

**PENGUJIAN KHAMIR HASIL FERMENTASI BIJI  
COKLAT (*Theobroma cacao L.*) ASAL LAMPUNG  
SEBAGAI KANDIDAT AGEN PROBIOTIK**

**Skripsi**

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat  
memperoleh gelar Sarjana Sains**



**Umi Khumaiya**



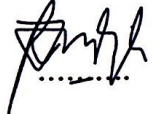
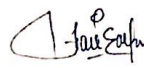



**1308617072**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA  
2022**

## LEMBAR PENGESAHAN

### PENGUJIAN KHAMIR HASIL FERMENTASI BIJI COKLAT (*Theobroma cacao* L.) ASAL LAMPUNG SEBAGAI KANDIDAT AGEN PROBIOTIK

Nama : Umi Khumaiya  
Nomor Registrasi 1308617072

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
<b>Penanggung Jawab</b>			
Dekan	: Prof. Dr. Muktiingsih N., M.Si. NIP. 19640511 198903 2 001		25-02-2022
<b>Wakil Penanggung Jawab</b>			
Wakil Dekan I	: Dr. Esmar Budi, S.Si., MT NIP. 19720728 199903 1 002		24-02-2022
Ketua	: Dr. Reni Indrayanti, M.Si NIP. 19621022 199803 2 002		21-02-2022
Sekretaris/Penguji I	: Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si NIP. 196660316 199203 2 001		19-02-2022
<b>Anggota</b>			
Pembimbing I	: Dr. Dalia Sukmawati, M.Si NIP. 19730914 200604 2 001		19-02-2022
Pembimbing II	: Ns. Sri Rahayu, S. Kep., M. Biomed NIP. 19790925 200501 2 002		20-02-2022
Penguji II	: Dr. Adisyahputra, M.S NIP. 196011111 198703 1 003		20-02-2022

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 17 Februari 2022

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya mengatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya dengan berjudul **“Pengujian Khamir Hasil Fermentasi Biji Coklat (*Theobroma cacao* L.) Asal Lampung Sebagai Kandidat Agen Probiotik”** yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh dari penulisan lain telah dipublikasikan yang disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam Daftar Pustaka sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Jika dikemudian hari sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 18 Februari 2022  
Pembuat pernyataan



Umi Khumaiya

1308617072



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA  
UPT PERPUSTAKAAN

Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220  
Telepon/Faksimili: 021-4894221  
Laman: [lib.unj.ac.id](http://lib.unj.ac.id)

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Umi Khumaiya  
NIM : 1308617072  
Fakultas/Prodi : FIMIPA / Biologi  
Alamat email : Umeyyy@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:

Skripsi     Tesis     Disertasi     Lain-lain (.....)

yang berjudul :

" Pengujian Khamir Hasil Fermentasi Biji Coklat (*Theobroma cacao*) Asal Lampung  
Sebagai Kandidat Agen Probiotik "

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta 22 Februari 2022

Penulis

( Umi Khumaiya )  
nama dan tanda tangan

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat, rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Pengujian Khamir Hasil Fermentasi Biji Coklat (*Theobroma cacao L.*) Asal Lampung Sebagai Kandidat Agen Probiotik”** dengan sebaik-baiknya. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk mencapai gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Pertama penulis ingin menyampaikan terima kasih banyak yang sedalam-dalamnya kepada Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si sebagai dosen pembimbing yang senantiasa sabar untuk mengarahkan, membantu, menasehati, dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini sehingga banyak pengalaman serta ilmu yang didapatkan penulis. Kedua kepada Ibu Ns. Sri Rahayu, M.Biomed selaku dosen pembimbing kedua yang telah senantiasa membantu, mengarahkan, memberikan masukan, memberikan solusi, dan memotivasi penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Tim penguji hasil penelitian Ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si, dan Bapak Dr. Adi Syahputra, M.S selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan, saran dan berbagai ilmu kepada penulis dalam penulisan skripsi ini maupun selama masa perkuliahan. Ibu Reni Indrayanti M.Si selaku ketua program studi biologi yang selalu memberikan arahan penulis pada setiap tahapan selama masa perkuliahan. Bapak Agung Sedayu, M.Si selaku Kepala Laboratorium Biologi yang telah berkenan mengizinkan penulis dalam menggunakan Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNJ untuk melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi. Ibu Desi, Kak Leni, Kak Sayyid dan Bapak Hadirin yang telah berkenan dalam membantu peminjaman berbagai alat selama proses penelitian. Serta seluruh pengajar di Biologi yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama penulis menempuh studi di program studi Biologi. Penelitian ini didukung oleh DRPM Kemenristdikti, Hibah Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) 2021-2022, Laboratorium Mikrobiologi dan Universitas Negeri Jakarta Culture Collection (UNJCC).

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua penulis, Bapak Said dan Mama Erna serta Ibu Nur aini yang senantiasa memberikan doa terbaik dan motivasi untuk penulis selama menempuh studi di Biologi. Terima kasih untuk selalu memberikan dukungan moral maupun materil dan menyemangati selama penyelesaian studi.

Kepada rekan seperjuangan skripsi, kakak dan adik-adikku di keluarga kecil mikrobiologi, Siti Nurkhasanah, Fira Tafrijiyyah, Alika Firhandini, Rapika Sari, Aldi Setiawan, Kak Zico, Kak Zakiah, Kak Nabila, Kak Rifdah, dan Kak Balqis, Desty, Bella, Vella, Azizah, dan Probo yang telah senantiasa membantu penulis dan mewarnai hari-hari selama penelitian.

Sahabat-sahabat terbaikku Nunu, Fira, Pika, Alika, Aldi, yang telah membantu, mendukung, dan selalu menemani dan mendengarkan keluh kesah selama menjalani penelitian dan menyelesaikan skripsi ini. Kepada sahabat terdekatku Ghina, Dewi, dan Kak Novi, terimakasih untuk setia mendengarkan keluh kesah pada setiap langkah selama masa perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini. Teman-teman Biologi B 2017, terimakasih atas kebersamaan, pengalaman, suka dan duka selama masa perkuliahan. Kakak dan adik keluarga LLM Biologi UNJ, terimakasih telah memberikan kesempatan untuk bekerjasama dalam keluarga yang memberikan pengalaman berkesan.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diperlukan demi perbaikan selanjutnya agar lebih baik. Akhirnya, penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan secara umum, dan khususnya bagi penulis sendiri. Semoga Allah SWT senantiasa menambahkan ilmu dan pengetahuan kepada kita semua dan semoga segala hal yang telahdikerjakan mendapatkan ridha-Nya, Aamiin.

Jakarta, 03 Januari 2022

Umi Khumaiya

## ABSTRAK

**Umi Khumaiya.** PENGUJIAN HASIL FERMENTASI BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.*) ASAL LAMPUNG SEBAGAI KANDIDAT AGEN PROBIOTIK. Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. Di bawah bimbingan SUKMAWATI, RAHAYU.

Khamir merupakan mikroorganisme yang banyak ditemukan pada berbagai macam proses fermentasi makanan maupun buah-buahan. Salah satu substrat pertumbuhan khamir terdapat pada fermentasi biji coklat. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat khamir hasil fermentasi biji coklat yang memiliki potensi sebagai agen probiotik. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif dan eksperimen dengan desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis menggunakan anava dua arah dan dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Pengujian khamir sebagai agen probiotik terdiri dari uji toleransi garam empedu (0%,0,5%,1%,1,5% dan 2%), toleransi asam lambung pada pH 2 (waktu inkubasi 3 jam), aktivitas antibakteri terhadap *Listeria monocytogenes* dan *Salmonella enteritidis*, dan aktivitas hemolitik. Diperoleh 13 isolat dari 82 isolat khamir yang telah diseleksi tumbuh pada suhu 37°C dan pada paparan pH 2. Berdasarkan perbedaan morfologi dipilih 3 isolat dimana sebanyak 23% memiliki elevasi cembung dengan tepi koloni berlekuk dan memiliki filamen, 30% memiliki elevasi cembung dengan tepi koloni bergerigi dan memiliki filamen, 47% memiliki elevasi cembung dengan tepi tidak beraturan dan memiliki filamen. Isolat tersebut adalah C4.3.1 (UNJCC Y-152), C2.3.6 (UNJCC Y-153), dan C6.3.2 (UNJCC Y-154). Hasil identifikasi daerah D1/D2 rDNA menggunakan primer NL1 dan NL4 diperoleh identitas khamir *P. kudriavzevii* (homologi 99,64%), *P. kudriavzevii* (homologi 99,30%) dan *P. scutulata* (homologi 92,11%). Pengujian garam empedu dan asam lambung dilakukan secara simultan menunjukkan seluruh isolat khamir dapat bertahan pada konsentrasi garam empedu 2% dan dapat bertahan pada kondisi asam dengan waktu inkubasi selama 3 jam dimana memiliki persentase bertahan hidup >80%. Isolat *P. kudriavzevii* (UNJCC Y-153) memiliki persentase tertinggi dibandingkan isolat lainnya dengan persentase 88,60%. Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *L. monocytogenes* dan *S. enteritidis*. Pengujian hemolitik menunjukkan bahwa seluruh isolat uji bersifat non-patogen. Berdasarkan seluruh pengujian, disimpulkan bahwa khamir *P. kudriavzevii* dan *P. scutulata* asal fermentasi biji coklat lampung berpotensi sebagai agen probiotik.

**Kata Kunci:** *Probiotik, Fermentasi Biji Coklat, Garam Empedu, Asam Lambung, Antibakteri*

## ABSTRACT

**Umi Khumaiya.** EXAMINATION OF FERMENTATION RESULTS OF COCOA BEANS (*Theobroma cacao* L.) FROM LAMPUNG AS A CANDIDATE PROBIOTIC AGENT. Biology Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Jakarta State University. Under the guidance of SUKMAWATI, RAHAYU.

Yeast is a microorganism that found in various kinds of food and fruit fermentation processes. One of the yeast growth substrates is found in cocoa bean fermentation. This study aims to obtain yeast isolates from fermented cocoa beans which have potential as probiotic agents. The method used is descriptive and experimental method with research design using Completely Randomized Design (CRD). The data were analyzed using two-way ANOVA and continued with the 5% Duncan Multiple Range Test (DMRT). Testing of yeast as a probiotic agent consisted of bile salt tolerance test (0%, 0.5%, 1%, 1.5% and 2%), gastric acid tolerance at pH 2 (3 hours incubation time), antibacterial activity against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis*, and hemolytic activity. There were 13 isolates from 82 yeast isolates that had been selected to grow at 37°C and exposed to pH 2. Based on the morphological differences, 3 isolates were selected where as many as 23% had convex elevations with curved colony edges and had filaments, 30% had convex elevations with jagged colony edges and have filaments, 47% have convex elevations with irregular edges and have filaments. The isolates were C4.3.1 (UNJCC Y-152), C2.3.6 (UNJCC Y-153), and C6.3.2 (UNJCC Y-154). The results of the identification of the D1/D2 rDNA region using NL1 and NL4 primers obtained the identity of the yeasts *P. kudriavzevii* (99.64%), *P. kudriavzevii* (99.30% homology) and *P. scutulata* (92.11%). Tests of bile salts and gastric acid carried out simultaneously showed that all yeast isolates could survive at a concentration of 2% bile salts and could survive in acidic conditions with an incubation time of 3 hours which had a survival percentage of >80%. *P. kudriavzevii* isolate (UNJCC Y-153) had the highest percentage compared to other isolates with a percentage of 88.60%. The antibacterial activity test showed that all isolates were able to inhibit the growth of *L. monocytogenes* and *S. enteritidis* bacteria. Hemolytic testing showed that all test isolates were non-pathogenic. Based on all the tests, it was concluded that *P. kudriavzevii* and *P. scutulata* yeasts from Lampung cocoa bean fermentation had potential as probiotic agents.

**Keywords:** *Probiotics, Cocoa Bean Fermentation, Bile Salts, Stomach Acid, Antibacteria*



## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT .....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
E. Hipotesis Penelitian .....	4
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	5
A. Fermentasi Cokelat .....	5
B. Probiotik .....	7
C. Seleksi Probiotik .....	9
a. Tahan Terhadap Paparan Garam Empedu .....	9
b. Tahan Terhadap Kondisi Asam Lambung.....	10
c. Memiliki Aktivitas Antimikroba .....	10
d. Memiliki Aktivitas Hemolitik.....	11
D. Identifikasi Molekular Khamir .....	11
BAB III METODE PENELITIAN.....	14
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
B. Metode Penelitian.....	14
C. Alat dan Bahan .....	14
D. Sampel.....	15
E. Prosedur Penelitian.....	16
1. Peremajaan Isolat Khamir .....	17
2. Skrining Isolat Khamir pada suhu 37°C.....	17
3. Skrining Isolat Khamir pada pH 2.....	17
4. Identifikasi Probiotik terhadap Khamir .....	17
4.1 Toleransi Khamir terhadap pH Asam Lambung dan Garam Empedu.....	17
4.2 Aktivitas Antibakteri Khamir Fermentasi Asal Cokelat Lampung .....	18
5. Aktivitas Hemolitik.....	20
6. Identifikasi Isolat Khamir .....	20
7. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data .....	21

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	22
A. Isolat Khamir Khamir Asal Fermentasi Biji Coklat .....	22
B. Skrining Isolat Khamir pada suhu 37°C dan pH 2.....	23
C. Identifikasi Molekular Isolat Khamir.....	25
D. Karakterisasi Morfologi Khamir.....	29
E. Ketahanan Khamir Terhadap pH Asam Lambung dan Garam Empedu.....	32
F. Uji Aktivitas Antibakteri .....	36
G. Uji Aktivitas Hemolitik .....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	50
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	79

