

**Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya
Hambat Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi
Etanol Berbahan Baku Molase**

SKRIPSI



Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2024

**Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya
Hambat Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi
Etanol Berbahan Baku Molase**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Yoel Vico

31200378

DUTA WACANA

Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2024

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yoel Vico
NIM : 31200378
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (None-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya
Hambat Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi
Etanol Berbahan Baku Molase”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 13 Agustus 2024

Yang menyatakan



(Yoel Vico)
NIM.31200378

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya Hambat
Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Bioetanol Berbahan
Baku Molase

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

YOEL VICO

31200378

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

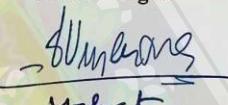
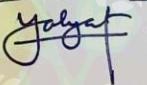
Universitas Kristen Duta Wacana

Dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana
Sains pada 07 Agustus 2024

Nama Dosen

1. Dr. Charis Amarantini, M.Si. :
(Ketua Tim Penguji/Dosen Pembimbing I)
2. Tri Yahya Budiarso, S.Si., M.P. :
(Penguji II/Dosen Pembimbing II)
3. Dr. Dhira Satwika, M. Sc. :
(Penguji III)

Tanda Tangan

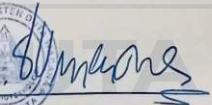

Yogyakarta, 16 Agustus 2024

Disahkan Oleh:

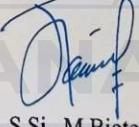
Dekan

Ketua Program Studi




(Dr. Charis Amarantini, M.Si)

NIK: 914E155


(Dwi Aditayarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc)

NIK: 214E556

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya Hambat Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Etanol Berbahan Baku Molasses

Nama Mahasiswa : Yoel Vico

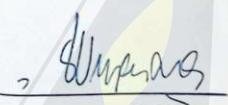
Nomor Induk Mahasiswa : 31200378

Hari/Tanggal Ujian : Rabu/07 Agustus 2024

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Dr. Charis Amarantini, M.Si.
NIK: 914E155


Tri Yahya Budiarso, S.Si., M.P.
NIK: 934E209

Ketua Program Studi

Dwi Aditayarini, S.Si., M. Biotech, M.Sc.
NIK: 214E556

DUTA WACANA

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yoel Vico

NIM : 31200378

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya Hambat Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Etanol Berbahan Baku Molasses”

Adalah hasil karya saya dan buan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu didalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 31 Juli 2024



(Yoel Vico)

NIM: 31200378

DUTA WACANA

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas penyelesaian skripsi yang berjudul “Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya Hambat Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Etanol Berbahan Baku Molase” sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Sains di Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. Penyelesaian skripsi tentu dapat berjalan baik dengan bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, izinkan penulis menyampaikan ucapan syukur dan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang selalu memberikan penyertaan, berkat, sukacita dan damai Sejahtera sehingga segala proses penyusunan skripsi dapat berjalan dengan lancar hingga penelitian ini dapat selesai.
2. Suni dan Kwek Kim, selaku orang tua dan seluruh anggota keluarga yang selalu senantiasa mendoakan, memberikan dukungan, dan motivasi setiap saat selama penulis berproses hingga mencapai penyelesaian naskah skripsi ini.
3. Ibu Dwi Aditiyarini, S.Si., M.BioTech, M.Sc. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah memberikan izin untuk menjalankan serangkaian proses skripsi
4. Ibu Dr. Charis Amarantini, M.Si. selaku dosen pembimbing utama yang bersedia meluangkan waktu dan tenaga dalam membantu seluruh proses penelitian dan bersedia memberikan arahan, kritik, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Tri Yahya Budiarso, S.Si., M.P., selaku dosen pembimbing ke-II yang selalu membantu dalam proses penelitian dan bersedia membagikan ilmu, masukan, dan saran pada setiap kegiatan yang dilakukan.
6. Iga Aswianti, S.Pi., selaku laboran yang telah membantu penulis dari awal hingga akhir penelitian.
7. Hans, Aaron, Miranda, Gracia, Febi, Deltin, Yoga yang telah banyak memberikan *insight* yang sangat dalam dan bermutu. Teman-teman Bioteknologi Angkatan 20 yang telah membantu, memberikan motivasi dalam proses penelitian hingga penulisan skripsi. Serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam bentuk apapun itu dari pelaksanaan penelitian hingga penulisan skripsi ini berjalan dengan baik.

Akhir kata, penulis mengetahui penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karenanya, penulis memohon maaf yang sebanyak-banyaknya atas kesalahan yang dilakukan penulis dari yang tidak tersengaja hingga yang disengaja. Penulis mengharapkan nasihat, kritik, dan saran yang bermanfaat dan semoga karya ini dapat menjadi berkat bagi pembaca.

Yogyakarta, 31 Juli 2024

DUTA WACANA



Yoel Vico

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL LUAR	i
HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR GRAFIK	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK.....	xiii
<i>ABSTRACT.....</i>	xiv
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Proses Fermentasi Etanol.....	3
2.2 Pengaruh Populasi Kontaminan BAL.....	3
2.3 Daya Hambat BAL	4
2.4 Efek Kontaminasi BAL.....	5
METODE PENELITIAN.....	7
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	7
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	7
3.3 Cara Kerja	7
3.3.1 Tahap Pengambilan Sampel.....	7
3.3.2 Tahap Isolasi dan Seleksi Bakteri Asam Laktat dan Yeast <i>S. cerevisiae</i>	7
3.3.3 Tahap Identifikasi API 50 CHL	8
3.3.4 Tahap Uji Daya Hambat.....	8
3.4 Analisis Data.....	10
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	11
4.1 Identifikasi BAL yang Menghambat Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i> pada Fermentasi Etanol Berbahan Baku Molase	11
4.2 Pengaruh Ekstrak Bakteriosin dalam Menghambat Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	17

4.3	Pengaruh Asam Laktat dan Penurunan pH dalam Menghambat Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	18
KESIMPULAN DAN SARAN.....		22
5.1	KESIMPULAN.....	22
5.2	SARAN	22
DAFTAR PUSTAKA.....		23
LAMPIRAN.....		25



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Isolat BAL dengan Karakteristik dari Morfologi dan Fisiologi Hasil Skrining.....	15
Tabel 4.2 Identifikasi Lactobacillus sp. Berbasis Fermentasi Karbohidrat Menggunakan API 50 CHL	17
Tabel 4.3 Uji Pendahuluan Co-Culture dengan Supernatan Hasil Inkubasi 24 Jam dan 48 Jam pada S. cerevisiae 10^7 CFU/mL	18
Tabel 4.4 CFU Counting Berdasarkan Isolat dan Waktu Inkubasi.....	19



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Metabolisme BAL Homofermentatif dan Heterofermentatif menghasilkan asam laktat dan etanol (Kumar <i>et al.</i> , 2015).....	4
Gambar 4.1 Hasil Spread Plate Sampel Molasses Cair Pengenceran (a) 10^{-2} pada Media MRSA, (b) 10^{-3} pada Media MRSA, dan (c) 10^{-3} pada media PDA.....	12
Gambar 4.2 Hasil Streak Plate Isolat (a) MC ₂ K ₁ , (b) MC ₂ K ₂ , (c) MC ₃ K ₁ , (d) MP ₂ K ₁ , (e) MP ₂ K ₂ pada media MRSA dan (f) <i>S. cerevisiae</i> pada media PDA.....	13
Gambar 4.3 Morfologi <i>S. cerevisiae</i> (a) Pewarnaan Metilen Blue (b) Slide Culture dengan Pengamatan 100x	14
Gambar 4.4 Hasil Pewarnaan Gram pada Isolat (a) MC ₂ K ₁ , (b) MC ₂ K ₂ , (c) MC ₃ K ₁ , (d) MP ₂ K ₁ , dan (e) MP ₂ K ₂	15
Gambar 4.5 Hasil Uji Toleransi pH Rendah pada Isolat (a) MC ₂ K ₁ , (b) MC ₂ K ₂ , (c) MC ₃ K ₁ , (d) MP ₂ K ₁ , dan (e) MP ₂ K ₂	16
Gambar 4.6 Metode Agar Well Diffusion Menggunakan NCFS pada <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17



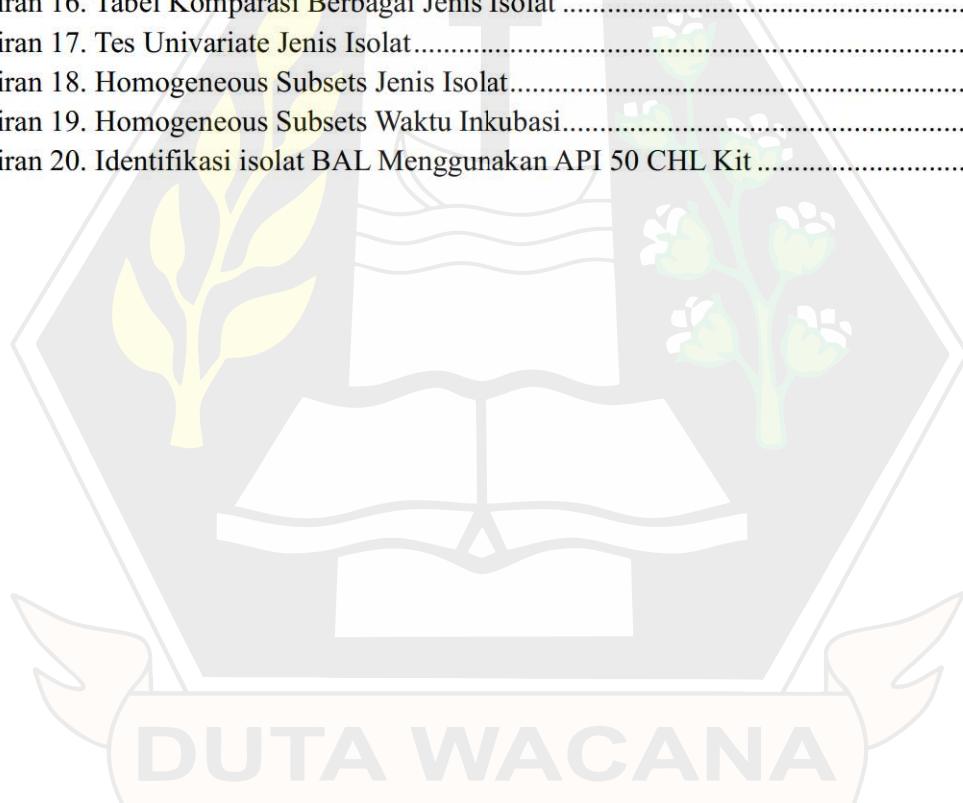
DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Perbandingan Pertumbuhan Isolat dengan Densitas Sel Awal 10^7 CFU/mL terhadap Waktu Inkubasi.....	19
Grafik 4.2 Metode Co-culture supernatan BAL terhadap pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	20



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tangki Fermentasi di Bekonang.....	25
Lampiran 2. Molasses Kalsifikasi.....	25
Lampiran 3. Sampel Laru + Molasses Skala Lab	26
Lampiran 4. Hasil Stok <i>S. cerevisiae</i> pada Tabung Reaksi miring.....	26
Lampiran 5. Hasil Pengujian pH media dan pH supernatan.....	27
Lampiran 6. Hasil Skrining Toleransi pH Rendah secara Kualitatif.....	27
Lampiran 7. Hasil Inkubasi Co-Culture Supernatan dan <i>S. cerevisiae</i>	28
Lampiran 8. Analisis Univariate Between-Subject Factors Jenis Isolat dan Waktu Inkubasi .	29
Lampiran 9. Rerata dan Standar Deviasi Jenis Isolat dalam berbagai Waktu Inkubasi.....	29
Lampiran 10 Levene's Test	31
Lampiran 11. Tabel Between-Subjects Effects	32
Lampiran 12. Estimasi Rata-rata Marginal Waktu Inkubasi.....	32
Lampiran 13. Tabel Komparasi Berbagai Waktu Inkubasi	33
Lampiran 14. Tes Univariate Waktu Inkubasi.....	34
Lampiran 15. Estimasi Rata-Rata Marginal Jenis Isolat.....	34
Lampiran 16. Tabel Komparasi Berbagai Jenis Isolat	35
Lampiran 17. Tes Univariate Jenis Isolat.....	37
Lampiran 18. Homogeneous Subsets Jenis Isolat.....	38
Lampiran 19. Homogeneous Subsets Waktu Inkubasi.....	39
Lampiran 20. Identifikasi isolat BAL Menggunakan API 50 CHL Kit	40



ABSTRAK

Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Memiliki Daya Hambat Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentasi Etanol Berbahan Baku Molase

YOEL VICO

Kontaminasi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) pada proses fermentasi berbahan baku molase menjadi karena menyebabkan dengan penghambatan pertumbuhan *S. cerevisiae*. Namun, kontaminan yang muncul tidak secara keseluruhan mampu menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* yang berdampak pada penurunan kualitas produk yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat yang menyebabkan penghambatan secara signifikan terhadap pertumbuhan *S. cerevisiae*. Pengujian daya hambat menggunakan 5 isolat yaitu MC₂K₁, MC₂K₂, MC₃K₁, MP₂K₁, dan MP₂K₂ dengan mengambil *Neutralized Cell-Free Supernatant* (NCFS) yaitu ekstrak bakteriosin. Pengujian daya hambat menggunakan NCFS tidak memiliki kemampuan untuk memberikan efek penghambatan pada *S. cerevisiae*. *Coculture* supernatan dan *S. cerevisiae* digunakan untuk mengetahui penghambatan oleh metabolit yang dihasilkan BAL melalui penghitungan *Colony Forming Unit* (CFU). Efek penghambatan lebih tinggi terjadi pada perlakuan supernatan hasil inkubasi 48 jam dengan hasil CFU yang lebih rendah dibandingkan supernatan hasil inkubasi 24 jam. Isolat MC₂K₁ pada waktu inkubasi jam ke-6 memiliki efek penghambatan tertinggi mencapai 42% dengan seluruh isolat secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*. Identitas dari 4 isolat yang dipilih yaitu MC₂K₁, MP₂K₁, dan MP₂K₂ teridentifikasi *L. rhamnosus* dan isolat MC₂K₂ merupakan *L. pentosus*.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat, Etanol, Daya Hambat, Molase, *Saccharomyces cerevisiae*

DUTA WACANA

ABSTRACT

Identification Lactic Acid Bacteria (LAB) with Inhibitory Effect on Saccharomyces cerevisiae Growth in Molasses-Based Ethanol Fermentation

YOEL VICO

*Contamination by Lactic Acid Bacteria (LAB) during the fermentation process using molasses as a substrate often becomes an issue, as indicated by the inhibition of *S. cerevisiae* growth. The contaminants present do not always effectively inhibit the growth of *S. cerevisiae*, which impact on quality of the final product. This study aims to identify the lactic acid bacteria that significantly inhibit the growth of *S. cerevisiae*. The inhibition testing was conducted using 5 isolates: MC₂K₁, MC₂K₂, MC₃K₁, MP₂K₁, and MP₂K₂ by collecting Neutralized Cell-Free Supernatant (NCFS) as extract bacteriocin. The NCFS inhibition test showed that none of the 5 isolates were able to inhibit *S. cerevisiae*. Co-culture supernatant and *S. cerevisiae* were used to determine inhibition by metabolites produced by LAB through CFU counting. Higher inhibition effects were observed with the 48-hour incubation supernatant, resulting in lower CFU counts compared to the 24-hour incubation supernatant. Isolate MC₂K₁, at the 6-hour incubation, produced the highest inhibition effect, reaching 42%, with all isolates significantly inhibiting *S. cerevisiae* growth. The identities of 4 selected isolates: MC₂K₁, MP₂K₁, and MP₂K₂ were identified as *L. rhamnosus*, while isolate MC₂K₂ was identified as *L. pentosus*.*

Keywords: *Lactic Acid Bacteria, Ethanol, Inhibitory Effect, Molasses, Saccharomyces cerevisiae*



DUTA WACANA

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses fermentasi etanol yang dilakukan oleh masyarakat telah menghasilkan produk-produk yang beragam macam berdasarkan starter dan media yang digunakan. Fermentasi etanol menggunakan starter seperti yeast *Saccharomyces cerevisiae* dalam pemecahan gula menjadi etanol. Penggunaan media yang tepat diperlukan dalam proses fermentasi dengan didasari pada kemampuan *S. cerevisiae* memecah gula secara efektif. Pemecahan gula oleh *S. cerevisiae* tidak dapat berjalan baik dapat disebabkan oleh faktor pertumbuhan *S. cerevisiae* pada proses fermentasi. Kondisi optimal bagi *S. cerevisiae* tentunya diperlukan pada proses fermentasi dan temperatur optimal bagi pertumbuhan *S. cerevisiae* dari 20 hingga 30°C, pH 3.2-6.0, dan toleransi osmotik yang tinggi (Brexó & Sant'Ana, 2017).

Kemampuan metabolisme *S. cerevisiae* dalam proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor dan salah satunya merupakan kontaminan. Kontaminan pada proses fermentasi mampu menurunkan kualitas etanol dengan menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*. Kontaminan tidak sepenuhnya dapat menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* secara signifikan. Salah satu kontaminan yang mampu menurunkan populasi *S. cerevisiae* adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) seperti *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus rhamnosus* mampu melepaskan senyawa seperti asam laktat dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* hingga mencapai penghambatan pertumbuhan yeast hingga 90%. Dampak kontaminasi BAL terhadap kuantitas etanol yaitu penurunan produksi etanol hingga 15-30 g/L atau 3-5% dari kandungan etanol berkisar 79.25-96.25 g/L (De Oliva-Neto *et al.*, 2009). Penurunan produksi etanol dapat mencapai hingga 30% dikarenakan penurunan viabilitas sel *S. cerevisiae* dan secara kualitas pembentukan etanol tidak murni dan terbentuk racun, senyawa sekunder, flokulasi yeast, dan *foaming* (Beckner *et al.*, 2011; Worley-Morse *et al.*, 2015).

Kualitas etanol yang menurun disebabkan oleh salah satunya penurunan viabilitas *S. cerevisiae*. Pertumbuhan *S. cerevisiae* dapat terhambat oleh senyawa yang dihasilkan oleh BAL yang dapat diekstrak berupa *Cell-Free Supernatant* (CFS) dan *Neutralized Cell-Free Supernatant* (NCFS). Oleh karenanya, penelitian ini diperlukan untuk mengidentifikasi kontaminan BAL yang mampu menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*.

melalui uji daya hambat menggunakan bakteriosin dan asam laktat pada fermentasi etanol berbahan baku molase.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah terdapat BAL yang mampu menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* pada fermentasi etanol berbahan baku molase?
- 1.2.2 Apakah BAL yang teridentifikasi dapat menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* secara signifikan?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengidentifikasi BAL yang mampu menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* pada fermentasi etanol berbahan baku molase
- 1.3.2 Mengukur pengaruh bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*
- 1.3.3 Mengukur pengaruh asam laktat dan penurunan pH dalam menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi BAL yang dapat menurunkan kualitas etanol melalui daya hambat yang disebabkan oleh kontaminan. Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kontaminan utama yang mampu menyebabkan penurunan produktivitas fermentasi etanol. Kontaminan pada dasarnya akan selalu ditemukan di setiap fermentasi dan setiap kontaminan tidak secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*. Perlu dipastikan kemampuan daya hambat BAL yang dapat menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* melalui pengujian daya hambat dengan CFS dan NCFS.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

- 5.1.1 Tiga dari empat isolat (MC_2K_1 , MP_2K_1 , dan MP_2K_2) teridentifikasi sebagai *L. rhamnosus* dan satu isolat MC_2K_2 sebagai *L. pentosus*.
- 5.1.2 Larutan NCFS perlakuan pemanasan tidak menghasilkan efek penghambatan pada *S. cerevisiae*. Kondisi ini menandakan ketidakmampuan bakteriosin dalam menghambat *S. cerevisiae*. Penghambatan tidak terjadi dapat disebabkan oleh kerusakan bakteriosin saat pemanasan dan penetrasi CFCS.
- 5.1.3 Metabolit seperti asam laktat pada *co-culture* supernatan BAL 10^7 CFU/mL inkubasi 48 jam memberikan efek penghambatan secara signifikan terhadap pertumbuhan *S. cerevisiae* hingga 42% pada perlakuan isolat MC_2K_1 dan efek penghambatan tertinggi terjadi pada jam ke-6.

5.2 SARAN

1. Penelitian selanjutnya diharapkan dapat mengkaji lebih dalam terkait arti penting *L. rhamnosus* dan *L. pentosus* terhadap kinerja sel khamir, diantara pengujian daya hambat menggunakan metabolit murni yang dihasilkan oleh isolat tersebut untuk memastikan jenis metabolit yang mampu menyebabkan penghambatan terhadap *S. cerevisiae*.
2. Penelitian ini menemukan waktu inkubasi menentukan penghambatan *S. cerevisiae* hingga batas tertentu, sehingga penelitian selanjutnya dapat melakukan uji pengaruh waktu inkubasi terhadap *co-exist* antara BAL dan *S. cerevisiae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarantini, C., Budiarso, T. Y., Antika, Y. E., & Prakasita, V. C. (2020). Characterisation of *Lactobacillus plantarum* Isolated from Pickled Cucumber. *International Food Research Journal*, 27(5), 805–813.
- Amarantini, C., Satwika, D., Budiarso, T. Y., Yunita, E. R., & Laheba, E. A. (2019). Screening of Antimicrobial-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Fish Fermentation Against Pathogenic Bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*, 1397(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1397/1/012045>
- Andarilla, W., Sari, R., Apridamayanti, Hadari, H. (2018). Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* dari Sotong Kering. In *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains* (Vol. 7, Issue 2).
- Bassi, A. P. G., Meneguello, L., Paraluppi, A. L., Sanches, B. C. P., & Ceccato-Antonini, S. R. (2018). Interaction of *Saccharomyces cerevisiae*–*Lactobacillus fermentum*–Dekkera *bruxellensis* and feedstock on fuel ethanol fermentation. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 111(9), 1661–1672. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1056-2>
- Basso, T. O., Gomes, F. S., Lopes, M. L., De Amorim, H. V., Eggleston, G., & Basso, L. C. (2014). Homo- and Heterofermentative *Lactobacilli* Differently Affect Sugarcane-Based Fuel Ethanol Fermentation. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 105(1), 169–177. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0063-6>
- Beckner, M., Ivey, M. L., & Phister, T. G. (2011). Microbial Contamination of Fuel ethanol fermentations. *Letters in Applied Microbiology*, 53(4), 387–394. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03124.x>
- Brexó, R. P., & Sant'Ana, A. S. (2017). Impact and significance of microbial contamination during fermentation for bioethanol production. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 73, pp. 423–434). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.151>
- Carvalho-Netto, O. V., Carazzolle, M. F., Mofatto, L. S., Teixeira, P. J. P. L., Noronha, M. F., Calderón, L. A. L., Mieczkowski, P. A., Argueso, L. L., & Pereira, G. A. G. (2015). *Saccharomyces cerevisiae* transcriptional reprogramming due to bacterial contamination during industrial scale bioethanol production. *Microbial Cell Factories*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0196-6>
- Chant, J., & Pringle, J. R. (1991). Budding and cell polarity in *Saccharomyces cerevisiae*. In *Current Opinion in Genetics and Development* (Vol. 1).
- Costa, O. Y. A., Souto, B. M., Tupinambá, D. D., Bergmann, J. C., Kyaw, C. M., Kruger, R. H., Barreto, C. C., & Quirino, B. F. (2015). Microbial diversity in sugarcane ethanol production in a Brazilian distillery using a culture-independent method. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 42(1), 73–84. <https://doi.org/10.1007/s10295-014-1533-1>
- De Oliva-Neto, P., Dorta, C., Flavia, A., Carvalho, A., & Gomes De Lima, V. M. (2013). *The Brazilian technology of fuel ethanol fermentation-yeast inhibition factors and new perspectives to improve the technology*.
- Della-Bianca, B. E., Basso, T. O., Stambuk, B. U., Basso, L. C., & Gombert, A. K. (2013). What do we know about the yeast strains from the Brazilian fuel ethanol industry? In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 97, Issue 3, pp. 979–991). <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4631-x>
- He, X., Liu, B., Xu, Y., Chen, Z., & Li, H. (2021). Effects of *Lactobacillus plantarum* on the ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2597–2611. [https://doi.org/10.1007/s00253-021-11198-x/Published](https://doi.org/10.1007/s00253-021-11198-x)
- Kumar, R., Garsa, A. K., Shrivastava, B., & Tyagi, A. (2015). Natural and Cultured Buttermilk.

- Leathers, T. D., Bischoff, K. M., Rich, J. O., Price, N. P. J., Manitchotpisit, P., Nunnally, M. S., & Anderson, A. M. (2014). Inhibitors of biofilm formation by biofuel fermentation contaminants. *Bioresource Technology*, 169, 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.065>
- Lin, X., Han, P., Dong, S., & Li, H. (2015). Preparation and application of bacteriophage-loaded chitosan microspheres for controlling *Lactobacillus plantarum* contamination in bioethanol fermentation. *RSC Advances*, 5(85), 69886–69893. <https://doi.org/10.1039/c5ra13747k>
- Liu, J., Huang, T.-Y., Liu, G., Ye, Y., Soteyome, T., Seneviratne, G., Xiao, G., Xu, Z., & Kjellerup, B. V. (2022). Microbial Interaction between *Lactiplantibacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*: Transcriptome Level Mechanism of Cell-Cell Antagonism. *Microbiology Spectrum*, 10(5). <https://doi.org/10.1128/spectrum.01433-22>
- Lopes, M. L., Paulillo, S. C. de L., Godoy, A., Cherubin, R. A., Lorenzi, M. S., Giometti, F. H. C., Bernardino, C. D., de Amorim Neto, H. B., & de Amorim, H. V. (2016). Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry. In *Brazilian Journal of Microbiology* (Vol. 47, pp. 64–76). Elsevier Editora Ltda. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.003>
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. In *Molecules* (Vol. 22, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
- Pyar, H., & Kok, P. (2019). Confirmation of the Identity of *Lactobacillus* Species using Carbohydrate Fermentation Test (API 50 CHL) Identification System. *Journal of Applied Sciences*, 19(8), 797–802. <https://doi.org/10.3923/jas.2019.797.802>
- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, R. U., & Jahid, I. K. (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1626-0>
- Thomas, K. C., Hynes, S. H., & Ingledew, W. M. (2001). *Effect of lactobacilli on yeast growth, viability and batch and semi-continuous alcoholic fermentation of corn mash*.
- Tiukova, I., Eberhard, T., & Passoth, V. (2014). Interaction of *Lactobacillus vini* with the ethanol-producing yeasts *Dekkera bruxellensis* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 61(1), 40–44. <https://doi.org/10.1002/bab.1135>
- Worley-Morse, T. O., Deshusses, M. A., & Gunsch, C. K. (2015). Reduction of Invasive Bacteria in Ethanol Fermentations Using Bacteriophages. *Biotechnol. Bioeng.*, 112, 1544–1553. <https://doi.org/10.1002/bit.25586/abstract>
- Zakhartsev, M., & Reuss, M. (2018). Cell size and morphological properties of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to growth temperature. *FEMS Yeast Research*, 18(6). <https://doi.org/10.1093/femsyr/foy052>