

**PENGARUH BIOCHAR TERHADAP VIABILITAS MIKROBA
PROBIOTIK SELAMA PENYIMPANAN**

(SKRIPSI)

Oleh

**MEIDA PUTRI HARYANI
NPM 2117021037**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

PENGARUH BIOCHAR TERHADAP VIABILITAS MIKROBA PROBIOTIK SELAMA PENYIMPANAN

Oleh

MEIDA PUTRI HARYANI

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memiliki manfaat dengan mendukung kesehatan inangnya jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. *Lactobacillus* sp. dan *Saccharomyces cerevisiae* merupakan jenis mikroba probiotik yang telah digunakan secara luas, termasuk di bidang akuakultur. Karbon ialah salah satu nutrisi utama yang diperlukan mikroba untuk kelangsungan hidupnya. Biochar adalah arang hayati yang dihasilkan dari proses pirolisis biomassa. Biochar diketahui memiliki potensi sebagai habitat ideal bagi mikroorganisme dengan kandungan karbon yang tinggi dan struktur fisiknya yang berpori. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh biochar terhadap viabilitas mikroba probiotik selama penyimpanan dan mengetahui karakter fisik tepung probiotik yang dihasilkan. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif dengan RAL faktorial, yakni komposisi bahan dengan 3 taraf (K0; isolat mikroba probiotik, K1; isolat mikroba *Lactobacillus* sp. + *S. cerevisiae* + bahan pelindung, dan K2; isolat mikroba *Lactobacillus* sp. + *S. cerevisiae* + bahan pelindung + biochar) dan waktu pengamatan dengan 4 taraf (hari ke-0, 30, 60, dan 90), setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formulasi K2 dengan penambahan biochar berpengaruh nyata terhadap viabilitas *Lactobacillus* sp., namun tidak berpengaruh nyata terhadap *S. cerevisiae*, serta terdapat perbedaan karakter fisik pada aspek warna, dimana formulasi K2 menghasilkan tepung probiotik yang sedikit kehitaman oleh adanya penambahan biochar.

Kata kunci: Biochar, *Lactobacillus* sp., Probiotik, *Saccharomyces cerevisiae*, Viabilitas

ABSTRACT

THE EFFECT OF BIOCHAR ON THE VIABILITY OF PROBIOTIC MICROBES DURING STORAGE

By

MEIDA PUTRI HARYANI

Probiotics are living microorganisms that have benefits by supporting the health of their hosts when consumed in sufficient quantities. *Lactobacillus* sp. and *Saccharomyces cerevisiae* are types of probiotic microbes that have been widely used, including in the field of aquaculture. Carbon is one of the main nutrients required by microbes for their survival. Biochar is a biological charcoal produced from the pyrolysis process of biomass. Biochar is known to have the potential to be an ideal habitat for microorganisms due to its high carbon content and porous physical structure. The purpose of this study was to determine the effect of biochar on the viability of probiotic microbes during storage and to determine the physical characteristics of the resulting probiotic flour. This research was a quantitative descriptive study using factorial RAL, with three levels of material composition (K0; probiotic microbial isolate; K1; *Lactobacillus* sp. + *S. cerevisiae* microbial isolate + protective agent; and K2; *Lactobacillus* sp. + *S. cerevisiae* microbial isolate + protective agent + biochar) and four levels of observation time (days 0, 30, 60, and 90), with each treatment replicated three times. The results showed that the K2 formulation with the addition of biochar significantly affected the viability of *Lactobacillus* sp., but not *S. cerevisiae*. There were also differences in physical characteristics in terms of color, with the K2 formulation producing a slightly blacker probiotic flour due to the addition of biochar.

Keywords: Biochar, *Lactobacillus* sp., Probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*, Viability

**PENGARUH BIOCHAR TERHADAP VIABILITAS MIKROBA
PROBIOTIK SELAMA PENYIMPANAN**

Oleh

MEIDA PUTRI HARYANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

Judul Skripsi : Pengaruh Biochar Terhadap Viabilitas Mikroba Probiotik Selama Penyimpanan
Nama Mahasiswa : Meida Putri Haryani
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117021037
Program Studi : S1 Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Prof. Dr. Sumardi, M.Si.
NIP. 196503251991031003

Pembimbing II

Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP. 196104181987031001

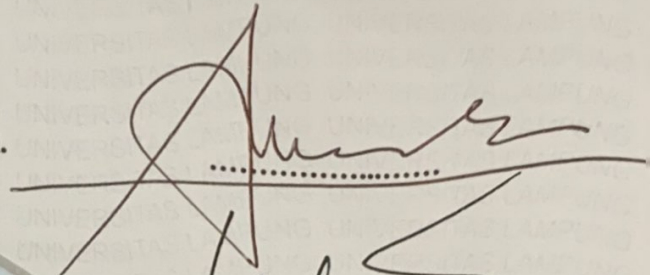
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

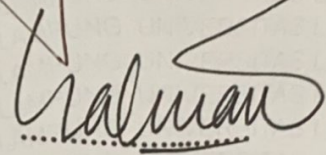
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

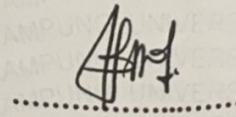
Ketua : **Prof. Dr. Sumardi, M. Si.**



Sekretaris : **Ir. Salman Farisi, M. Si.**



Penguji : **Dr. Kusuma Handayani, S. Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S. Si., M. Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **28 April 2026**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Meida Putri Haryani
NPM : 2117021037
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul **"PENGARUH BIOCHAR TERHADAP VIABILITAS MIKROBA PROBIOTIK SELAMA PENYIMPANAN"** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya ilmiah ciptaan orang lain. Semua sumber data dan informasi yang diperoleh telah dinyatakan dengan jelas benar apa adanya dan apabila di kemudian hari pernyataan ini tidak benar saya bersedia menerima sanksi yang ditetapkan oleh universitas.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila pada kemudian hari ditemukan kecurangan dalam karya tulis ilmiah ini, saya siap mempertanggung jawabkannya.

Bandar Lampung, 28 April 2026

A 10,000 Rupiah Indonesian banknote is shown with a signature over it. The signature is in black ink and appears to be 'Meida Putri Haryani'. The banknote features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA' and 'DIREKTORAT KEPANITERANGAN, PERTANYAAN DAN PEMERIKSAAN NEGARA'.

Meida Putri Haryani
NPM. 2117021037

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Meida Putri Haryani, dilahirkan di Natar, Lampung Selatan pada tanggal 23 Mei 2003. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Suhartoyo dan Ibu Wahyuni. Penulis mulai menempuh pendidikan di Taman Kanak-Kanak (TK) Eka Dyasa pada tahun 2008-2009, dilanjutkan ke jenjang Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Branti Raya pada tahun 2009-2015. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan menengah di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Natar pada tahun 2015-2018 dan menempuh jenjang yang lebih tinggi di Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Natar pada tahun 2018-2021. Setelah lulus pada tahun 2021, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis telah terlibat sebagai asisten praktikum dalam beberapa mata kuliah, diantaranya Praktikum Mikrobiologi Pangan dan Industri (Ganjil 2024/2025), Praktikum Biologi Perkembangan Hewan (Ganjil 2024/2025), Praktikum Bioteknologi (Genap 2024/2025), dan Praktikum Biologi Sel (Genap 2024/2025). Penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung pada Desember 2023 – Februari 2024 yang menghasilkan karya ilmiah berupa laporan kerja praktik yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Sampel Organ Hati Sapi (*Bos taurus*) di Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung” dan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Rajabasa Lama II, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur pada bulan Juni – Agustus 2024.

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbilalamin. Segala puji dan syukur kepada Allah Swt. atas segala rahmat dan karunianya yang telah memberikan segala kenikmatan, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Saya dengan segenap hati dan penuh rasa syukur mempersembahkan karya ini kepada:

Kedua orangtua yang sangat saya cintai, Bapak Suhartoyo dan Ibu Wahyuni. Sesungguhnya ini adalah salah satu bentuk keberhasilan kedua orangtua saya atas segala doa dan kasih sayang sehingga mengantarkan putrinya ini meraih gelar Sarjana Sains (S.Si.);

Orang-orang yang telah hadir dan mendukung serta memberikan saya pelajaran kehidupan;

Almamater tercinta, Universitas Lampung.

MOTTO

And Allah is with you wherever you are.

(Q.S. Al Hadid (57): 4)

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama
kesulitan ada kemudahan.

(Q.S. Al Insyirah (94): 5-6)

In a world where you can be anything, be kind.

(Clare Pooley)

You can't fly unless you let yourself fall.

(Justin Bieber)

SANWACANA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Biochar Terhadap Viabilitas Mikroba Probiotik Selama Penyimpanan”**.

Mengingat keterbatasan kemampuan penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis telah mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada pihak-pihak yang tertera sebagai berikut.

1. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing I dan Kepala Laboratorium Mikrobiologi, yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dan kritik selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dan kritik selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembahas dan Ketua Program Studi S1 Biologi, yang telah bersedia memberikan keluangan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, dan kritik selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

6. Ibu Lili Chrisnawati, S.Pd., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menempuh perkuliahan di Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung.
7. Ibu Oni Mastuti, S.Si., selaku Laboran Mikrobiologi yang telah memberikan banyak bantuan dan menunjukkan teladan seorang laboran dengan sangat baik yang menginspirasi penulis dalam menjalankan suatu pekerjaan di dunia kerja di masa mendatang.
8. Staf Bagian Administrasi Jurusan Biologi dan Fakultas MIPA, selaku pihak yang mendukung segala urusan pemberkasan penulis selama perkuliahan.
9. Diri sendiri yang telah kuat dan tidak menyerah dalam menyelesaikan skripsi hingga akhir.
10. Keluarga tercinta meliputi Bapak Suhartoyo, Ibu Wahyuni, Nenek Titik Dharmiyati, kakak Yoani Gustanti, dan adik Tiara Destri Hani atas doa, tenaga, kasih sayang, serta dukungan motivasi yang telah diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
11. Sahabat-sahabat tersayang, Dita Berlianna Putri, Jasmine Pramesti, Dewi Adellia Putri, Angelika Rabsanjani, dan Sebrina Azzahra yang telah memberikan dukungan dan doa kepada penulis.
12. Sahabat penelitian dan seperjuangan penulis, Merlin Susan Norya Safitri, yang selalu menemani, kebersamai, dan saling memberi dukungan dalam masa perkuliahan serta penyelesaian skripsi hingga akhir.
13. Teman-teman tersayang penulis selama masa perkuliahan, Ersa Imelda Adelia, Petrus Tri Aji Wandono, Laila Salwa Azzahra, Firly Pradianita dan Anissa Sabilla, serta semua teman penulis yang selalu memberikan dukungan, motivasi, dan doa kepada penulis.
14. Teman-teman mahasiswa Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung Angkatan 2021, selaku rekan seangkatan seperjuangan yang telah kebersamai penulis selama perkuliahan.
15. Semua pihak yang telah memberikan wawasan, pengalaman, serta kritik dan saran dalam penulisan dan penyelesaian skripsi ini, yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, memberikan rahmat dan pahala yang berlimpah kepada mereka, dan menjadikan jasanya sebagai amal jariyah. Terkait skripsi ini, penulis sadar sepenuhnya bahwa masih terdapat banyak kekurangan di dalamnya, sehingga masih jauh dari kata sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi orang-orang yang memerlukannya di masa mendatang.

Bandar Lampung, 28 April 2026

Penulis,

Meida Putri Haryani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kerangka Pemikiran	4
1.4 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biochar	6
2.1.1 Deskripsi	6
2.1.2 Karakteristik dan Struktur.....	6
2.1.3 Kandungan	7
2.1.4 Manfaat	8
2.2 Probiotik	9
2.2.1 <i>Lactobacillus</i> sp.....	9
2.2.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
2.3 Pertumbuhan Mikroba	12
III. METODE PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.3 Rancangan Penelitian	16
3.4 Diagram Alir Penelitian.....	17
3.5 Pembuatan Tepung Probiotik.....	17
3.5.1 Tahap Persiapan	17
3.5.2 Langkah Kerja K1	18
3.5.3 Langkah Kerja K2	18
3.6 Pengamatan Karakter Fisik Tepung Probiotik.....	18
3.7 Perhitungan Jumlah Mikroba	19
3.8 Analisis Data.....	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Karakter Fisik Tepung Probiotik.....	20
4.2 Viabilitas <i>Lactobacillus</i> sp.	21
4.3 Viabilitas <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24

4.4 Respons Mikroba Probiotik terhadap Biochar, Media dan Waktu Penyimpanan	27
V. SIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Simpulan.....	33
5.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Variasi perlakuan penelitian	16
2. Karakter Fisik Tepung Probiotik	20
3. Rerata jumlah sel (log CFU g ⁻¹) bakteri <i>Lactobacillus</i> sp. dengan kombinasi variasi perlakuan dan waktu penyimpanan	21
4. Hasil ANOVA (α 5 %) terkait pengaruh komposisi bahan dan waktu penyimpanan terhadap jumlah sel <i>Lactobacillus</i> sp.	23
5. Hasil uji Tukey HSD (0,05 %) terkait komposisi bahan terhadap jumlah sel <i>Lactobacillus</i> sp. (log CFU g ⁻¹).	24
6. Rerata jumlah sel (log CFU g ⁻¹) bakteri <i>S. cerevisiae</i> dengan kombinasi variasi perlakuan dan waktu penyimpanan	25
7. Hasil ANOVA (α 5 %) terkait pengaruh komposisi bahan dan waktu penyimpanan terhadap jumlah sel <i>S. cerevisiae</i>	27
8. Hasil uji Tukey HSD (0,05 %) terkait komposisi bahan terhadap jumlah sel <i>S. cerevisiae</i> (log CFU g ⁻¹)	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Biochar Cangkang Kelapa Sawit Menggunakan SEM	6
2. Morfologi <i>Lactobacillus</i> sp. dengan Pewarnaan Gram Perbesaran 1000×....	10
3. Morfologi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Perbesaran 1000×.....	12
4. Kurva Pertumbuhan Mikroba	13
5. Diagram Alir Penelitian	17
6. Tepung Probiotik; (a) K1, dan (b) K2	20
7. Dinamika perhitungan <i>Lactobacillus</i> sp. selama penyimpanan (K0: isolat probiotik, K1: isolat probiotik + bahan pelindung, K2: isolat probiotik + bahan pelindung + biochar).	22
8. Dinamika perhitungan <i>S. cerevisiae</i> selama penyimpanan (K0: isolat probiotik, K1: isolat probiotik + bahan pelindung, K2: isolat probiotik + bahan pelindung + biochar).	26
9. Diagram perbandingan keadaan pertumbuhan dan stasis pada tingkat sel dan populasi mikroba	29

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Probiotik dikenal sebagai salah satu kelompok mikroorganisme yang memiliki peran menguntungkan bagi kesehatan hidup inangnya. Hossain *et.al.* (2017) mendefinisikan probiotik sebagai mikroorganisme hidup yang ketika diberikan dalam jumlah yang cukup, dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya. Setiarto dkk. (2021) menyatakan bahwa probiotik utamanya berasal dari genus *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, dan *Saccharomyces* dengan jenis yang paling sering ditemukan seperti *B. longum*, *L. casei*, dan *S. boulardii*. Probiotik dapat bermanfaat meningkatkan kesehatan inangnya apabila dikonsumsi dalam keadaan hidup dan dapat bertahan di saluran pencernaan. Probiotik dimanfaatkan dalam berbagai bidang termasuk akuakultur. Menurut Rahmayanti dkk. (2020), probiotik digunakan untuk menekan ketergantungan terhadap antibiotik, sekaligus menjadi strategi dalam meningkatkan kesehatan dan daya tahan hewan budidaya, memaksimalkan efisiensi pemanfaatan pakan, serta memperbaiki kualitas lingkungan perairan budidaya. Penelitian oleh Shehata *et.al.* (2024) melaporkan bahwa kombinasi *S. cerevisiae* dan *L. bulgaricus* yang ditambahkan ke dalam formulasi pelet pakan memberikan efek terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan ikan *Mugil capito* dibandingkan perlakuan kontrol.

Kelangsungan hidup mikroorganisme termasuk probiotik sangat bergantung pada ketersediaan nutrisi di lingkungan tempat hidupnya, terutama sumber karbon sebagai elemen utama untuk pertumbuhan dan metabolismenya.

Karbon digunakan mikroorganisme sebagai rumah dan sumber energinya (Purbalisa dkk., 2020). Biochar merupakan material padat dengan kandungan karbon tinggi yang diperoleh melalui proses pirolisis biomassa berbagai jenis limbah organik pada suhu tinggi dengan ketersediaan oksigen yang terbatas, dan dimanfaatkan dalam bidang pertanian sebagai bahan pembenah tanah (Evizal dan Prasmatiwi, 2023). Beberapa penelitian telah mengeksplorasi penggunaan biochar sebagai pembawa mikroorganisme karena kapasitas adsorpsi selektif dan kemampuan untuk menciptakan lingkungan yang menguntungkan untuk pertumbuhan mikroba. Penelitian yang dilakukan oleh Fallo dkk. (2023) mengenai biochar sebagai bahan pembawa mikroba mampu mempertahankan viabilitas isolat bakteri *Lysinibacillus boronitolerans* selama penyimpanan 8 minggu. Penelitian lain menunjukkan bahwa *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB) yang diresapi ke dalam biochar mampu meningkatkan pertumbuhan dan penyebaran bakteri tersebut secara signifikan (Belscher *et.al.*, 2016). Menurut Reggi, *et.al.* (2025), biochar mampu meningkatkan efektivitas aplikasi mikroba secara signifikan karena kemampuannya menyediakan permukaan yang stabil sebagai tempat perlekatan mikroorganisme serta menciptakan lingkungan mikro yang mendukung, sehingga tingkat kelangsungan hidup mikroba dapat meningkat.

Mikroorganisme harus tetap stabil selama proses pengolahan dan penyimpanan. Proses penyimpanan mikroorganisme dapat menyebabkan penurunan jumlah sel hidup akibat berbagai faktor eksternal dan faktor internal. Penentuan metode penyimpanan atau pengawetan mikroba penting untuk dilakukan karena tujuan utama dari proses preservasi adalah untuk menekan laju metabolisme mikroorganisme seminimal mungkin. Hal ini bertujuan untuk mempertahankan viabilitas mikroba dan menjaga kualitas biakan seoptimal mungkin, sehingga tingkat pemulihan (*recovery*) dan kelangsungan hidup (*survival*) tetap tinggi dengan kondisi mikroba tetap baik dan tidak ada perubahan sifat morfologis (Trisiswanti dkk., 2023). Viabilitas diartikan sebagai kemampuan mikroba untuk tetap hidup dan aktif dalam

mempertahankan kelangsungan hidupnya di lingkungan tempatnya berada (Fallo dkk., 2023).

Penyimpanan kultur mikroba dalam media biakan memiliki kekurangan dalam keterbatasan waktu, sehingga diperlukan suatu metode penyimpanan yang dapat mempertahankan viabilitas mikroba probiotik untuk jangka waktu yang panjang. Menurut Hassanzadeh *et.al* (2017), imobilisasi mikroba merupakan metode menahan atau menempatkan sel hidup secara fisik di area tertentu pada media pembawa. Dalam proses ini, sel dapat berada di permukaan bahan maupun terperangkap di dalam struktur matriks tertentu. Teknik ini memungkinkan sel tetap stabil dan dapat bertahan terhadap tekanan lingkungan. Melalui proses ini, akan dihasilkan probiotik dalam bentuk kering atau tepung yang lebih stabil dan mudah diaplikasikan. Dengan adanya media pembawa yang digunakan akan menghasilkan produk dengan karakter fisik yang dapat diamati, seperti warna, tekstur, dan bentuk.

Berdasarkan hasil kajian tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh biochar terhadap viabilitas mikroba probiotik berupa bakteri *Lactobacillus* sp. dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* selama penyimpanan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Untuk mengetahui pengaruh penggunaan biochar terhadap viabilitas mikroba probiotik berupa bakteri *Lactobacillus* sp. dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* selama penyimpanan.
2. Untuk mengetahui karakter fisik tepung probiotik yang dihasilkan dari tiap perlakuan.

1.3 Kerangka Pemikiran

Mikroorganisme termasuk probiotik membutuhkan nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya. Unsur karbon menjadi sumber energi dan komponen utama pembangun struktur sel yang merupakan bagian dari karbohidrat, protein, dan lipid. Selain kebutuhan akan nutrisi, untuk memberikan manfaat optimal bagi inangnya, probiotik memerlukan habitat yang sesuai sehingga dapat bertahan selama proses pengolahan, penyimpanan, dan aplikasinya. Menurut Fallo dkk. (2023), selama waktu penyimpanan, populasi mikroba diketahui mengalami perubahan dalam pertumbuhan maupun kematian sel. Untuk meminimalisir penurunan jumlah sel tersebut, diperlukan suatu proses seperti imobilisasi. Dalam imobilisasi, mikroba akan tertahan atau terjebak dalam bahan pelindung/pembentuk matriks yang akan menjaganya dari pengaruh faktor lingkungan, seperti perubahan suhu, pH, dan tekanan osmotik yang ekstrem. Bahan pelindung yang digunakan tidak hanya bersifat protektif namun mampu menyediakan nutrisi untuk mendukung keberlangsungan hidup mikroba.

Lingkungan yang dihasilkan dari imobilisasi dengan proses pengeringan sering kali masih kurang optimal untuk mempertahankan viabilitas mikroba dalam jangka panjang. Oleh karena itu, diperlukan bahan tambahan yang berfungsi sebagai pembawa mikroba (*carrier*) untuk mendukung fungsi pembentuk matriks utama. Biochar diketahui memiliki banyak manfaat dalam bidang pertanian, terutama karena kandungan unsur karbon (C) yang tinggi serta struktur berpori pada permukaannya yang dihasilkan dari proses pirolisis. Kandungan karbon pada biochar selain sebagai sumber energi, juga berperan dalam menciptakan lingkungan yang stabil bagi mikroba. Struktur biochar yang berpori memungkinkan sel mikroba terjebak dan terlindungi di dalamnya, sehingga dapat meminimalkan kerusakan sel selama penyimpanan.

Menurut Lehmann and Joseph (2024), biochar memiliki luas permukaan yang tinggi dan kemampuan retensi air serta nutrisi yang baik. Sifat ini

memungkinkan biochar memberikan kontribusi signifikan dalam menjaga kelembapan dan ketersediaan nutrisi di sekitar sel mikroba. Hal tersebut berpotensi meningkatkan viabilitas mikroba selama penyimpanan dan membantu mempercepat adaptasi mikroba dalam matriks imobilisasi. Proses penyimpanan mikroba dengan teknik imobilisasi dan penambahan biochar sebagai bahan pembawa diharapkan mampu menjaga viabilitas mikroba probiotik seperti bakteri *Lactobacillus* sp. dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*, dengan jumlah mikroba yang ditunjukkan dari nilai CFU (*Colony Forming Unit*) yang menunjukkan kestabilan pada awal hingga akhir masa simpan tidak mengalami penurunan populasi yang signifikan.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Penggunaan biochar memiliki pengaruh terhadap viabilitas mikroba probiotik selama penyimpanan.
2. Tepung probiotik yang dihasilkan memiliki perbedaan karakter fisik dari tiap perlakuan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biochar

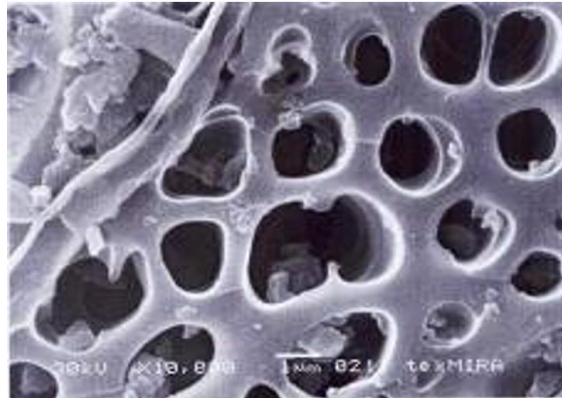
2.1.1 Deskripsi

Istilah biochar berasal dua kata, yakni *bio* dan *char*. *Bio* memiliki arti hidup, dan *char* merupakan kependekan dari kata *charcoal* yakni arang. Secara makna katanya, biochar dapat diartikan sebagai arang yang diaplikasikan ke tanah untuk mendukung kehidupan makhluk hidup di dalamnya (Mukhlis dkk., 2023). Biochar dihasilkan dari proses pirolisis suatu biomassa pada suhu antara 250-500 °C. Pirolisis adalah proses pembakaran bahan organik dalam keadaan minim atau bahkan tanpa oksigen. Bahan baku yang dapat digunakan untuk membuat biochar umumnya berasal dari residu pertanian, seperti serpihan kayu, tempurung kelapa, sekam padi, kulit kakao, kacang-kacangan (Shalsabila dkk., 2017), serta kotoran hewan. Apabila biomassa tersebut dibakar melalui proses pirolisis maka akan menghasilkan biochar arang hayati yang kemudian banyak dimanfaatkan dalam kegiatan pertanian (Situmeang dan Sudita, 2021).

2.1.2 Karakteristik dan Struktur

Karakteristik dan kualitas biochar sangat ditentukan oleh jenis biomassa dan teknik pirolisis yang dilakukan untuk membuatnya. Faktor pada pirolisis yang memengaruhi antara lain suhu, lama proses, dan metode yang digunakan. Pada suhu pirolisis yang lebih tinggi,

struktur pori-pori biochar (Gambar 1) dapat terbuka dan meluas, sehingga meningkatkan kemampuannya dalam menyerap air, unsur hara, maupun polutan seperti logam berat (Putri dkk., 2025).



Gambar 1. Struktur Biochar Cangkang Kelapa Sawit Menggunakan SEM.

Sumber: Geonadi dan Santi, 2017

2.1.3 Kandungan

Jenis bahan baku dan kondisi pirolisis (suhu, laju pemanasan, waktu, dan jenis reaktor) sangat memengaruhi komposisi kimia biochar yang dihasilkan. Oleh karena itu, tidak semua biochar memiliki komposisi yang sama, dan sulit untuk menentukan komposisi kimia biochar yang tepat. Namun yang jelas, biochar utamanya terdiri dari unsur karbon (C) (Mukhlis dkk., 2023). Pada biochar, total kandungan karbon (C) memiliki nilai terbesar yakni 59,5 %, dan beberapa kandungan unsur lain seperti nitrogen (N) sebesar 1,37 %, fosfor (P) sebesar 0,61 %, dan kalium (K) sebesar 0,92 % (Adekiya *et.al.*, 2025). Penting untuk diketahui bahwa jenis bahan baku biomassa yang sama dapat menghasilkan kandungan biochar yang sangat berbeda, yang disebabkan oleh faktor-faktor yang terdapat pada proses pirolisis.

2.1.4 Manfaat

Biochar memiliki berbagai manfaat, antara lain sebagai adsorben polutan untuk membantu remediasi tanah yang tercemar, meningkatkan kualitas tanah pertanian dengan mengubah sifat fisik dan kimia tanah, meningkatkan stabilitas agregat tanah, serta meningkatkan struktur komunitas mikroba. Biochar juga dapat menyimpan karbon dalam tanah dalam waktu yang lama, sehingga membantu menurunkan konsentrasi karbon dioksida (CO₂) di atmosfer dan mengurangi emisi gas rumah kaca, serta berperan dalam produksi energi (Mukhlis dkk., 2023).

Biochar memiliki luas permukaan yang umumnya lebih tinggi (10 hingga ratusan m²/g) dibandingkan dengan jenis tanah pasir dan tanah liat. Peningkatan luas permukaan diketahui dapat meningkatkan kandungan tanah sehingga biomassa mikroba tanah umumnya juga akan meningkat. Biochar sangat bervariasi dalam pH-nya, tergantung pada bahan baku dan suhu pirolisis, sehingga akan bervariasi dalam komunitas mikroba yang berkembang di sekitarnya. Pada pH yang ekstrem, jamur kemungkinan akan mendominasi karena toleransi pH yang luas, sedangkan kebanyakan bakteri lebih menyukai pH netral. Populasi yang terbentuk di permukaan biochar adalah mereka yang mampu menguraikan enzim yang diperlukan untuk memetabolisme substrat yang tersedia. Semakin kompleks dan tidak biasa substrat, semakin terbatas populasi organisme yang dapat menggunakannya secara efektif sebagai sumber energi, dan semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk dimetabolisme sepenuhnya (Lehmann *and* Joseph, 2024).

2.2 Probiotik

Istilah probiotik berasal dari kata Yunani *pro* dan *bios* yang berarti untuk kehidupan (El-Sayed, 2020). Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya ketika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Probiotik disebut sebagai organisme yang bermanfaat karena dapat memberikan berbagai efek positif, seperti menghambat pertumbuhan bakteri patogen, mendukung pencernaan yang baik, meningkatkan fungsi kekebalan tubuh, serta meningkatkan ketahanan terhadap infeksi. Kandidat probiotik yang baik harus memenuhi beberapa kriteria, yaitu harus merupakan organisme yang mampu memberikan efek menguntungkan bagi inang, seperti meningkatkan pertumbuhan atau ketahanan terhadap penyakit. Selain itu, probiotik harus bersifat non-patogenik dan tidak beracun, mampu bertahan serta bermetabolisme di lingkungan usus dengan menahan pH rendah, dan harus stabil selama penyimpanan maupun dalam kondisi lapangan. Genus yang umum digunakan sebagai probiotik mencakup bakteri dari spesies *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc*, dan *Bacillus*, serta ragi dari spesies *Saccharomyces* dan kapang *Aspergillus* (Hossain *et.al.*, 2017).

2.2.1 *Lactobacillus* sp.

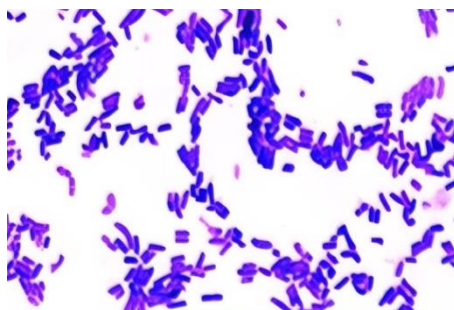
Klasifikasi *Lactobacillus* menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) adalah sebagai berikut.

Kerajaan : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Bangsa : Lactobacillales
 Suku : Lactobacillaceae
 Marga : *Lactobacillus*
 Jenis : *Lactobacillus* sp.

Lactobacillus sp. termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL) dan merupakan salah satu genus terbesar dalam kelompok tersebut.

Bakteri ini bersifat Gram positif berbentuk batang (Gambar 2), anaerob fakultatif, katalase-negatif, tidak membentuk spora, serta dapat bersifat heterofermentatif. Secara morfologi, selnya berbentuk batang dengan ukuran lebar sekitar 0,7–1,1 μm dan panjang 2,0–4,0 μm . Suhu optimum pertumbuhannya berada pada kisaran 30–37 °C.

Lactobacillus sp. banyak ditemukan pada berbagai habitat, termasuk sebagai bagian dari flora normal pada saluran pencernaan, saluran kemih, dan rongga mulut (Trimudita dan Djaenudin, 2021).



Gambar 2. Morfologi *Lactobacillus* sp. dengan Pewarnaan Gram Perbesaran 1000 \times .

Sumber: Dakhil, 2017

Bakteri ini tidak membentuk spora dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama fermentasi. Dua peran menguntungkan yang paling utama dari *Lactobacillus* adalah sebagai kultur *starter* (untuk menghasilkan asam dengan cepat) dan sebagai kultur probiotik. Probiotik *Lactobacillus* digunakan untuk meningkatkan kesehatan usus. Meskipun sangat tergantung pada strain, yang termasuk *Lactobacillus* probiotik yakni *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. paracasei*, *L. paracasei subsp. tolerans*, *L. plantarum*, *L. reuteri* dan *L. rhamnosus* (Angelis and Gobetti, 2016). *Lactobacillus* merupakan bagian dari flora normal yang berperan sebagai agen probiotik dengan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen serta

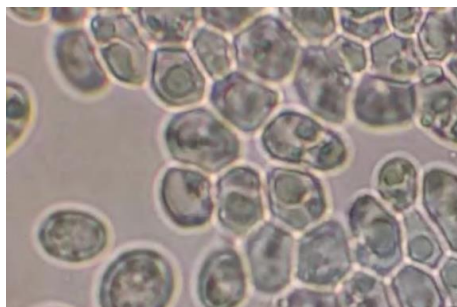
berkontribusi dalam merangsang produksi antibodi sehingga meningkatkan sistem imun atau kekebalan tubuh (Aini dkk., 2021).

2.2.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae* menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) adalah sebagai berikut.

Kerajaan : Fungi
Filum : Ascomycota
Kelas : Saccharomycetes
Bangsa : Saccharomycetales
Suku : Saccharomycetaceae
Marga : *Saccharomyces*
Jenis : *Saccharomyces cerevisiae*

Secara makroskopis koloni *S. cerevisiae* berbentuk bulat, berwarna kuning muda, permukaan berkilau, tampak licin, dan bertekstur lunak. Secara mikroskopis, morfologi *S. cerevisiae* (Gambar 3) dapat memiliki bermacam bentuk, termasuk oval, silinder, ogival (bulat panjang dan runcing di salah satu ujungnya), segitiga melengkung (triangular), berbentuk seperti botol, alpukat atau lemon, serta membentuk hifa palsu atau pseudomiselium. Ukuran panjangnya 1-5 μm hingga 20-50 μm , dan lebar 1-10 μm , namun bentuk dan ukuran sel khamir *S. cerevisiae* dapat berbeda pada kultur yang sama, yang dipengaruhi oleh umur sel dan kondisi lingkungannya (Widyanti dan Moehadi, 2016).



Gambar 3. Morfologi *Saccharomyces cerevisiae* dengan Perbesaran 1000×.

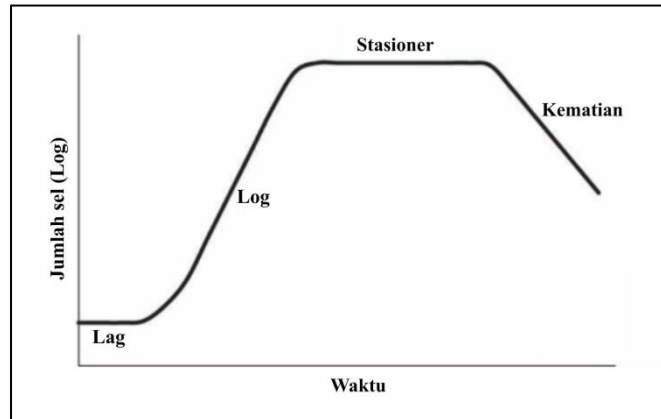
Sumber: Stephanie dkk., 2019

Saccharomyces cerevisiae memiliki efisiensi tinggi dalam mengonversi gula menjadi etanol. Mikroorganisme ini bersifat fakultatif anaerob. Produk utama metabolisme yang dihasilkan adalah etanol, karbon dioksida (CO₂), dan air. *S. cerevisiae* tumbuh optimal pada suhu 25-30 °C dengan kisaran pH ideal antara 4,0-5,5 (Khazalina, 2020). *S. cerevisiae* termasuk kelompok mikroba probiotik karena tidak bersifat patogen, tidak mengandung plasmid yang membawa gen resistensi terhadap antibiotik, serta diketahui dapat menghasilkan berbagai substrat energi bagi sel-sel usus, sehingga membantu menjaga kesehatan saluran pencernaan dengan meningkatkan keseimbangan flora pada mukosa usus melalui ekstrak dinding selnya (Hartati dkk., 2020).

2.3 Pertumbuhan Mikroba

Pertumbuhan diartikan sebagai pertambahan bertahap semua komponen dalam sel hidup. Pada organisme multiseluler, pertumbuhan mencakup pembesaran ukuran sel serta peningkatan jumlah sel dalam tubuh. Sementara pada organisme uniseluler atau bersel tunggal, pertumbuhan mengacu pada peningkatan jumlah sel yang berarti juga peningkatan jumlah individu, misalnya pertumbuhan dalam suatu kultur mikroba. Pertumbuhan

mikroorganisme dalam kultur terdiri dari 4 tahapan, yakni fase adaptasi, fase logaritmik, fase statis, dan fase kematian (Gambar 4) (Waluyo, 2024).



Gambar 4. Kurva Pertumbuhan Mikroba.

Sumber: Septiani dkk., 2025

Fase adaptasi (*lag phase*) terjadi saat mikroba berada pada medium baru, yang mana mereka melakukan adaptasi atau penyesuaian lingkungan sekitarnya. Lamanya suatu mikroba pada fase ini dipengaruhi oleh lingkungan medium dan jumlah inokulum. Apabila medium baru serupa dengan medium sebelumnya, maka fase ini berlangsung singkat atau bahkan tidak terjadi, begitupun dengan jumlah sel inokulum awal yang dimasukkan ke dalam medium baru. Fase logaritmik (*log phase*) berlangsung ketika mikroba tumbuh dan membelah dengan cepat, mengikuti pola pertumbuhan eksponensial. Kecepatan pertumbuhan tergantung pada faktor seperti pH, komposisi nutrisi medium, suhu, dan kelembaban medium. Selama fase ini, mikroba membutuhkan energi dalam jumlah besar dan menjadi sangat sensitif terhadap perubahan lingkungan (Apriyanto dkk., 2022).

Fase statis (*stationary phase*) merupakan fase dimana populasi mikroba mencapai keseimbangan karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Sel-sel menjadi berukuran kecil karena tetap membelah disaat ketersediaan nutrisi mulai habis. Fase kematian (*death phase*) berlangsung ketika nutrisi telah habis dan energi cadangan sel mikroba terkuras, yang menyebabkan mikroba mulai mati. Kecepatan waktu fase ini bergantung

pada nutrisi yang tersedia, lingkungan, dan jenis mikroba. Fase ini mencerminkan penurunan populasi mikroba akibat kondisi yang tidak lagi mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidup (Apriyanto dkk., 2022). Terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba, antara lain sebagai berikut.

- **Nutrisi.** Unsur-unsur utama yang dibutuhkan meliputi karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi, serta sejumlah kecil logam lainnya. Jika sumber nutrisi ini tidak tersedia atau jumlahnya tidak mencukupi, pertumbuhan mikroba dapat terganggu dan bahkan berujung pada kematian (Fifendy, 2017).
- **pH.** Sebagian besar mikroba tumbuh optimal pada pH mendekati netral, dengan rentang ideal bagi bakteri berada antara pH 4,6-7,0, sedangkan kapang dan khamir cenderung berkembang pada kondisi pH yang lebih rendah (Fifendy, 2017).
- **Suhu.** Suhu merupakan faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan mikroba. Setiap jenis mikroba memiliki rentang suhu tertentu serta suhu optimum yang mendukung pertumbuhannya secara maksimal (Fifendy, 2017).
- **Ketersediaan oksigen.** Kadar oksigen di lingkungan secara alami memengaruhi jenis mikroorganisme yang dapat berkembang. Berdasarkan kebutuhan akan oksigen, mikroorganisme terbagi menjadi empat kelompok, yaitu mikroorganisme aerob, anaerob, anaerob fakultatif, dan mikroaerob. Secara umum, jamur dan ragi bersifat aerobik, sedangkan bakteri dapat bersifat aerobik maupun anaerobik (Waluyo, 2024).
- **Air.** Secara umum, khamir dan bakteri membutuhkan kelembapan tinggi di atas 85 % untuk tumbuh. Kadar air bebas atau *activity water* (a_w) dalam suatu larutan merupakan rasio antara tekanan uap air larutan dengan tekanan uap air murni, atau setara dengan 1/100 dari kelembapan relatif. Nilai a_w pada bakteri biasanya berkisar antara 0,90-0,99, tetapi untuk bakteri halofilik dapat mendekati 0,75 (Waluyo, 2024).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Adapun waktu dan tempat dilakukannya penelitian ini yaitu pada Juli-Desember 2025 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan yaitu cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas beaker, ose, autoklaf, oven, timbangan analitik, *vortex*, pembakar spiritus, inkubator, *colony counter*, *Biology Safety Cabinet (BSC)*, *Laminar Air Flow (LAF) Cabinet*, *aluminium foil*, plastik *wrap*, batang pengaduk, nampan, dan toples.

Adapun bahan-bahan yang digunakan yaitu biochar, tepung tapioka, maltodekstrin, ZA (amonium sulfat), isolat bakteri *Lactobacillus* sp., isolat khamir *Saccharomyces cerevisiae*, aquades, media *Glucose Yeast Peptone (GYP; glukosa, yeast, pepton, NaCl, agar batang)*, media *De Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA)*, media *Potato Dextrose Broth (PDB)*, dan media *Potato Dextrose Agar (PDA)*, dan kloramfenikol.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan deskriptif kuantitatif dengan rancangan percobaan RAL (Rancangan Acak Lengkap) faktorial. Faktor komposisi bahan terdiri dari 3 taraf yakni (K0, K1, dan K2), serta waktu pengamatan terdiri dari 4 taraf (hari ke-0, 30, 60, dan 90). Setiap kombinasi perlakuan komposisi bahan dan waktu pengamatan diulang sebanyak 3 kali, sehingga diperoleh 12 kombinasi perlakuan dengan 36 satuan percobaan. Adapun perlakuan dan tata letak percobaannya sebagai berikut.

K0: Isolat mikroba probiotik

K1: Isolat *Lactobacillus* sp. + *S. cerevisiae* + bahan pelindung

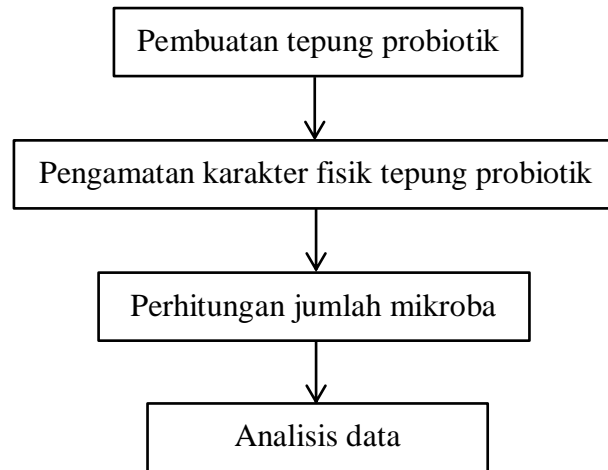
K2: Isolat *Lactobacillus* sp. + *S. cerevisiae* + bahan pelindung + biochar

Tabel 1. Variasi perlakuan penelitian.

Komposisi Bahan (K)	Waktu Pengamatan (Hari)	Ulangan1	Ulangan2	Ulangan3
K0	H0	K0H0U1	K0H0U2	K0H0U3
	H30	K0H30U1	K0H30U2	K0H30U3
	H60	K0H60U1	K0H60U2	K0H60U3
	H90	K0H90U1	K0H90U2	K0H90U3
K1	H0	K1H0U1	K1H0U1	K1H0U3
	H30	K1H30U1	K1H30U1	K1H30U3
	H60	K1H60U1	K1H60U1	K1H60U3
	H90	K1H90U1	K1H90U1	K1H90U3
K2	H0	K2H0U1	K2H0U1	K1H0U3
	H30	K2H30U1	K2H30U1	K1H30U3
	H60	K2H60U1	K2H60U1	K1H60U3
	H90	K2H90U1	K2H90U1	K1H90U3

3.4 Diagram Alir Penelitian

Adapun diagram alir pada penelitian ini adalah sebagai berikut.



Gambar 5. Diagram Alir Penelitian.

3.5 Pembuatan Tepung Probiotik

3.5.1 Tahap Persiapan

Isolat mikroba probiotik berupa *Lactobacillus* sp. dan *S. cerevisiae* yang digunakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung. Kepadatan populasi mikroba pada isolat terlebih dahulu dihitung sebelum digunakan. Bahan pelindung yang digunakan merupakan modifikasi dari penelitian oleh Pamungkas dkk. (2020), dengan komposisi yakni 89 % tepung tapioka, 10 % maltodekstrin, dan 1 % ZA. Perbandingan antara bahan pelindung dan isolat mikroba probiotik yakni 3:1. Pada K2, biochar yang diberikan sebanyak 1,75 % dari total bahan (bahan pelindung dan isolat mikroba). Pada perlakuan K0, isolat mikroba probiotik akan disimpan pada media cair. Semua alat dan bahan yang akan digunakan terlebih dahulu disterilisasi.

3.5.2 Langkah Kerja K1

Bahan pelindung berupa tepung tapioka 85,44 g, maltodekstrin 9,6 g, dan ZA 0,96 g diaduk merata di gelas beaker. Kemudian masukkan isolat mikroba probiotik (*Lactobacillus* sp. dan *S. cerevisiae*) dalam media cair masing-masing sebanyak 16 ml ke gelas beaker dan aduk kembali hingga merata. Selanjutnya campuran tersebut diratakan di atas nampan lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 37 °C selama 6 jam. Tepung probiotik yang dihasilkan kemudian disimpan dalam toples di suhu ruang.

3.5.3 Langkah Kerja K2

Biochar sebanyak 2,24 g ditambahkan isolat mikroba probiotik (*Lactobacillus* sp. dan *S. cerevisiae*) dalam media cair masing-masing sebanyak 16 ml dan diaduk merata di gelas beaker. Kemudian masukkan bahan pelindung berupa tepung tapioka 85,44 g, maltodekstrin 9,6 g, dan ZA 0,96 g ke gelas beaker dan aduk kembali hingga merata. Selanjutnya campuran tersebut diratakan di atas nampan lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 37 °C selama 6 jam. Tepung probiotik yang dihasilkan kemudian disimpan dalam wadah toples di suhu ruang.

3.6 Pengamatan Karakter Fisik Tepung Probiotik

Tepung probiotik yang dihasilkan dari tiap perlakuan akan dilakukan pengamatan berdasarkan karakter fisiknya yang meliputi warna, tekstur, dan bentuk.

3.7 Perhitungan Jumlah Mikroba

Perhitungan jumlah mikroba dilakukan menggunakan *Total Plate Count* (TPC). Media yang digunakan adalah media MRSA untuk bakteri *Lactobacillus* sp., dan media PDA+kloramfenikol untuk khamir *S. cerevisiae*. Berdasarkan modifikasi Putri (2022), pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 g tepung probiotik dan dicampurkan dengan NaCl 0,9% steril dalam rasio 1:10. Proses pengenceran dilakukan hingga tingkat pengenceran 10^{-9} . Isolasi mikroba dilakukan dengan metode *pour plate* (cawan tuang), di mana sebanyak 1 ml sampel dari tiga pengenceran terakhir dituangkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan media padat (MRSA atau PDA) dan dihomogenkan. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37 °C (bakteri) dan 30 °C (khamir *S. cerevisiae*) selama 24-48 jam. Koloni yang terbentuk dihitung menggunakan *colony counter* dengan ketentuan jumlah koloni yang dapat dihitung berkisar antara 30-300 koloni. Perhitungan jumlah *colony forming units* (CFU) per ml untuk setiap sampel dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut (Marfirah dkk., 2023).

$$\text{CFU/ml} = \text{Jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

3.8 Analisis Data

Data berupa karakter fisik tepung probiotik yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data perhitungan jumlah mikroba dianalisis secara statistik dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Analisis statistik dilakukan menggunakan ANOVA pada α 5 %, dan untuk hasil analisis yang menunjukkan adanya pengaruh nyata antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey's HSD untuk mengetahui perbedaan signifikan antar perlakuan tersebut.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa:

1. Biochar berpengaruh nyata terhadap viabilitas bakteri *Lactobacillus* sp., namun tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas *Saccharomyces cerevisiae* selama penyimpanan.
2. Terdapat perbedaan karakter fisik pada aspek warna antara kedua perlakuan tepung probiotik yang dihasilkan karena adanya penambahan biochar.

5.2 Saran

Diperlukan pengujian pada jangka waktu lebih panjang dan kondisi penyimpanan yang berbeda, seperti variasi suhu untuk mengetahui kondisi optimal yang mampu mempertahankan jumlah sel probiotik. Penelitian lanjutan dapat dilakukan dengan menguji efektivitas aplikasi tepung probiotik dengan bahan pelindung dan biochar ini secara langsung pada pakan dan kinerja pertumbuhan serta kesehatan hewan uji dengan melihat ketahanannya terhadap pH asam lambung, garam empedu, serta kemampuan adhesi pada saluran pencernaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adekiya, A.O., Ogunbode, T.O., Esan, V.I., Adedokun, O., Olatubi, I.V., Ayegboyin, M.H. 2025. Short term effects of biochar on soil chemical properties, growth, yield, quality, and shelf life of tomato. *Scientific Reports*, 15(1): 24965.
- Aini, M., Rahayuni, S., Mardina, V., Quranayati, Q., dan Asiah, N. 2021. Bakteri *Lactobacillus* spp dan peranannya bagi kehidupan. *Jurnal Jeumpa*, 8(2): 614-624.
- Angelis, M. D., and Gobbetti, M. 2016. *Reference Module in Food Science*. Elsevier: Italy.
- Apriyanto M., Novitasari, R., Mardeci, H., dan Yulianti. 2022. *Dasar Mikrobiologi Pangan*. CV.AA.Rizky: Banten.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Fontana, A.J., Schmidt, S.J. and Labuza, T.P. 2020. *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications, Second Edition*. Wiley Blackwell: USA.
- Bradley, J.A. 2025. Microbial dormancy as an ecological and biogeochemical regulator on Earth. *Nat Commun*; 16(1): 3909.
- Coates, A.R.M. 2011. *Dormancy and Low Growth States in Microbial Disease*. Amerika Serikat: Cambridge University Press.
- Dakhil, A. S. 2017. Biosynthesis of silver nanoparticle (AgNPs) using *Lactobacillus* and their effects on oxidative stress biomarkers in rats. *Journal of King Saud University – Science*, 29(4): 462-467.
- El-Sayed, A. F. M. 2020. *Tilapia Culture (Second Edition)*. Academic Press: USA.
- Evizal, R., dan Prasmatiwi, F. E. 2023. Biochar: Pemanfaatan dan aplikasi praktis. *Jurnal Agrotropika*, 22(1): 1-12.
- Fallo, G., Usfinit, Y. F., dan Pardosi, L. 2023. Uji Komposisi Biochar Sekam Padi Selama Penyimpanan terhadap Viabilitas Isolat RTCR01 sebagai Carrier

- Pupuk Hayati di Kabupaten Timor Tengah Utara. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1): 162-171.
- Fassah, D. M., Hairani, A., Meryandini, A., Astuti, D. A., dan Wiryawan, I. K. G. 2024. Daya simpan probiotik bakteri asam laktat asal larva black soldier fly terenkapsulasi. *Jurnal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan*, 22(1): 23-28.
- Fifendy, M. 2017. *Mikrobiologi*. Kencana: Depok.
- Goenadi, D. H., dan Santi, L. 2017. Kontroversi aplikasi dan standar mutu biochar. *Jurnal Sumberdaya Lahan*, 11(1): 23-32.
- Hartati, I. L., Cokrowati, N., dan Lestari, D. P. 2020. Addition of yeast bread (*Saccharomyces cerevisiae*) in feed to increase growth of barramundi (*Lates calcarifer*). *Jurnal Biologi Tropis*, 20(2): 270-278.
- Hassanzadeh, A.M., Khiabani, M.S., Sadrnia, M., Divband, B., Rahmanpour, O., Jabbari, V., Gholizadeh, P., and Kafil, H.S. 2017. Immobilization and microencapsulation of *Lactobacillus caseii* and *Lactobacillus plantarum* using zeolite base and evaluating their viability in gastroesophageal-intestine simulated. *Ars Pharm*, 58 (4): 163-170.
- Hossain, M. I., Sadekuzzaman, M., and Ha, S. D. 2017. Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Research International*, 100: 63–73.
- Khazalina, T. 2020. *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan produk halal berbasis bioteknologi konvensional dan rekayasa genetika. *Journal of Halal Product and Research*, 3(2): 88-94.
- Kim, H., Oh, S., and Song, S. 2024. *Lactobacillus* Persisters Formation and Resuscitation. *J Microbiol Biotechnol*, 34(4): 854-862.
- Lehmann, J., and Joseph, S. 2024. *Biochar for Environmental Management: Science, Technology and Implementation (3rd edition)*. Routledge: London.
- Li, X., Zhu, Y., and Li, Z. 2017. Aging effects on bacterial survival and metabolism under nutrient limitation. *Microbial Ecology*, 74(2): 491–502.
- Marfirah, L., Maryati, S., dan Anggriawin, M.. 2023. Karakteristik kimia, mikrobiologi, dan organoleptik pada produk jus jeruk. *Jurnal Pertanian Agros*, 25(4): 3563-3575.
- Mukhlis, B. Hidayat, dan Sabrina, T. 2023. *Biochar: Arang Hitam Pembenh Tanah Pertanian*. USU Press: Medan.
- Pamungkas, D. N. A., Wadjdi, M. F., dan Ali, U. 2020. Pengaruh penggunaan asam amino lisin pada enkapsulasi probiotik *Lactobacillus fermentum*

- terhadap jumlah mikroba dan nilai pH. *REKASATWA: Jurnal Ilmiah Peternakan*, 2(1): 26-30.
- Purbalisa, W., Zulaehah, I., Paputri, D. M. W., dan Wahyuni, S. 2020. Dinamika karbon dan mikroba dalam tanah pada perlakuan biochar kompos plus. *Jurnal Presipitasi: Media Komunikasi dan Pengembangan Teknik Lingkungan*, 17(2): 138-143.
- Putri, T. S. K. 2022. Pengaruh Jenis Substrat dan Lama Inkubasi Terhadap Karakteristik Inokulum Tempe yang Diberi Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. Skripsi: Universitas Lampung.
- Rahmayanti, F., Mahendra, M., Munandar, M., Febrina, C. D., dan Rahma, E. A. 2020. Pemanfaatan probiotik untuk budidaya perikanan. *Jurnal Pengabdian Masyarakat: Darma Bakti Teuku Umar*, 2(1): 179-185.
- Reggi, S., Frazzini, S., Fusi, E., Guagliano, M., Cristiani, C., Onelli, E., Moscatelli, A., and Rossi, L. 2025. Biochar's Adsorption of *Escherichia coli* and Probiotics *Lactiplantibacillus plantarum* and *Limosilactobacillus reuteri* and Its Impact on Bacterial Growth Post In Vitro Digestion. *Applied Sciences*, 15(9): 5090.
- Ribeiro, R. A., Bourbon-Melo, N., and Sá-Correia, I. 2022. The cell wall and the response and tolerance to stresses of biotechnological relevance in yeasts. *Front. Microbiol.*, 13:953479.
- Sakai, .K, Kondo, Y., Aoki, K., and Goto, Y. 2025. Molecular and Biophysical Perspectives on Dormancy Breaking: Lessons from Yeast Spore. *Biomolecules*, 15(5):701.
- Septiani, D., Meliala, A., Lestari, R., Purnamasari, W.O.S., Ashan, H.R., Purnamasari, R., Putri, U.S., Primayanti, T., Andromeda, Wibowo, dan Hidayati, S. 2025. *Mikrobiologi Kedokteran*. CV. Gita Lentera: Padang.
- Setiarto, B. R. H., dan Widhyastuti, N. 2022. Kajian Pustaka: Probiotik dan Prebiotik Meningkatkan Imunitas untuk Mencegah Infeksi Virus Covid 19. *Jurnal Veteriner*, 23(1): 130-145.
- Shalsabila, F., Prijono, S., dan Kusuma, Z.. 2017. Pengaruh aplikasi biochar kulit kakao terhadap kemantapan agregat dan produksi tanaman jagung pada Ultisol Lampung Timur. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*, 4(1); 473-480.
- Shehata, A.I., Soliman, A.A., Ahmed, H.A. 2024. Evaluation of different probiotics on growth, body composition, antioxidant capacity, and histoarchitecture of *Mugil capito*. *Scientific Repots*, 14; 7379.

- Singh, R. R. B. 2017. Stress responses in probiotic bacteria: Techniques for improving survivability and efficacy. *Journal of Functional Foods*, 35; 540–555.
- Situmeang, Y. P., dan Sudita, I. D. N.. 2021. PKM Pengolahan Limbah Ternak Menjadi Biochar. *Postgraduated Community Service Journal*, 2(2); 63-70.
- Stephanie, M. M., Pantjajani, T., dan Goeltom, M. T. 2019. Fermentasi Anggur (Wine) dari Mangga Kuwini (*Mangifera odorata*) Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *CALYPTRA*, 7(2): 4600-4616.
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. 2019. Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, 11(7): 1591.
- Trimudita R.F., dan Djaenudin, D. 2021. Enkapsulasi Probiotik *Lactobacillus* sp. Menggunakan Dua Tahap Proses. *Jurnal Serambi Engineering*, 6(2): 1832-1841.
- Trisiswanti, Arista, A. M., Sugimin, S., Rizquita, E. A., dan Oxi, R. Y. 2023. Effectiveness of bacterial culture preservative techniques in the microbiology laboratory. In *Proceeding of International Joint Conference on UNESA*, 1(1): 1-6.
- Waluyo, L. 2024. *Dasar-dasar Mikrobiologi dan Parasitologi*. UMMPress: Malang.
- Widyanti, E. M., dan Moehadi, B. I. 2016. Proses pembuatan etanol dari gula menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* amobil. *Metana*, 12(2): 31-38.
- Yang, L., Li, S., Ahmed, W., Jiang, T., Mei, F., Hu, X., Liu, W., Abbas, F. M., Xue, R., Peng, X., and Zhao, Z. 2024. Exploring the Relationship Between Biochar Pore Structure and Microbial Community Composition in Promoting Tobacco Growth. *Plants*, 13(21): 2952.