide composition, and viscoelastic behavior of wheat sourdough from a *Leuconostoc lactis* and *Lactobacillus curvatus* exopolysaccharide-producing starter culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2737–2747. <https://doi.org/10.1128/AEM.07302-11>
- Pauzi, N., & Man, S. (2016). CUKA WAIN DARI PERSPEKTIF ISLAM: ANALISIS FATWA MALAYSIA DAN INDONESIA Wine Vinegar in Islamic Perspective : An Analysis on Malaysia and Indonesia Fatwas. *Jurnal Fiqih*, 13(13), 1–22.
- Pérez-Alvarado, O., Zepeda-Hernández, A., Garcia-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(September), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.969460>
- Permanasari, E. D., Wahyudi, P., Fauziah, F., & Robertlee, J. (2024). Exopolysaccharides production by *Lactobacillus fermentum* under different growth conditions in coconut water medium. *BIOEDUSCIENCE*, 8(1), 67–74. <https://doi.org/10.22263/jbes/13749>
- Prasetyo, I. N., & Anwar, K. (2024). Analisis Kadar Gula Total, Flavonoid, Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Formulasi Brotowali Dengan Apel Manalagi Sebagai Minuman Fungsional. *Jurnal Gizi Dan Pangan Soedirman*, 8(1), 66. <https://doi.org/10.20884/1.jgipas.2024.8.1.11877>
- Puspawati, R., Gumilr, A., & Kartikasari, T. (2021). The Ability of *Lactobacillus Plantarum* to Produce Exopolysaccharides with Additional Nutrients The Ability of *Lactobacillus Plantarum* Exopolysaccharides with Additional Nutrients to. *Annual Conference on Health and Food Science Technology*, 11(1), 12. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1104/1/012011>

- Putri, D. N., Harini, N., & Manshur, H. A. (2022). Karakteristik Kimia Roti Manis Sourdough yang Menggunakan Ragi Alami dari Apel Manalagi (*Malus sylvestris*). *Agritech*, 42(4), 380–389.
- Rahmadi, A. (2019). Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak. In *Mulawarman University Press* (Issue October 2018).
- Reiner, K. (2016). American Society for Microbiology, Catalase Test Protocol. *American Society for Microbiology, November 2010*, 1–9. <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3226-catalase-test-protocol>
- Roza, R. M., Martina, A., Yuliana, I., & Liliyani. (2015). Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat dari Yogurt Kemasan dan Produksi Industri Rumah Tangga terhadap *Escherichia coli* DAN *Salmonella typhi*. *Prosiding Semirata 2015 Bidang MIPA BKS-PTN Barat*, 3, 368–376.
- Rychert, J. (2019). Benefits and Limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Identification of Microorganisms. *Journal of Infectiology*, 2(4), 1–5.
- Sa'adah, L., & Estiasih, T. (2015). KARAKTERISASI MINUMAN SARI APEL PRODUKSI SKALA MIKRO DAN KECIL DI KOTA BATU : KAJIAN PUSTAKA Characterization Extract Drink Apple from Micro and Small Industries in Batu City : A Review. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2), 374–380.
- Safira, F. B., Mariani, M., & Dahlia, M. (2021). The effect of Additional Manalagi (*Malus Sylvestris*) Apple Cider Juice on Chewy Candy's Sensoric Quality. *Eduvest - Journal of Universal Studies*, 1(8), 757–764. <https://doi.org/10.59188/eduvest.v1i8.109>
- Salimi, F., & Farrokh, P. (2023). Recent advances in the biological activities of microbial exopolysaccharides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(213). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03660-x>
- Salsabilla, K. N., & Trimulyono, G. (2022). Isolasi dan Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat dari Tape Pisang Kepok terhadap *Escherichia coli* Isolation and Antagonist Test of Lactic Acid Bacteria from Fermented Kepok Banana against *Escherichia coli*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11, 430–440. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/16335>
- Šebela, M. (2022). Biomolecular Profiling by MALDI-TOF Mass Spectrometry in Food and Beverage Analyses. *International Journal of Food Science*, 23(13631).
- Setiawati, N., Kusmita, L., & Lindayani. (2024). *Pembuatan Larutan Fermentasi Ensim Buah*. Universitas Katolik Soegijapranata.
- Sha, H. Y., Wang, Q. Q., & Li, Z. J. (2023). Comparison of the effect of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from sourdough on dough characteristics and steamed bread quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 58, 378–386. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15881>

- Shields, P., & Cathcart, L. (2016). Motility Test Medium Protocol. *American Society for Microbiology*, November 2011, 1–7.
- Siepmann, F. B., De Almeida, B. S., Gomes, T. A., Waszczynskyj, N., & Spier, M. R. (2022). Biochemical, microbiological and technological characteristics of type II sourdoughs produced with lactic acid bacteria single-strains. *Semina: Ciencias Agrarias*, 43(2), 693–712. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2022v43n2p693>
- Sieuwerds, S., Bron, P. A., & Smid, E. J. (2018). Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *Lwt*, 90, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.022>
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P., & Viridi, J. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 6(August), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>
- Sørensen, H. M., Rochfort, K. D., Maye, S., MacLeod, G., Brabazon, D., Loscher, C., & Freeland, B. (2022). Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria: Production, Purification and Health Benefits towards Functional Food. *Nutrients*, 14(14), 2938. <https://doi.org/10.3390/NU14142938>
- Suhardi, H., Zummah, A., Ma, D., Rahmah, F. M., Hayyu, A., & Rani, T. E. (2025). Analisis Kadar Etanol dalam Minuman Legen Menggunakan GC-FID dan Tinjauan Fatwa MUI tentang Produk Fermentasi Detection of Alcohol Contained in Legen Drinks Using GC-FID and Implications for MUI Fatwa Guidelines. *Journal Of Islamic Pharmacy*, 10(June), 1–6. <https://doi.org/10.18860/jip.v10i1.32098>
- Sumual, A., Faimawali, & Tallei, T. (2019). Uji ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL FERMENTASI SELADA ROMAIN (*Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam). *Pharmacon*, 8, 306–314.
- Tapsoba, F. W., Sawadogo-lingani, H., Coda, R., Dicko, M. H., Maina, N., Alimentaire, L. D. B., Industrielle, D. B., & Baebib, D. B. (2017). Characterization of exopolysaccharide producing LAB isolated from Zoom-koom, a cereal-based traditional beverage from Burkina Faso. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 11(6), 45–60. <https://doi.org/10.12692/ijb/11.6.45-60>
- Tejedor-Sanz, S., Stevens, E. T., Li, S., Finnegan, P., Nelson, J., Knoesen, A., Light, S. H., Ajo-Franklin, C. M., & Marco, M. L. (2022a). Extracellular electron transfer increases fermentation in lactic acid bacteria via a hybrid metabolism. *ELife*, 11. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.70684>
- Tejedor-Sanz, S., Stevens, E. T., Li, S., Finnegan, P., Nelson, J., Knoesen, A., Light, S. H., Ajo-Franklin, C. M., & Marco, M. L. (2022b). Extracellular electron transfer increases fermentation in lactic acid bacteria via a hybrid metabolism. *ELife*, 11, 1–29. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.70684>
- Thielecke, F., Lecerf, J. M., & Nugent, A. P. (2021). Processing in the food chain:

- Do cereals have to be processed to add value to the human diet? *Nutrition Research Reviews*, 34(2), 159–173. <https://doi.org/10.1017/S0954422420000207>
- Tieking, M., & Ganzle, M. (2005). Exopolysaccharides from cereal- associated lactobacilli. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.015>
- Tijani, N. A., Hambali, K. U., Akinola, S. A., Afolabi, A. O., & Olusayo, K. (2025). ASSESSMENT OF EXOPOLYSACCHARIDES PRODUCING LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM NUNU – A LOCALLY FERMENTED MILK IN NIGERIA. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 15(1), 1–7.
- Tkesheliadze, E., Gagelidze, N., Sadunishvili, T., & Herzig, C. (2023). Lactobacillus Strains From Apple and Fermented Milk and Their Probiotic Properties. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 12(6), 1–8. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.5776>
- Torino, M. I., Valdez, G. F. De, & Mozzi, F. (2015). Biopolymers from lactic acid bacteria . Novel applications in foods and beverages. *Frontiers in Microbiology*, 6(September), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00834>
- Tsani, A. F., Susilo, H., Suyanto, Setiawan, U., & Sudanto. (2021). HALAL AND THAYYIB FOOD IN ISLAMIC SHARIA PERSPECTIVE. *International Journal Mathla 'ul Anwar of Halal Issues*, 1, 97–109.
- Urshev, Z., Doynova, D., Prasev, I., Denkova-kostova, R., Koleva, A., Denkova, Z., Goranov, B., & Kostov, G. (2024). applied sciences Identification of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Sourdoughs Prepared with Different Flour Types. *Applied Sciences*, 14(5), 5.
- Vera-peña, M. Y., & Rodriguez, W. (2020). Effect of pH on the growth of three lactic acid bacteria strains isolated from sour cream. *Journal of the Faculty of Sciences, Pontificia Universidad Javeriana, Is*, 25(2), 341–358. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC25-2.eopo>
- Vuyst, L. De, Comasio, A., & Kerrebroeck, S. Van. (2021). Sourdough production : fermentation strategies , microbial ecology , and use of non-flour ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–33. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1976100>
- Vuyst, L. De, & Neysens, P. (2005). The sourdough microflora : biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.012>
- Wahyudi, M., & Ihsan, L. (2025). PESAN QUR'ANI QS. ABASA UNTUK INDONESIA (STUDI KONTKESTUAL TAFSIR). *Jurnal Ilmu-Ilmu Al-Qur'an Hadist Syariah Dan Tarbiyah*, 10, 11–21. <https://doi.org/10.33511/misykat.v10n2.11-21>
- Widodo, C. S., Sugianto, W., Effendi, A. M., & Saroja, G. (2019). Study on the effect of sugar canes and saccharin to the value of electrical impedance of

- apple cider manalagi (*Malus sylvestris* mill). *Journal of Physics: Conference Series*, 1153(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1153/1/012121>
- Wijayanti, E. D., Fidyasari, A., & Lestari, F. E. (2012). Suplementasi Probiotik (*Lactobacillus plantarum*) dalam Sari Buah Sebagai Alternatif Produk Pangan Fungsional. *Farmasains: Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kesehatan*, 2(1). <https://doi.org/10.22219/far.v2i1.1154>
- Wulansari, P. D., Rahayu, N., Frasiska, N., Ardigurnita, F., Peternakan, P. S., & Tasikmalaya, U. P. (2023). EKSPLORASI SIFAT FUNGSIONAL DAN APLIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PENGHASIL EKSOPOLISAKARIDA PADA PRODUK SUSU FERMENTASI. *Jurnal Program Studi Peternakan, Universitas Ma'arif Nahdlatul Ulama Kebumen*, 03(01), 10–20.
- Xuanyu Xing. (2024). Apple spontaneous fermentation sourdough: Microbial dynamics and optimization for enhanced bread quality. *Food Science & Applied Microbiology Reports*, 3(2), 96–107. <https://doi.org/10.61363/g5vcmmn60>
- Yadav, M. K., Song, J. H., Vasquez, R., Lee, J. S., Kim, I. H., & Kang, D. K. (2024). Methods for Detection, Extraction, Purification, and Characterization of Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria—A Systematic Review. *Foods*, 13(22). <https://doi.org/10.3390/foods13223687>
- Yao, X., Zhang, Y., Yu, K., Chang, G., Zhu, H., Zhang, Z., Yu, Y., Zhu, M., Li, B., & Xing, Y. (2023). Lactic Acid Bacteria Screening of High-yield LAB-EPS and its Application in Steamed Buns. *Scientific Journal of Technology*, 5(4), 56–83. <https://doi.org/10.54691/sjt.v5i4.4739>
- Yasmin, N., Sianturi, N., Fachrial, E., Gigi, K., & Studi, P. (2022). Aktivitas Probiotik Isolat DNH 16 yang Diisolasi dari Dali Ni Horbo. *Jurnal Kimia Saintek Dan Pendidikan*, 6(2), 66–71.
- Yuliana, N., Jatmiko, E. D. O., Rosaline, M., & Iqbal, M. (2020). Potentially lactic acid bacteria as an EPS producing starter from yellow sweet potato fermentation. *Biodiversitas*, 21(9), 4269–4275. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210944>
- Yusfiani, M., Ningsih, L. K., Azzahra, N., Purba, N. M., Arayan, M., Sembiring, R. N., Zubir, M., & Hakim. Abd. (2025). Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST). *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology*, 08(2), 210–216.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., Toole, W. O., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., & Felis, G. E. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera , emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901 , and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal Of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

Zubaidah, E., Suryawira, Y. M., & Saparianti, E. (2014). Comparative Study Production of Exopolysaccharide (EPS) by Lactic Acid Bacteria (L . casei and L . plantarum) in Different Media (Dates and Mulberry juice). *Agroindustrial Journal*, 3(1), 107–111.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji pH Air Fermentasi Apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill.)

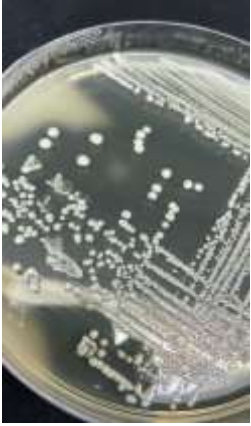
Hari ke-	Nilai	Gambar
Hari ke 1	5,36	
Hari ke 3	4,72	
Hari ke 5	3,50	

Lampiran 2. Hasil Uji pH Starter Sourdough

Sourdough Fermentasi	Nilai pH
 Ke-1	 5,6
 Ke-5	 4,6
 Ke-10	 Ph 4,2

Lampiran 3. Hasil Purifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat	Gambar
SA-1	
SA-2	
SA-3	

SA-4	
SA-5	
SA-6	

Lampiran 4. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat	Katalase	Gambar	
SA 1	Negatif (-)	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 2	Negatif (-)	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 3	Negatif (-)	 Ulangan 1	 Ulanga 2
SA 4	Negatif (-)		

			
		Ulangan 1	Ulangan 2
SA 5	Negatif (-)		
		Ulangan 1	Ulangan 2
SA 6	Negatif (-)		
		Ulangan 1	Ulangan 2

Lampiran 5. Hasil Uji Motilitas Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat	Tipe Fermentasi	Gambar	
SA 1	Non Motil	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 2	Non Motil	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 3	Non Motil	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 4	Non Motil		

			
		Ulangan 1	Ulangan 2
SA 5	Non Motil		
		Ulangan 1	Ulangan 2
SA 6	Non motil		
		Ulangan 1	Ulangan 2

Lampiran 6. Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat	Tipe Fermentasi	Gambar	
SA 1	Homofermentatif	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 2	Heterofermentatif	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 3	Homofermentatif	 Ulangan 1	 Ulangan 2
SA 4	Heterofermentatif		

			
		Ulangan 1	Ulangan 2
SA 5	Homofermentatif		
		Ulangan 1	Ulangan 2
SA 6	Homofermentatif		
		Ulangan 1	Ulangan 2

Lampiran 7. Hasil Uji Eksopolisakarida Kasar Isolat Bakteri Asam Laktat

No	Kode Isolat	Uji Eksopolisakarida Kasar	
		EPS Basah	EPS Kering
1	SA-1		
2	SA-2		
3	SA-3		
4	SA-4		

5	SA-5		
6	SA-6		

Lampiran 8. Perhitungan Nilai Eksopolisakarida Kasar

Ulangan 1

Sampel	Tabung	Berat Tabung	Berat tabung+EPS	Berat EPS	Total EPS
1	Tabung 1	6,2525	6,2585	0,0060	0,0128
	Tabung 2	6,3471	6,3539	0,0068	
2	Tabung 1	7,0704	7,0922	0,0218	0,0346
	Tabung 2	6,3444	6,3462	0,0018	
3	Tabung 1	6,9363	6,9456	0,0093	0,0148
	Tabung 2	6,2252	6,2307	0,0055	
4	Tabung 1	6,7967	6,8011	0,0044	0,034
	Tabung 2	6,853	6,8732	0,0202	
5	Tabung 1	7,0695	7,0766	0,0071	0,0076
	Tabung 2	6,3235	6,3240	0,0005	
6	Tabung 1	6,3740	6,3816	0,0076	0,0133
	Tabung 2	7,0970	7,1027	0,0057	

Ulangan 2

Sampel	Tabung	Berat Tabung	Berat tabung+EPS	Berat EPS	Total EPS
1	Tabung 1	6,3282	6,3360	0,0078	0,0125
	Tabung 2	6,4123	6,4170	0,0047	
2	Tabung 1	6,2592	6,2821	0,0229	0,0310
	Tabung 2	6,9898	6,9900	0,0002	
3	Tabung 1	6,8837	6,8892	0,0055	0,0150
	Tabung 2	6,2687	6,2782	0,0095	
4	Tabung 1	6,3522	6,3717	0,0195	0,0376
	Tabung 2	7,0455	6,0511	0,0056	
5	Tabung 1	6,3869	6,3888	0,0019	0,0070
	Tabung 2	7,0484	7,0535	0,0051	
6	Tabung 1	6,4369	6,4410	0,0041	0,0131
	Tabung 2	6,7341	6,7431	0,0090	

Isolat	Rata-rata (gr/10 mL)
SA-1	0,01905
SA-2	0,03515
SA-3	0,0223
SA-4	0,03715
SA-5	0,0111
SA-6	0,01985

Lampiran 9. Perhitungan dengan Rumus Nilai Eksopolisakarida Kasar

$$Kadar\ EPS\ (\frac{mg}{L}) = \frac{Berat\ EPS\ Kering\ (mg)}{Volume\ Media\ (L)}$$

Isolat SA-1

EPS kasar = 0,01905 g/10 mL
 = 19,05 gr/L
 = 1.905 mg/L

Isolat SA-4

EPS kasar = 0,03715 g/10 mL
 = 37,15 gr/L
 = 3.715 mg/L

Isolat SA-2

EPS kasar = 0,03515 g/10 mL
 = 35,15 gr/L
 = 3.515 mg/L

Isolat SA-5

EPS kasar = 0,0111 g/10 mL
 = 11,1 gr/L
 = 1.110 mg/L

Isolat SA-3

EPS kasar = 0,0223 g/10 mL
 = 22,3 gr/L
 = 2.230 mg/L

Isolat SA-6

EPS kasar = 0,01985 g/10 mL
 = 19,85 gr/L
 = 1.985 mg/L

Lampiran 10. Hasil Identifikasi Isolat Menggunakan MSLDI-TOF MS

ISOLATE REPORT: 113N-1

RESULTS: Validated

Organism type: bacteria

Selected	Position	Acquisition Date	Results	Confidence	Information
✓	E2	4/8/26 10:13 AM	Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum	99.9%	None

ACTIONS

4/8/26 9:57 AM	labadmin	Setup	VITEK® MS FLEXPREP
4/8/26 10:13 AM	VITEKMSACQ01	Acquire	
4/8/26 10:17 AM	labadmin	Validate	Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum

TRACEABILITY

Slide ID: D508042026a

SYSTEM VERSION

VITEK® MS Software Version: 1.0.0.46
 KB Reference: refb-fub-7.6.0.7
 Embedded KB Version: 3.2.0



Kemenkes
Labkesmas Surabaya

Kementerian Kesehatan
 Direktorat Jenderal
 Kesehatan Primer dan Komunitas
 Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat
 Surabaya
 J. Karangmenjangan No. 18 Surabaya, Jawa Timur 60286
 Desa Wonosari Kecamatan Tutur Kab.Pasuruan, Jawa Timur 67165
 Sekretariat (031) 5021451 | Layanan (031) 5020306
 www.bblabkesmas-surabaya.go.id

ISOLATE REPORT: 114N2-1

RESULTS: Validated

Organism type: bacteria

Selected	Position	Acquisition Date	Results	Confidence	Information
✓	E4	4/8/26 10:57 AM	Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum	99.9%	None

ACTIONS

4/8/26 10:43 AM	labadmin	Setup	VITEK® MS FLEXPREP
4/8/26 10:57 AM	VITEKMSACQ01	Acquire	
4/8/26 11:01 AM	labadmin	Validate	Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum

TRACEABILITY

Slide ID: D50842026ab

SYSTEM VERSION

VITEK® MS Software Version: 1.0.0.46
 KB Reference: refb-fub-7.6.0.7
 Embedded KB Version: 3.2.0



Kemenkes
Labkesmas Surabaya

Kementerian Kesehatan
 Direktorat Jenderal
 Kesehatan Primer dan Komunitas
 Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat
 Surabaya
 J. Karangmenjangan No. 18 Surabaya, Jawa Timur 60286
 Desa Wonosari Kecamatan Tutur Kab.Pasuruan, Jawa Timur 67165
 Sekretariat (031) 5021451 | Layanan (031) 5020306
 www.bblabkesmas-surabaya.go.id

Lampiran 11. Jurnal Bibimbing Skripsi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gayamsari Nomor 50, Telepon (0341) 551354, Fax (0341) 572833
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DESERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 220602110030
Nama : ROHMATUL ILMA
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.
Dosen Pembimbing 2 : Dr. M. MUHLIS FAHRUDDIN, M.S.I
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAL PENGHASIL EPS DARI STARTER SOURDOUGH DENGAN PENAMBAHAN AIR FERMENTASI APEL MANalagi (Malus sylvestris Mill)

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	09 September 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	PENYERAHAN DRAFT IDE AWAL TUGAS AKHIR SERTA KONSULTASI	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
2	19 September 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	KONSULTASI KERANGKA PENELITIAN	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
3	26 September 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	REVISI KERANGKA PENELITIAN DAN BIMBINGAN BAB I	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
4	03 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	REVISI BAB I	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	10 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	FINALISASI BAB I	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	17 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	KONSULTASI REVISI BAB III	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	24 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	FINALISASI BAB I DAN BAB III	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	31 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	KONSULTASI REVISI BAB II	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	05 November 2025	Dr. M. MUHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	KONSULTASI INTEGRASI AGAMA BAB I DAN II	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	07 November 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	FINALISASI BAB I, II DAN III	Garjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	23 April 2026	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	DATA PENELITIAN DAN BAB IV HASIL PEMBAHASAN	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	05 Mei 2026	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	REVISI BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
13	08 Mei 2026	Dr. M. MUHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	KONSULTASI INTEGRASI AGAMA BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
14	13 Mei 2026	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	FINALISASI HASIL BAB IV DAN BAB V	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
15	18 Mei 2026	Dr. M. MUHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	REVISI INTEGRASI AGAMA BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing

Dr. M. MUHLIS FAHRUDDIN, M.S.I

Malang
Dosen Pembimbing 1

Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.



Lampiran 122. Form Checklist Plagiasi



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 : Rohmatul Ilmia
NIM : 220602110030
Judul : Identifikasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Starter Sourdough dengan Penambahan Air Fermentasi Apel Manalagi (*Mallus sylvestris* Mill)

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%	fg

Mengetahui,
Kepada Program Studi Biologi



Prof. Dr. Retno Sudilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001