

**ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI JERUK MANIS
(*Citrus sinensis* L.) SEBAGAI PENGEMBANG ADONAN ROTI**

SKRIPSI

Oleh:

**BINA MARGARETA
NIM. 16620081**



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L.) SEBAGAI PENGEMBANG ADONAN ROTI

SKRIPSI

Oleh:

**BINA MARGARETA
NIM. 16620081**

Diajukan Kepada :

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

**ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI JERUK MANIS
(*Citrus sinensis* L.) SEBAGAI PENGEMBANG ADONAN ROTI**


SKRIPSI

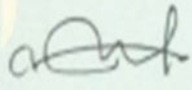
Oleh :
BINA MARGARETA
NIM. 16620081

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal : 7 Oktober 2020

Pembimbing I


Pembimbing II


Dr. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002


Oky Bagas Prasetyo M.Pd.I
NIP. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi




Dr. Eyika Sandi Savitri, M. P.
NIP. 197410182003122002

**ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI JERUK MANIS
(*Citrus sinensis* L.) SEBAGAI PENGEMBANG ADONAN ROTI**

SKRIPSI


Oleh:
BINA MARGARETA
NIM: 16620081

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)


Tanggal : 9 November 2020


Susunan Dewan Penguji
Penguji Utama : Ir. Liliek Haranie A.R. M.P
NIP. 19620901 199803 2 001
Ketua Penguji : Prihya Dewi Fitriasari, M. Sc
NIP. 19900428 2016080 1 2062
Sekretaris Penguji : Dr. Hj. Ulfah Utami, M. Si
NIP. 19650509 199903 2 002
Anggota Penguji : Oky Bagas Prasetyo, M. Pd. I
NIP. 19890113 20180201 1 244

Tanda Tangan

()

()

()

()

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala Puji Bagi Allah SWT. yang telah memberikan kemudahan kepada saya sehingga mampu mengerjakan skripsi ini sampai selesai. Sholawat serta salam semoga selalu tercurahkan pada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umat pada jalan yang terang benderang. Skripsi ini saya persembahkan kepada orang-orang yang berjasa dalam hidup saya, tanpa mereka saya tidak mungkin dapat melangkah sejauh ini. Terima kasih kepada kedua orang tua saya yang telah memberikan dukungan baik berupa materi, maupun doa, serta kerabat yang selalu memberi dukungan. Terima kasih untuk teman-teman Biologi angkatan 2016, serta semua yang telah memberikan banyak pelajaran hidup dan membantu proses berjuang. Terima kasih untuk Ibu Ulfah Utami dan bapak Oky Bagas Prasetyo selaku dosen pembimbing yang sangat sabar dalam membimbing saya. Terima kasih juga untuk Ibu Retno Susilowati selaku dosen wali yang telah memberikan motivasi dan semangat kepada saya dari semester 1 hingga saya mampu menyelesaikan perkuliahan saat ini.

Terima kasih sebesar-besarnya saya haturkan kepada:

1. Bapak Nanang Muklis Riadi dan Ibu Nana Wulandari, Kedua orang tua saya yang selalu memberikan dukungan baik doa, semangat dan materiil demi memberikan saya ilmu yang berharga untuk masa depan.
2. Dr. Hj. Ulfah Utami., M. Si sebagai dosen pembimbing skripsi saya. Terima kasih atas kesabaran serta keikhlasan telah memberikan bimbingan, pengarahan serta dorongan dalam proses menyusun skripsi ini.
3. Ir. Liliek Harianie A.R M.P., Prillya Dewi Fitriasari M. Sc., Oky Bagas prasetyo M.Pd.I., dan Mbak Retno Novitasari yang telah membimbing dan memberikan arahan berdasarkan ilmunya kepada saya dengan sangat sabar.

4. Bapak Nuryoto dan Ibu Suyatun selaku kakek dan nenek saya, beserta kerabat saya yang saya sayangi, yang telah mendukung, mendoakan saya agar dapat segera menyelesaikan proses belajar diperkuliahan ini.
5. Teman-teman satu proyek penelitian Khamir: Yumna, Rofiatu, Nila dan Amira yang telah sangat membantu dalam berjuang bersama dari pagi hingga malam demi menyelesaikan proyek penelitian ini bahkan ditengah pandemi covid-19.
6. Teman-teman Big Family Bio C serta teman-teman seangkatan Biologi Gading Putih 2016. Teman-teman kost putri SKJ20, terutama Mbak Rofi'atul Magfiroh yang selalu memberi saya motivasi dan dukungan dalam penulisan skripsi dari mulai awal penelitian sampai penelitian selesai.

MOTTO

“ Terus memperbaiki diri dan selalu libatkan Allah SWT. dalam setiap usaha”



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Bina margareta

NIM : 16620081

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi Dan Uji Potensi Khamir Endofit
dari Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.)
Sebagai Pengembang Adonan Roti

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

Malang, 7 Oktober 2020

Yang Membuat Pernyataan



Bina Margareta

NIM: 16620081

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Isolasi Dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Sebagai Pengembang Adonan Roti” ini tidak dipublikasikan. Akan tetapi akses terbuka dan dapat digunakan untuk umum dengan ketentuan hak Cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT yang telah memberikan nikmat yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada besar Muhammad SAW yang telah membimbing umatnya dari zaman jahiliyah sampai menjadi terang benderang melalui penyebaran cahaya iman, islam dan ilmu pengetahuan yang hakiki.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini telah mendapatkan banyak bantuan dan semangat dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr.Evika Sandi Savitri, M. P Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr.Hj.Ulfah Utami, M. Si selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran substansi nilai-nilai moral kepada penulis.
6. Ibu Ir. Liliek Harianie A.R, M.P. dan Ibu Prilya Dewi Fitriyani, M. Sc selaku penguji yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis demi terealisasinya skripsi ini.
7. Dr.Retno Susilowati, M. Si, selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis baik akademik maupun non akademik dan selalu memberikan motivasi agar penulis tetap semangat dalam menempuh studi di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Ayah, ibu, adik dan semua keluargaku tercinta yang telah mendidik dan membimbing serta mendampingi dengan penuh kasih sayang dan kesabaran, serta selalu memberikan do'a kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan karunia Allah SWT selalu melindungi mereka dan mendapat keridhoan-nya.
9. Teman-teman seperjuangan yang selalu memberi semangat dan dukungan untuk kelancaran skripsi ini.
10. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan yang sangat bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini. Semoga Allah SWT memberikan balasan yang setimpal. Aamiin.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Karena kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Untuk itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi

penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. *Amiin Yaa Allah Ya Rabbal'alamiin.*

Malang, 7 Oktober 2020

Penulis



Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit Dari Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Sebagai Pengembang Adonan Roti

Bina Margareta, Ulfah Utami, Oky Bagus Prasetyo

ABSTRAK

Khamir merupakan salah satu bahan terpenting dalam proses industri pembuatan roti. Khamir dapat diisolasi dari buah lokal dan memungkinkan memiliki potensi sebagai pengganti ragi komersil. Penelitian ini difokuskan pada proses isolasi, identifikasi makroskopis, mikroskopis serta biokimia dan fermentasi adonan ragi dari sumber buah lokal *Citrus sinensis* L. yang berpotensi digunakan sebagai agen ragi. Isolasi dilakukan secara endofit atau pada jaringan buah yaitu pada daging buah dan kulit buah. Isolat khamir yang diperoleh dari isolasi menggunakan media fermentasi *Yeast Malt Extract Broth* (YMB) akan diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis serta dilakukan uji fermentasi biokimia, uji flokulasi, uji toleransi etanol, uji produksi hidrogen sulfida (H_2S), uji toleransi suhu, uji kemampuan tumbuh pada *Glucose Yeast Peptone* (GYP) konsentrasi 50% dan uji kemampuan ragi sebagai agen pengembang adonan roti. Beberapa isolat khamir yang ditemukan kemudian melalui tahap pengujian agar diketahui isolat khamir yang tidak hanya memiliki potensi paling baik dalam mengembangkan adonan namun juga memiliki nilai uji paling optimal terhadap serangkain uji yang dilakukan. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan lima isolat khamir yaitu RYB-1, RYB-2, RYK-1, RYK-2 dan RSK-1 yang berdasarkan hasil identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis memiliki kemiripan dengan kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes*, dengan adanya empat isolat yang berpotensi sebagai pengembang adonan roti setelah dilakukan uji potensi pembuatan adonan. Empat isolat yang berpotensi sebagai pengembang adonan roti yaitu RYB-1, RYB-2, RSK-1 dan RYK-2, namun isolat khamir RYK-2 memiliki potensi paling baik dalam pengembangan adonan dan aroma roti.

Kata kunci : Khamir , *Citrus sinensis* L, Pengembang roti

Isolation and Potential Test of Endophytic Yeast from Sweet Orange (*Citrus sinensis L.*) as a Bread Baking

Bina Margareta, Ulfah Utami, Oky Bagus Prasetyo

ABSTRACT

Yeast is one of the most important ingredients in the bakery industry process. Yeast as a commonly known organism is possible to obtain from the isolation of local fruit which has the potential as a substitute for commercial yeast. This research is focused on the isolation process, macroscopic, microscopic, and biochemical identification, and fermentation of yeast dough from local fruit sources *Citrus sinensis L.* which has the potential to be used as a yeast agent. Isolation is carried out endophytic or on the fruit tissue, namely the flesh and rind of the fruit. Yeast isolates obtained from isolation using *Yeast Malt Extract Broth* (YMB) fermentation media will be identified macroscopically, microscopically, and biochemical fermentation tests, flocculation tests, ethanol tolerance tests, hydrogen sulfide (H₂S) production tests, temperature tolerance tests, growth ability tests are carried out on *Glucose Yeast Peptone* (GYP) concentration of 50%, and test the ability of yeast as an improver of bread dough. Some of the Khamer isolates found will be tested so that it is known that the yeast isolates not only have the best potential in improving dough but also have the most optimal test value for the series of tests carried out. Based on the results of the study, it was found that five yeast isolates were RYB-1, RYB-2, RYK-1, RYK-2, and RSK-1 which based on the macroscopic and microscopic identification results were similar to the Ascomycetes class, the Hemiascomycetes subclass, with four isolates that had the potential to be improver of bread dough after testing the potential for making the dough. Four isolates that have the potential to improver of bread dough are RYB-1, RYB-2, RSK-1, and RYK-2. However, RYK-2 Khamir isolates have the best potential in improving bread dough and aroma.

Keywords: Yeast, *Citrus sinensis L.*, Improver of bread

عزل خميرة إندوفيت واختبارها المحتمل من البرتقال (*Citrus sinensis L.*) كمطور لعجين الخبز

بيننا مار غريتا، أولفا أوتامي، أوكي باجاس براسيتيو

مستخلص البحث

كانت الخميرة من أهم المكونات في عملية صنع الخبز. ويتم الحصول عليها ككائن حي مشهور من عزل الفواكه المحلية التي يمكن استخدامها كبديل الخميرة التجارية. يركز هذا البحث على عملية العزل، والتعرف العياني والمجهري والكميائي الحيوي، والتخمير لعجين الخميرة من مصادر الفاكهة المحلية المسمى في اللاتينية بـ *Citrus sinensis L.* التي يمكن استخدامها ككائن الخميرة. يتم العزل بطريقة الإندوفيت أو على أنسجة الفاكهة، أي لحمها وقشرها. سيتم تحديد عزل الخميرة المحسولة من العزل باستخدام وسائط التخمير *Yeast Malt Extract Broth* (YMB) بشكل عياني ومجهري واختبار التخمير الكميائي الحيوي، واختبار التلبد، واختبار تحمل الإيثانول، واختبار إنتاج كبريتيد الهيدروجين (H_2S)، واختبار تحمل درجة الحرارة، واختبار القدرة على النمو على *Glucose Yeast Peptone* (GYP) بتركيز 50٪، واختبار قدرة الخميرة كمطور عجين الخبز. سيتم اختبار عزلات الخميرة التي قد تم العثور عليها بحيث تعرف أي عزلات لا تمتلك فقط أفضل الإمكانيات في تطوير العجين ولكن لها أيضًا قيمة اختبار مثالية لسلسلة الاختبارات التي تم إجراؤها. بناءً على نتائج البحث، تم العثور على خمس عزلات من الخميرة، وهي RYB-1، و RYB-2، و RYK-1، و RYK-2، و RSK-1. بناءً على نتائج التعرف العياني والمجهري كانت هذه العزلات مماثلة لفئة *Ascomycetes* والفئة الفرعية *Hemiascomycetes*، بوجود أربع عزلات لها إمكانية لتطوير عجينة الخبز بعد اختبار إمكانية صنع العجين. أربع عزلات لديها القدرة كمطور عجينة الخبز هي RYB-1، و RYB-2، و RSK-1، و RYK-2. ومع ذلك، فإن عزلات الخميرة RYK-2 لديها أفضل الإمكانيات في تطوير عجين الخبز ورائحته.

الكلمات الرئيسية: خميرة، *Citrus sinensis L.* مطور الخبز

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	ix
ABSTRAK	xi
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.5 Batasan Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Khamir.....	8
2.1.1 Ciri Umum Khamir.....	8
2.1.2 Taksonomi Khamir	9
2.1.3 Habitat Khamir	11
2.2 Khamir dan Potensinya Sebagai Pengembang Roti	12
2.2.1 Syarat Khamir yang Berpotensi sebagai Pengembang roti.....	13
2.2.2 Mekanisme Pengembangan Roti	15
2.3 Jeruk Manis (<i>Citrus sinensi L.</i>)	17
BAB III METODE PENELITIAN	20
3.1 Rancangan Penelitian	20
3.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.3 Alat dan Bahan	21
3.3.1 Alat.....	21
3.3.2 Bahan	21
3.4 Prosedur Penelitian.....	22
3.4.1 Pembuatan Media	22

3.4.2 Isolasi Khamir.....	24
3.4.3 Purifikasi.....	25
3.3.4 Identifikasi Makroskopik.....	25
3.3.5 Identifikasi Mikroskopik.....	26
3.3.6 Uji Potensi Pengembang Roti.....	26
3.5 Teknik Analisis Data.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Khamir yang Teridentifikasi Pada Buah Jeruk Manis Berdasarkan Karakter Morfologi.....	30
4.1.1 Isolat Khamir RYB-1.....	34
4.1.2 Isolat Khamir RYB-2.....	36
4.1.3 Isolat Khamir RYK-1.....	37
4.1.4 Isolat Khamir RYK-2.....	39
4.1.5 Isolat Khamir RSK-1	41
4.2 Uji Fermentasi Karbohidrat Isolat Khamir.....	43
4.3 Uji Kemampuan Khamir pada Glukosa 50%.....	47
4.4 Uji Pembentukan H ₂ S dan Pembentukan Flokulasi	48
4.5 Uji Kemampuan Khamir dalam Toleransi Suhu	49
4.6 Uji Kemampuan Khamir dalam Toleransi Alkohol	51
4.7 Uji Potensi Isolat Khamir dalam Mengembangkan adonan.....	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	59
5.1 Kesimpulan.....	59
5.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
Lampiran	69

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kandungan zat gizi dalam buah jeruk manis	19
Tabel 4. 1 Karakter Morfologi Makroskopis Isolat Khamir.....	31
Tabel 4. 2 Karakter Morfologi Mikroskopis Isolat Khamir.....	32
Tabel 4. 3 Kemampuan Isolat Khamir dalam Melakukan Fermentasi Karbohidrat dan perubahan pH yang Terjadi	45
Tabel 4. 4 Pertumbuhan Isolat Sel Khamir pada Medium Glukosa 50% (m/v) dengan indikator kepadatan optik (600 nm).....	47
Tabel 4. 5 Uji pembentukn H ₂ S dan Pembentukan Flokulasi.....	48
Tabel 4. 6 Kemampuan Isolat Khamir dalam Toleransi Suhu.....	50
Tabel 4. 7 Kemampuan Isolat Khamir dalam Toleransi Alkohol	51
Tabel 4. 8 Karakteristik Roti dari Isolat Khamir.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Interaksi antara glutein dan gliadin dalam pembentukan gluten.....	16
Gambar 2. 2 Faktor-faktor yang dibutuhkan dan dihasilkan khamir selama fermentasi.....	17
Gambar 3. 1 Lokasi Pengambilan Sampel.....	21
Gambar 4. 1 Koloni isolat RYB 1 pada media padat.....	35
Gambar 4. 2 Sel isolat RYB 1 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler.....	35
Gambar 4. 3 Koloni isolat RYB 2 pada media padat.....	36
Gambar 4. 4 Sel isolat RYB 2 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler.....	37
Gambar 4. 5 Koloni isolat RYK 1 pada media padat.....	38
Gambar 4. 6 Sel isolat RYK 1 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler.....	39
Gambar 4. 7 Koloni isolat RYK 2 pada media padat.....	40
Gambar 4. 8 Sel isolat RYK 2 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler.....	41
Gambar 4.9 Koloni dan sel Isolat RSK 1.....	42
Gambar 4.10 Pengembangan Adonan Jam Ke-6.....	53
Gambar 4.11 Pengembangan Adonan Setelah 12 Jam.....	54
Gambar 4. 12 Rongga roti isolat RYB 1, RYB 2, RYK 1, RYK 2 dan RSK 1.	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran. 1 Prosedur Isolasi Khamir	69
Lampiran. 2 Hasil Fermentasi Karbohidrat	70
Lampiran. 3 Gambar Fermentasi Karbohidrat	72
Lampiran. 4 Hasil Uji Hidrogen Sulfidan dan Flokulasi	74
Lampiran. 5 Gambar Aktivasi Sel Khamir	75
Lampiran. 6 Proses Pengembangan Adonan 1 Jam Pertama	76
Lampiran. 7 Proses Pengembangan Adonan Selama 6 jam	78
Lampiran.8 Proses Pengembangan Adonan Selama 12 Jam	80

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keberadaan industri roti Dunia termasuk di Indonesia dari waktu ke waktu selalu mengalami perkembangan. Pengolahan industri roti tidak bisa lepas dari khamir yang membantu dalam mengembangkan adonan roti sehingga dapat diperoleh roti dengan bentuk, aroma serta rasa yang diminati dikalangan masyarakat. Khamir atau biasa dikenal dengan ragi merupakan salah satu bahan penting dalam produk roti yang pada proses produksinya mengalami fermentasi adonan. Dalam beberapa tahun terakhir gagasan mengenai agen khamir alami mengalami peningkatan sebagai bentuk inovasi dalam mengganti ragi kering komersil yang telah banyak diketahui secara umum dikalangan masyarakat (Komatsuzaki *et al.*, 2016). Khamir sendiri telah banyak memberi kontribusi dalam bidang pangan lebih dari seribu tahun dan membantu proses fermentasi, bioremediasi serta digunakan dalam kegiatan penelitian di bidang ilmu biologi (Zarei *et al.*, 2016).

Khamir secara umum merupakan mikroorganisme eukariotik yang tergolong dalam kelas *Ascomycetes*. Khamir sendiri termasuk fungi uniseluler yang tumbuh dan berkembang di hampir semua organisme hidup. Seperti organisme fungi pada umumnya khamir membutuhkan gula sebagai sumber energi agar tetap hidup (Shehzad *et al.*, 2012). Khamir adalah kelompok jamur bersel tunggal yang bereproduksi secara vegetatif diklasifikasikan dalam dua kelas, yaitu kelas *Ascomycetes* dan kelas *Basidiomycetes* (Turker, 2015).

Khamir merupakan salah satu kelompok dari cendawan atau fungi yang memiliki ukuran mikroskopis. Khamir termasuk organisme heterofilik dimana mereka membutuhkan senyawa organik sebagai sumber nutrisinya. Khamir melakukan reproduksi dengan cara *budding* dan memiliki habitat yang tersebar di lingkungan, baik bersimbiosis dengan benda hidup maupun pada benda mati. Allah swt. menciptakan khamir bersimbiosis dengan benda lain supaya khamir

dapat melakukan kerjasama dengan benda tersebut sehingga memperoleh nutrisi yang dibutuhkannya. Selain itu Allah swt. telah menganugrahkan khamir alat-alat khusus sehingga khamir dapat bertahan hidup dengan baik dalam waktu dan kadar yang telah di tetapkan-Nya (Shihab, 2015). Hal ini telah dijelaskan dalam firman Allah swt dalam Al Qur'an Surah Hud ayat 6:

وَمَا دَابَّةٍ مِنْ فِي الْأَرْضِ إِلَّا عَلَى اللَّهِ رِزْقُهَا وَيَعْلَمُ مُسْتَقَرَّهَا وَمُسْتَوْدَعَهَا كُلٌّ فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

Artinya ”Dan tidak ada suatu binatang melata pun di bumi melainkan Allah-lah yang memberi rezekinya, dan Dia mengetahui tempat berdiam binatang itu dan tempat penyimpanannya. Semuanya tertulis dalam Kitab yang nyata (Lauh mahfuzh)”

Ayat diatas menjelaskan tentang penciptaan Allah swt. terhadap makhluk-Nya yang bahkan diatur dari sesuatu yang terkecil, hal itu menunjukkan bahwa kekuasaan dan nikmat-Nya mencangkup keseluruhan untuk makhluk-Nya termasuk hewan, manusia dan mikroorganisme seperti khamir. Allah swt. mengatur sedemikian rupa sehingga tidak terkecuali khamir memiliki tempat hidup yang telah ditentukan untuk menyambung kehidupannya. Semua hal tersebut sudah tertulis dalam kitab yang nyata. Menurut Abdullah (2007) dalam Tafsir Ibnu Katsir disebutkan bahwa Allah swt. menjamin rizki semua makhluk, baik makhluk besar maupun kecil termasuk khamir dan Allah mengetahui tempat dimana mereka tinggal, tempat penyimpanan makanan dan tempat mereka beristirahat.

Khamir baik secara kimia maupun biologis memiliki peran penting dalam meningkatkan adonan tepung melalui proses fermentasi karbohidrat (Maryam *et al.*, 2017). Fermentasi karbohidrat sendiri merupakan proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir akibat adanya glukosa dan menghasilkan alkohol serta karbondioksida (CO₂) secara anaerob (Moede *et al.*, 2017). Banyak jenis khamir yang termasuk dalam genus *Saccharomyces*, *Kluyeromyces*, *Candida* dan *Rhodotula* yang memiliki potensi sebagai pengembang roti hal ini ditandai dengan kemampuan mereka dalam memfermentasi gula, selain itu mereka juga memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat, tidak bersifat patogen, memiliki kadar protein

tinggi, memiliki stabilitas genetik dan memiliki nilai gizi tinggi yang baik untuk pencernaan (El-Helow *et al.*, 2015).

Sejarah awal penggunaan khamir sebagai agen fermentasi tercatat dilakukan penduduk Babilonia pada tahun 6000 SM dan penduduk Mesir pada tahun 5000 SM, hal ini tercatat bahwa penggunaan khamir pada masa itu untuk produksi bir, anggur dan roti (Obasi *et al.*, 2017). Mikroorganisme khamir yang digunakan dalam proses fermentasi dapat diisolasi secara alami dari bahan-bahan alam, seperti air, tanah, buah-buahan dan bunga atau dalam kata lain biasanya disebut sebagai khamir endofit (Komatsuzaki *et al.*, 2016). Khamir endofit adalah khamir yang hidup dalam jaringan tanaman inang dan memiliki suatu bentuk hubungan yaitu simbiosis mutualisme atau dapat dikatakan memiliki hubungan yang saling menguntungkan dengan tanaman inangnya (Haniah, 2008).

Jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) sebagai buah lokal asli negara Indonesia termasuk buah yang berkontribusi pada komoditas pertanian dan tercatat memiliki urutan posisi paling atas dalam bidang agroindustri, baik digunakan sebagai konsumsi buah segar maupun dalam produk olahan (Rasud *et al.*, 2015). Buah jeruk adalah salah satu buah yang bersifat asam atau memiliki pH 3 hingga 4 dan memiliki kadar gula tinggi, kurang lebih 75-85% pada buah jeruk kultivar jeruk manis (Boboye dan Dayo, 2009). Pada kultivar seperti jeruk keprok memiliki kadar gula berkisar antara 68- 71% dan 20% pada jeruk bali (Haitami *et al.*, 2017). Karena kondisi tersebut bakteri acidolactic, jamur dan khamir dapat tumbuh dalam buah jeruk. Beberapa hasil penelitian telah menyatakan bahwa terdapat beberapa khamir berasosiasi dengan buah jeruk yang memiliki kemampuan untuk mengembangkan adonan roti (Boboye dan Dayo, 2009). Penelitian menyebutkan dalam jeruk manis terdapat khamir yang memiliki potensi sebagai pengembang roti seperti *Candida parapsilosis*, *Candida stellata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii* dan *Zygosacchomyces rouxii* (Maryam *et al.*, 2017). Selain itu spesies yang khas dapat ditemukan pada buah jeruk manis adalah *Saccharomyces exugus* dan *Saccharomyces ludwigii*, *Torulaspota delbrukii*, *Geotrichum capitatum*, *Kodamaea ohmeri*, beberapa

spesies dari *Rhodotorula*, *Pichia*, *Hansenispora* dan *Metschickowia* (Obasi *et al.*, 2017).

Kulit jeruk yang dianggap sebagai limbah yang tidak memiliki manfaat juga tercatat mempunyai asosiasi dengan khamir, hal ini karena kulit jeruk mengandung beberapa komponen zat yang mendukung untuk pertumbuhan khamir salah satunya adalah kandungan gula yang cukup tinggi berkisar antara 30-40%, pektin, selulosa dan hemiselulosa. Dalam beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa pemanfaatan kulit jeruk untuk memproduksi protein sel tunggal (PST) telah banyak dilakukan, khamir *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu mikroorganisme (PST) dari kulit jeruk. Selain khamir, jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma penicillium* juga termasuk mikroorganisme hasil (PST) dari kulit jeruk (Shinde dan Pathil, 2016). Kulit jeruk sebagai bahan alami yang berasosiasi dengan khamir memiliki kadar glukosa tinggi (30-40%) sebagai sumber karbon dan kandungan pektin yang digunakan sebagai sumber energi dalam pertumbuhannya. Keberadaan zat yang mendukung pertumbuhan khamir inilah yang kemudian memudahkan khamir berasosiasi dengan kulit jeruk (Martos *et al.*, 2013).

Keberadaan khamir pada daging buah maupun kulit jeruk manis memiliki beberapa jenis dan karakter yang berbeda. Menurut Casamorin *et al.*, (2014) pada kulit buah yang matang mengandung banyak glukosa sehingga sangat cocok digunakan sebagai sumber karbon dalam pertumbuhan khamir. Secara umum keberadaan khamir pada daging buah maupun kulit buah dipengaruhi adanya kandungan glukosa dalam buah. Pada umumnya kandungan glukosa pada daging buah jeruk manis lebih tinggi dibandingkan pada kulit buah, namun pada kulit buah terdapat kandungan pektin yang kemudian dimanfaatkan sel khamir untuk suplai energi selama proses perkembangan dan pektin tidak dimiliki oleh daging buah (Martos *et al.*, 2013). Selain itu keberadaan tempat tumbuh tanaman inang mempengaruhi tingkat glukosa didalamnya, tanaman yang tumbuh pada dataran rendah memiliki kadar glukosa lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh pada dataran tinggi, hal ini karena pada dataran rendah intensitas cahaya lebih tinggi sehingga proses fotosintesis lebih lama berlangsung akibatnya kadar

glukosa menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan dataran tinggi (Periadnadi *et al.*, 2018). Tanaman inang yang tumbuh pada area iklim dengan tanah kering akan memiliki karakter khamir endofit yang berbeda dari tanaman yang tumbuh pada iklim dengan tanah yang subur, karena pada kondisi tanah yang kering memiliki kadar stomata yang rendah akibatnya laju fotosintesis akan terganggu dan penyaluran unsur hara dalam tanaman tidak maksimal Giauque & Hawkes (2017).

Produksi pembuatan roti tidak lepas dari proses fermentasi oleh khamir. Khamir memegang peran penting untuk mengembangkan adonan serta berperan dalam memperkuat rasa yang diinginkan. Menurut (Obasi *et al.*, 2017) menyatakan terdapat empat peran khamir dalam proses pembuatan roti, yaitu 1. Untuk meningkatkan volume adonan akibat terbentuknya karbon dioksida selama proses fermentasi, 2. Untuk mengembangkan struktur dan tekstur dalam adonan karena adanya peregangan oleh ekspansi gelembung gas CO₂, 3. Untuk meningkatkan rasa dan 4. Untuk menambah beberapa nilai gizi pada roti.

Khamir yang digunakan sebagai pengembang roti memiliki syarat tertentu yang harus dipenuhi, yaitu harus mampu bertahan hidup dalam kondisi yang memiliki kadar ethanol yang tinggi antara 10%-15% dan toleransi terhadap berbagai kondisi suhu antara 25 °C, 30 °C, 37 °C dan 45 °C (Karki *et al.*, 2017). Menurut Maryam *et al.*, (2017) menyatakan syarat khamir yang baik sebagai agen pengembang roti haruslah mampu melakukan pembentukan flokulan atau endapan flok pada proses flokulasi dan tidak menghasilkan gas hidrogen sulfida (H₂S) yang merupakan senyawa pembentuk aroma busuk dan rasa tidak enak dalam pengolahan roti.

Penelitian yang dilakukan memiliki tujuan untuk mengeksplorasi khamir endofit yang memiliki potensi sebagai pengembang adonan roti. Penelitian difokuskan untuk mengetahui potensi khamir yang diisolasi dari buah lokal khususnya jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) sebagai agen khamir dengan diharapkannya mampu dikembangkan sebagai ragi komersil, karena di Indonesia ragi komersil masih diperoleh secara import dari Negara Prancis (Saf-instant®) dan Kanada (Fermipan®). Sampai saat ini masih belum ada industri dalam negeri

yang terpublikasi mampu memproduksi ragi secara konvensional maupun non-konvensional.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah subkelas khamir yang ditemukan pada kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) yang berpotensi sebagai pengembang roti ?
2. Bagaimana potensi subkelas khamir yang ditemukan pada kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) sebagai pengembang roti ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini, yaitu :

1. Untuk mengetahui subkelas khamir yang berasosiasi dengan kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) yang berpotensi sebagai pengembang roti.
2. Untuk mengetahui potensi subkelas khamir yang ditemukan pada kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) sebagai pengembang roti

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian, yaitu:

1. Penelitian yang dilakukan dapat menambah informasi apa saja subkelas khamir yang ditemukan pada kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.)
2. Penelitian yang dilakukan diharapkan menambah informasi tentang keberadaan subkelas khamir pada kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) yang berpotensi sebagai pengembang roti
3. Penelitian dilakukan dengan harapan mampu diterapkan pada bidang ilmu mikrobiologi terutama dalam mikrobiologi pangan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dai penelitian ini, yaitu:

1. Buah jeruk untuk penelitian ini adalah kultivar jeruk manis (*Citrus sinensis* L.)

2. Buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) diperoleh dari kebun jeruk Balijestro, Desa Beji, Kecamatan Junrejo, Batu.
3. Isolasi dilakukan pada bagian kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.).
4. Pengujian dilakukan untuk mengetahui potensi khamir pada kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) adalah uji kemampuan fermentasi, uji gula-gula, uji flokulasi, uji toleransi etanol, uji produksi hidrogen sulfida (H₂S), uji toleransi suhu dan uji kemampuan isolat khamir sebagai agen pengembang adonan roti.
5. *Yeast Media* (YM) digunakan sebagai media selektif untuk isolasi khamir.
6. *Yeast Media Extract Agar* (YMEA) digunakan sebagai media padat untuk meremajakan khamir.
7. Karakter yang diamati secara makroskopis antara lain permukaan koloni, tekstur koloni, tepi atau margin koloni warna koloni dan elevasi. Dan pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengamati bentuk sel (sferoid, oval, ovoid dan silinder), ukuran sel serta reproduksi vegetatif berupa ada tidaknya pembentukan *budding*.
8. Pengamatan karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis memiliki kemiripan dengan subkelas khamir tertentu.
9. Seluruh Khamir yang ditemukan dari hasil isolasi dilakukan uji potensi sebagai pengembang adonan roti.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Khamir

2.1.1 Ciri Umum Khamir

Khamir secara umum dikenal sebagai mikroorganisme eukariotik, polifiletik, uniseluler dan dapat diisolasi dari bahan alami seperti pada buah-buahan, sayuran dan beberapa jenis tumbuh-tumbuhan. Khamir bersifat anaerob fakultatif dan dapat bertahan hidup di bawah kondisi aerob maupun anaerob. Dengan keberadaan oksigen khamir dapat melakukan proses fermentasi dengan memfermentasi gula menjadi alkohol (etanol) dan karbon dioksida serta menghasilkan energi dalam kadar yang rendah. Dalam kondisi aerasi yang baik, sel-sel dalam khamir dapat memperoleh energi yang cukup dengan mengubah gula menjadi energi dalam kadar yang tinggi (Balarabe *et al.*, 2017). Meskipun khamir merupakan mikroorganisme bersel tunggal, namun khamir memiliki struktur sel yang mirip dengan organisme tingkat tinggi. Secara khusus, kode genetik mereka juga terkandung dalam inti sel atau nukleus (Thapa *et al.*, 2013).

Khamir secara luas diketahui termasuk kedalam golongan fungi uniseluler yang tersebar luas dalam berbagai kondisi lingkungan, yaitu lingkungan terrestrial, akuatik maupun di atmosfer. Secara umum khamir sering disebut sebagai fungi endofit karena khamir mampu berasosiasi dengan tumbuhan maupun buah-buahan tanpa menyebabkan kerusakan (Diana dan Titi, 2016). Khamir endofit secara umum merupakan khamir yang berasosiasi didalam jaringan tumbuhan seperti pada bunga, buah, daun, ranting bahkan akar tumbuhan (Worang, 2003). Kondisi suhu optimal yang diperlukan untuk pertumbuhan khamir adalah suhu berkisar antara 25-30°C. Dengan kelembapan yang sesuai dan nutrisi yang cukup pertumbuhan khamir dapat berjalan secara optimal (Yousif dan Shafa, 2014).

Khamir memiliki stuktur yang dinding selnya terbentuk dari polisakarida yang tebal. Secara umum khamir bereproduksi dengan cara aseksual yang sering

disebut dengan reproduksi pertunasan. Terdapat sel induk yang memanjang dan diikuti dengan tunas yang sering disebut dengan sel anak, kemudian saat bereproduksi sel induk dan tunas saling memisahkan diri (Subandi, 2010). Sel khamir memiliki bentuk yang bermacam-macam yaitu terdapat yang berbentuk bulat, oval, silinder, batang, melengkung seperti segitiga, menyerupai bentuk botol dan terdapat khamir yang membentuk pseudomiselium (Fardiaz, 2009).

2.1.2 Taksonomi Khamir

Khamir memiliki kingdom atau kerajaan yang termasuk dalam taksonomi *Eumycota*. Secara umum filum Ascomycota dan Basidiomycota merupakan filum dari keseluruhan spesies khamir yang telah teridentifikasi (Dufour *et al*, 2003). Berdasarkan cara melakukan perkembangbiakan khamir terbagi menjadi tiga kelompok besar, yaitu Ascomycetous, Basidiomyceteus dan kelompok khamir imperfect. Secara umum perkembangbiakan secara seksual khamir Ascomycetous dilakukan dengan terjadinya pembentukan ascospore, sedangkan perkembangbiakan pada khamir Basidiomycetous dilakukan dengan terbentuknya basidiospore dan pada khamir imperfect tidak melakukan perkembangbiakan seksual selama siklus kehidupannya (Kanti dan Latupapua, 2001).

2.1.2.1 Kelas *Ascomycetes*

Golongan khamir *Ascomycetes* melakukan reproduksi seksual dengan adanya pembentuk spora yang memiliki bentuk seperti kantung saku dan sering disebut *ascospore* (Barr, 2001). Khamir *Ascomycetes* memiliki dinding sel yang terdiri atas dua lapisan (*bilayer*) (Kurtzman dan Sugiyama, 2001). Khamir kelas *Ascomycete* terbagi menjadi beberapa sub kelas.

2.1.2.1.1 Sub Kelas *Euascomycetes*

Khamir yang memiliki ciri tubuh buah (*askocarp*) ditutupi oleh askus adalah khamir yang termasuk dalam sub dari kelas *Euascomycetes*. Pada umumnya yang terdaftar dalam sub kelas ini sering dikenal dengan khamir yang menyerupai atau mirip fungi (Hamamoto dan Nakase, 2000). Yang termasuk kedalam golongan sub kelas ini yaitu genus *Endomyces* dengan spesies *Endomyces scopularu*. Secara umum memiliki koloni yang menggumpal dan berwarna putih (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.1.2.1.2 Sub Kelas *Hemiascomycetes*

Ciri khamir yang mempunyai askokarp yang tidak tertutupi oleh askus adalah ciri khamir *Hemiascomycetes*. Ciri lain yaitu adanya dinding sel yang memiliki dua lapisan serta pertunasan holoblastik digunakan sebagai reproduksi secara aseksual (Hamamoto dan Nakase, 2000). Golongan khamir sub kelas *Hemiascomycetes* yaitu dengan spesies *Saccharomyces cerevisiae* yang termasuk dalam genus *Saccharomyces*. Karakter sel dengan bentuk bulat apabila dilihat secara mikroskopis merupakan khamir *S.cerevisiae*. Secara spesifik selnya berbentuk bulat telur memanjang, memiliki ukuran (3.0-8.0) μm . Pada umumnya koloni dengan warna *Cream* serta permukaan *Creamy* tidak mengkilat adalah khamir *S.cerevisiae* apabila diamati secara makroskopis. Memiliki penampakan yang lembut, secara umum terlihat merata dan terdapat yang terlihat menimbul (Kurtzan & Fell, 1998).

2.1.2.2 Kelas *Basidiomycetes*

Khamir dalam kelas *Basidiomycetes* melakukan reproduksi secara seksual dengan membentuk basidiospora atau dikenal dengan *basidium* yang terlihat seperti tongkat dengan ujung membesar (Kurtzman & Fell, 2006). Dinding sel kelas *Basidiomycetes* memiliki banyak lapisan (*multilayer*). Khamir kelas *Basidiomycetes* dibagi kedalam beberapa sub kelas.

2.1.2.2.1 Sub Kelas *Urediniomycetes*

Khamir dengan karakter berpori primitif yang dilengkapi oleh septa merupakan khamir dari sub kelas *Urediniomycetes*, pada dasarnya karakter tersebut yang membedakan dari karakter khamir lain. *Urediniomycetes* memiliki dinding sel yang tersusun dari glukosa yang tidak banyak, mannosida dengan kadar yang banyak, dan terdapat rhamnose dengan kadar yang sedikit serta fucose. Contoh khamir yang termasuk dalam golongan ini adalah genus *Rhodotulora* dan *Cryptococcus Vuilemin* dan (Satyanarayana dan Kunze, 2009).

2.1.2.2.2 Sub Kelas *Ustilaginomycetes*

Khamir dari sub kelas *Ustilaginomycetes* dikenal dengan ciri yaitu bersepta dengan margin bertingkat. Adanya margin yang bertingkat ini mengakibatkan variasi pada tiap spesies. Dinding selnya mengandung banyak glukosa, galaktosa yang tidak bisa diprediksi, mannose dan tanpa adanya kandungan xylose. Genus *Pseudozyma* dan genus *Ustilao* adalah kelompok khamir yang tergolong dalam sub kelas ini (Satyanarayana dan Kunze, 2009).

2.1.2.2.3 Sub Kelas *Hymenomycetes*

Khamir dari sub kelas *Hymenomycetes* bersepta dengan tipe *dolipore* serta dinding selnya memiliki komposisi yang terdiri dari xylosa, mannosida dan glukosa (Satyanarayana dan Kunze, 2009). Contoh khamir yang dari golongan ini yaitu spesies *Bullera armeniaca* yang termasuk genus *Bullera*. Pada umumnya sel *B. armeniaca* memiliki bentuk *ellipsoidal* yang memiliki ukuran (5.0-10.0) μm . Koloni dari sub kelas *Hymenomycetes* secara umum memiliki tekstur seperti mentega, elevasi rata dan beberapa timbul. Koloni mengkilap oranye kemerahan (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.1.3 Habitat Khamir

Khamir memiliki kemampuan melangsungkan kehidupan dalam habitat yang berbeda-beda, yaitu pada habitat terestrial serta perairan. Habitat hidup khamir muara (estuaria), pantai atau laut dan air tawar tergolong dalam habitat perairan. Sedangkan khamir yang mampu hidup pada tanah (*soil*), jaringan tubuh hewan maupun kulit serta pada jaringan tanaman termasuk buah merupakan habitat khamir secara terestrial (Kurtzman dan Fell, 1998). Pada umumnya khamir dapat ditemukan dalam olahan atau bentuk segar bahan yang mengandung banyak glukosa seperti biji-bijian, kulit serta buah-buahan (Suryaningsih *et al.*, 2018). Menurut Komatsuzaki *et al.*, (2016) menyatakan bahwa habitat khamir terdistribusi secara luas dan tersedia dalam lingkungan alami seperti air, tanah, buah dan bunga.

2.2 Khamir dan Potensinya Sebagai Pengembang Roti

Penggunaan khamir sebagai bahan pembuatan roti dan alkohol telah digunakan dan diperkirakan sejak ribuan tahun lalu (Ma'ruf *et al.*, 2011). Khamir memainkan peran penting dalam proses fermentasi termasuk untuk mengembangkan adonan dan sebagai agen penghasil etanol. Selama proses fermentasi berlangsung ragi berperan penting dalam pembentukan karbon dioksida sebagai kebutuhan terbaik dalam meningkatkan atau mengembangkan adonan roti dan menambah aroma serta rasa yang baik (Maryam *et al.*, 2017). Ragi (Khamir) hingga saat ini telah digunakan oleh berbagai industri pembuatan roti baik dinegara maju maupun negara berkembang termasuk Indonesia, agen ragi sebagian besar diimpor dari negara Australia (Mauripan®),(Gold Pakmaya®) dari Turki, (Fermipan®) dari Kanada dan (Saf-instant®) yang banyak ditemui dari Prancis (Aysikeen *et al.*, 2013).

Kurtzman dan Piskur (2006) menyebutkan bahwa hanya kurang lebih 1% kelompok khamir yang telah dilakukan isolasi dan identifikasi dari keseluruhan khamir yang ada di dunia. Para peneliti pada saat ini telah berhasil meneliti khamir serta melakukan klasifikasi, yakni sekitar 100 genus pada kurang lebih 1500 spesies di seluruh dunia (Satyanaraya dan Kunze, 2009). Di Indonesia sendiri khamir yang telah ditemukan sekitar 42% atau rata-rata hanya sebanyak 37 genus dari keseluruhan khamir yang telah tercatat pada monograf sekitar 89 genus (Kurtzman dan Fell, 2006). Khamir mempunyai beberapa jumlah enzim yang penting dalam melaksanakan berbagai prose biologis seperti fofotase, lipase, zimase dan proteinase yang menyebabkan khamir memegang peranan penting dalam melakukan dekomposisi senyawa organik dan memiliki potensi untuk keperluan industri termasuk industri pembuatan roti (Periadnadi, 2018).

Berdasarkan penelitian sebelumnya,terdapat cukup banyak jenis khamir yang telah diisolasi dalam buah-buahan, diantaranya adalah *Candida stemalicola* pada buah Palem (Artnarong *et al.*, 2016). *Candida colicullosa* pada Nanas (Balarabe *et al.*, 2017). *Saccharomyces serevisiae* pada buah Pir Merah (Nagai *et al.*, 2018). *Meyerozyma guiliermondii* pada buah Apel dan *Candida humilis* pada buah Pare (Komatsuzaki *et al.*, 2016). pada buah Sirsak *Candida tropicalis*

(Suryaningsih *et al.*, 2018). *Kluyveromyces marxianus* pada Ketela pohon, *Saccharomyces cerevisiae* pada Shorgum dan *Phicia caribbica* pada Jagung (Ebabhi *et al.*, 2013) *Zygosacharomyces fermentati*, *Saccharomyces boulardii*, *Candida apicola* dan *Saccharomyces cerevisiae B* pada buah mangga serta pada buah pepaya berupa *Zygosacharomyces bisporus* dan *Phichia holistii* (Tsegaye, 2016).

Penelitian juga menyebutkan bahwa selain pada buah khamir yang memiliki potensi sebagai pengembang roti juga tercatat ditemukan pada kulit buah-buahan seperti *Wickerhanomyces anomalus* yang ditemukan dalam kulit khususnya jeruk manis (Martos *et al.*, 2013). *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia terricola* dan *Hanseniaspora opuntiae* pada kulit jeruk keprok (Liu *et al.*, 2015). *Saccharomyces cerevisiae* dari kulit buah pisang (Martharasi *et al.*, 2018). *Kluveromyces marxianus*, *Pichia kudriavzevii* dan *Saccharomyces cerevisiae* (Dandi *et al.*, 2012). Dan pada kulit singkong ditemukan khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Adesanya *et al.*, 2008). Penelitian mengenai isolasi keberadaan khamir dalam kulit buah banyak dilakukan karena kulit buah yang dianggap sebagai limbah dan dengan pertimbangan lebih ekonomis apabila digunakan dalam skala industri (Martharasi *et al.*, 2018).

2.2.1 Syarat Khamir yang Berpotensi sebagai Pengembang roti

Khamir sebagai bahan penting dalam pembuatan roti memiliki peran untuk membantu pengembangan adonan roti. Khamir memfermentasikan gula sehingga dapat menghasilkan karbondioksida yang kemudian digunakan untuk mengembangkan adonan. Berbagai enzim ada di dalam sel khamir yaitu protease, lipase, invertase, maltase dan zymase yang memiliki peran masing-masing dalam pembentukan adonan (Koswara, 2009).

Khamir dalam mengembangkan adonan memiliki beberapa syarat sehingga dapat dikatakan bahwa khamir memiliki kemampuan dalam industri roti, yaitu :

2.2.1.1 Mampu memfermentasi Karbohidrat

Syarat khamir yang mampu digunakan sebagai pengembang adalah mampu memfermentasikan karbohidrat. Karbohidrat sendiri merupakan unsur utama yang penting untuk kelangsungan makhluk hidup, hal ini dikarenakan

molekul pada unsur karbohidrat menyediakan sumber karbon yang kemudian akan dimanfaatkan oleh sel (Muchtadi D, 2009). Kemampuan khamir dalam fermentasi karbohidrat dapat ditandai dengan adanya perubahan warna akibat produksi asam sehingga terjadi perubahan pH dan terbentuknya gas CO₂. Pembentukan gas CO₂ merupakan syarat paling penting bagi khamir karena hal ini akan menunjukkan kualitas dalam pemilihan strain khamir yang mampu menghasilkan gas dengan kadar paling baik (Karki *et al.*, 2017).

2.2.1.2 Tidak Menghasilkan Hidrogen Sulfida (H₂S)

Syarat strain khamir yang baik adalah tidak mampu memproduksi hidrogen sulfida (H₂S). Khamir yang memproduksi hidrogen sulfida (H₂S) akan menghasilkan aroma yang tidak sedap dan kemudian akan mempengaruhi rasa serta kualitas roti (Karki *et al.*, 2017). Hidrogen sulfida (H₂S) adalah senyawa yang tidak diinginkan terkait dengan aroma dan rasa sehingga keberadaannya diharapkan tidak ada dalam pengolahan roti. Khamir yang memproduksi hidrogen sulfida (H₂S) dalam jumlah yang tinggi tidak termasuk dalam kriteria khamir yang mampu digunakan sebagai pengembang roti (Maryam *et al.*, 2017).

2.2.1.3 Toleransi Alkohol

Alkohol dengan konsentrasi tinggi telah tercatat dapat menjadi racun bagi khamir dan menghambat pertumbuhan sel karena dapat menghancurkan membran sel (Maryam *et al.*, 2017). Keberadaan alkohol terbentuk akibat adanya proses fermentasi dari khamir sendiri dalam memanfaatkan gula. Jumlah alkohol yang dikeluarkan tergantung pada proses fermentasi yang terjadi, semakin besar kemampuan khamir bertahan hidup dalam kondisi alkohol yang tinggi menunjukkan bahwa semakin toleran atau semakin besar kemampuan khamir dalam hidup pada kondisi tercekam termasuk kondisi tingginya kadar alkohol. Alkohol dengan kadar yang terlalu tinggi dapat merusak DNA mitokondria dan mengakibatkan inaktivasi enzim. Tingginya konsentrasi alkohol akan menghancurkan membran sel dan mengakibatkan kematian pada khamir (Karki *et al.*, 2017).

2.2.1.4 Toleransi Suhu

Khamir pada umumnya mampu tumbuh pada suhu ruang atau dalam kisaran 26 °C – 37 °C. Namun dalam daftar karakter khamir, terdapat khamir dengan kemampuan berkembang baik dalam suhu yang relatif tinggi. Kemampuan sel khamir dalam mentolerir suhu tinggi akan menunjukkan bahwa strain khamir dapat tumbuh pada keadaan suhu yang lebih tinggi yang berkaitan dengan proses fermentasi. Khamir yang mampu tumbuh dalam kondisi suhu lebih dari 37 °C menunjukkan kemampuannya dalam bertahan hidup pada proses fermentasi yang terjadi dalam berbagai kondisi suhu termasuk kondisi suhu yang lebih tinggi (Maryam *et al.*, 2017).

2.2.1.5 Pembentukan Flokulasi

Flokulasi dapat diartikan sebagai kemampuan khamir dalam memisahkan diri dari media tanpa filtrasi tambahan dan proses pengulangan sentrifugasi sehingga berpotensi untuk diproduksi dalam skala industri (Karki *et al.*, 2017). Kemampuan sel dalam membentuk flokulan disebabkan oleh adanya adhesi sel. Kemampuan flokulasi spesies khamir menunjukkan tingginya kepadatan sel khamir dan besarnya volume sel yang nantinya mampu meningkatkan dan memaksimalkan proses fermentasi (Maryam *et al.*, 2017).

2.2.2 Mekanisme Pengembangan Roti

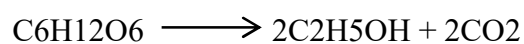
Khamir dalam proses mengembangkan adonan roti bekerja dengan cara memanfaatkan gula dari tepung sehingga kemudian menghasilkan etil alkohol dan karbondioksida (CO₂). Gas CO₂ yang terbentuk akan ditahan oleh gluten sehingga akan terbentuk adonan yang mengembang (Shabrina, 2017). Menurut Pomerandz dan Shellenberge (1971) menyatakan bahwa bahan utama yang digunakan pada proses pembuatan roti adalah tepung terigu, khamir (ragi), garam dan air. Dalam beberapa proses terdapat bahan tambahan yang berfungsi dalam menambah nilai gizi dan cita rasa. Tepung dalam pembuatan roti mengandung banyak gluten yang nantinya berkaitan dengan pengembangan adonan. Gluten memiliki komponen utama yaitu gliadin (monomer) dan glutenin (agregat). Gliadin adalah utas tunggal rantai polipeptida yang memiliki berat molekul 28,00-55,00, memiliki daya elastisitas dan kohesif yang rendah, berperan besar dalam viskositas ekstensibilitas

adonan (Weiser, 2006). Sedangkan glutenin adalah kupulan beberapa rantai polipeptida tunggal yang ditahan bersama-sama dengan ikatan intrapolipeptida dan disulfida inter, memiliki berat molekul berkisar 500,000 sampai lebih dari 10 juta, memiliki sifat elastisitas dan daya kohesif yang tinggi, berperan dalam elastisitas dan kekuatan adonan (Weiser, 2006).



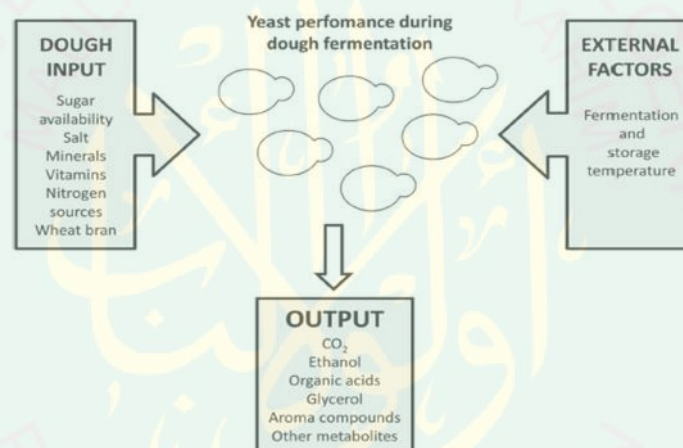
Gambar 2. 1 Interaksi antara glutein dan gliadin dalam pembentukan gluten (Laztity, 2000)

Proses pengembangan roti tidak lepas dari adanya fermentasi karbohidrat yang menghasilkan gas CO₂ dan alkohol. Alkohol yang terbentuk dari proses fermentasi akan memberikan rasa khas pada roti. Sedangkan gas CO₂ akan mengalami proses penguapan selama pembakaran dan memberi ruang pada roti sehingga terlihat mengembang (Shabrina, 2017). Sel-sel khamir yang memanfaatkan gula dalam melakukan fermentasi sehingga menghasilkan karbon dioksida dan alkohol yang bertanggung jawab dalam mengembangkan adonan (Struyf *et al.*, 2017). Selama proses fermentasi karbohidrat khamir dapat mengubah 95% glukosa dalam tepung menjadi alkohol dan karbondioksida (CO₂), sedangkan 5% sisanya digunakan dalam fermentasi sekunder dan dapat mengakibatkan kadar alkohol menjadi lebih tinggi, membentuk asam lemak rantai pendek dan senyawa karbonil (Cho dan Devin, 2010). Secara kimia proses fermentasi karbohidrat terjadi sebagai berikut:



Proses kimia fermentasi karbohidrat (Salsabila *et al.*, 2013)

Selama proses pengembangan adonan oleh khamir terdapat faktor-faktor penting yang harus terpenuhi. Menurut Struyf *et al.*, (2017) faktor dalam proses pengembangan adonan roti dibagi menjadi tiga, yaitu faktor dalam yang merupakan faktor terpenting dalam mengembangkan adonan karena akan digunakan oleh khamir sebagai substrat. Kedua adalah faktor luar yang merupakan komponen yang dihasilkan oleh khamir selama proses fermentasi dan yang terakhir adalah faktor eksternal yang merupakan kondisi yang diperlukan khamir selama proses fermentasi. Faktor tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2. 2 Faktor-faktor yang dibutuhkan dan dihasilkan khamir selama fermentasi (Struyf *et al.*, 2017).

2.3 Jeruk Manis (*Citrus sinensi* L.)

Jeruk manis umumnya juga banyak digunakan sebagai jeruk peras. Steenis (1992) menyatakan bahwa kedudukan taksonomi jeruk manis adalah sebagai berikut:

- Kerajaan : Plantae
- Devisi : Spermatophyta
- Sub Devisi : Angiospemae
- Kelas : Dicotyledone
- Bangsa : Rutales

Famili : Rutaceae
Marga : Citrus
Jenis : *Citrus sinensis* L.

Tanaman jeruk merupakan tanaman buah yang tumbuh sepanjang tahun dan berhabitat asli di Benua Asia. Sejarah pertama kali tanaman jeruk dipercaya berasal dari Negara Cina. Sudah sejak ratusan tahun lalu, jeruk mengalami pertumbuhan baik dibudidayakan maupun tumbuh secara alami di Indonesia. Tanaman jeruk yang sejak kini berada di negara Indonesia berasal dari Belanda berdasarkan penjajahan yang telah terjadi yang diperkirakan telah mengkontribusikan jeruk termasuk kultivar keprok dan manis dari negara maju seperti Italia dan Amerika (Tobing *et al.*, 2013). Jeruk dikenal menjadi salah satu komoditas bidang perkebuan yang memiliki fungsi dalam memenuhi kebutuhan gizi, media bercocok tanam sehingga diperoleh penghasilan, dan sumber penambah devisa negara melalui proses impor buah. Tingginya tingkat permintaan jeruk menjadikan pertambahan pendapatan dan menciptakan peluang perkembangan agroindustri jeruk. Pada dasarnya terdapat syarat mutlak yang harus dipenuhi bagi konsumen peminat buah jeruk yaitu jeruk haruslah memiliki produktivitas, mutu dan varietas yang dapat dikatakan unggul (Karsinah, 2002).

Jeruk adalah jenis flora yang mampu hidup secara optimal pada wilayah dengan suhu sedang sampai dingin namun mampu tumbuh pada daerah subtropis. Jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) mampu menyesuaikan pertumbuhan secara baik pada daerah dengan iklim tropis atau diketinggian 900-1200 meter di atas permukaan laut yang didukung oleh cuaca yang hangat, dan membutuhkan kadar air tertentu. Komposisi buah jeruk terdiri dari berbagai zat, seperti air sekitar 70-92% (bergantung pada keadaan), gula 80-95%, asam amino, mineral, vitamin, asam amino, zat pigmen warna, dan lain-lain (Murtando *et al.*, 2016). Menurut Maryam *et al.*, (2017) menyatakan bahwa jus buah jeruk adalah salah satu olahan dari daging buah jeruk yang bersifat asam atau memiliki pH 3 hingga 4 dan memiliki kadar gula tinggi. Karena kondisi tersebut bakteri acidolactic, jamur dan ragi dapat tumbuh dalam jus jeruk.

Kandungan zat gizi dalam buah jeruk manis sangat beragam, salah satu kandungan yang mempengaruhi adanya asosiasi khamir dalam jeruk manis adalah kandungan karbohidrat dan glukosa, kandungan gizi buah jeruk manis dijelaskan dalam tabel. 1 berikut:

Tabel 2. 1 Kandungan zat gizi dalam buah jeruk manis (Depkes RI, 1996)

Komponen	Jumlah
Kalori (Kal)	44,0
Protein (g)	0,8
Lemak (g)	0,2
Karbohidrat (g)	11,0
Kalsium (mg)	19,0
Fosfor (mg)	16,0
Vitamin A (SI)	190,0
Vitamin B1 (mg)	0,08
Vitamin C (mg)	49,0
Air (g)	87,5

Buah-buahan segar termasuk jeruk manis mengandung konsentrasi gula/glukosa yang tinggi dan karena hal ini secara alami khamir dapat diisolasi dengan mudah dari buah-buahan. Perbedaan lingkungan pertumbuhan buah akan menghasilkan jenis khamir yang berbeda. Berkaitan karakter khamir dalam melakukan proses fermentasi (Nasreen *et al.*, 2014). Selain dalam buah keberadaan khamir juga tercatat dalam kulit buah. Kulit buah jeruk manis memiliki asosiasi dengan khamir yang dikuatkan oleh tingginya kadar glukosa yang berkisar antara 30-45% sebagai sumber karbon dan kandungan pektin yang tinggi sebagai sumber energi dalam pertumbuhan khamir (Martos *et al.*, 2013).

BAB III

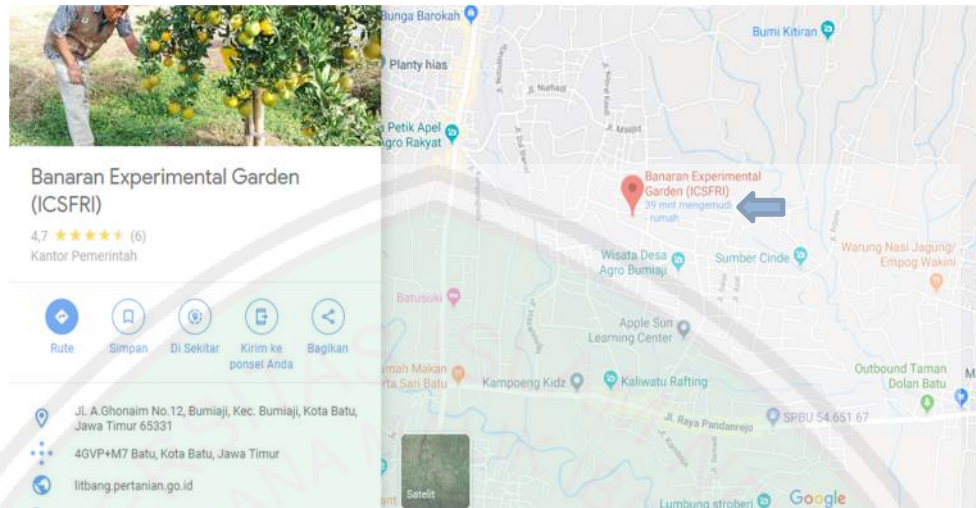
METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi ekperimental dengan rancangan penelitian deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Data yang diperoleh ditampilkan secara deskriptif yang meliputi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis khamir yang didapatkan, uji kemampuan fermentasi biokimia karbohidrat, uji flokulasi serta uji potensi sebagai pengembang roti. Sampel penelitian yang digunakan berupa khamir hasil isolasi dari buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) di kebun jeruk Balijestro, Desa Beji, Kecamatan Junrejo, Batu. Posisi dimana sampel buah diambil dilakukan secara *sample random sampling*, atau dalam kata lain setiap anggota populasi berkesempatan menjadi sampel penelitian atau biasa disebut dengan pengambilan sampel acak.

3.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Desember 2019 sampai dengan Agustus 2020. Pengambilan sampel buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) dilakukan di kebun jeruk Balijestro Banaran, Bumiaji, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu (Gambar 3.1). Proses isolasi, identifikasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Optik. Perhitungan nilai OD (*Optical density*) menggunakan Spektrofotometer dalam uji toleransi alkohol dan toleransi suhu dilakukan di laboratorium Genetika Molekuler. Serta pengamatan karakter fisiologi khamir secara biokimia dan pengujian pengembangan isolat sebagai pengembang roti dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Universitas Islam negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.



Gambar 3. 1 Lokasi pengambilan sampel jeruk manis di Banaran Kecamatan Bumiaji Kota Batu (<https://www.google.com/maps/>).

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung durham, cawan petri, timbangan analitik, stirer, *laminar air flow* (LAF), lemari es, gelas ukur, *cover glass*, *deck glass*, tabung reaksi, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, bunsen, kaca erlenmeyer, pinset, *hotplate*, tabung *ependorf* 50 ml, *autoklaf*, botol flakon, *beaker glass*, spreader, pipet ukur, *spoon*, kamera, Mikroskop, inkubator, ose, *vortex*, *tube* dan *centrifuge*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.), media *Yeast Medium* (YM), *Glucose Yeast Peptone* (GYP), *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA), *Sodium DL-Lactate*, *Yeast Malt Extract Agar Broth* (YMB), aluminium foil, aquadest, wrap, alkohol, tisu, wrap, kertas label, plastik, media pengembangan adonan roti (tepung, gula, garam, margarin dan air) serta *Fermipan* (Ragi komersil).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media

3.4.1.1 *Yeast Malt Extract Agar (YMEA)*

Cara pembuatan media YMEA berdasarkan panduan karya Kutzman dan Fell tahun 1998. Untuk membuat 1 L stok media dibutuhkan 5 gram pepton, 10 gram glukosa, 20 *microbial agar*, 3 gram *yeast extract*, 3 gram *malt extract* dan 1000 ml aquades. Semua bahan media yang telah disiapkan dicampurkan pada kaca erlenmeyer dan dibuat penutup mulut tabung dengan *aluminium foil*. Media yang telah dibuat dihomogenkan diatas *hotplate* dengan *magnetik stirer* pada pemanasan rendah. Setelah terlihat media homogen kemudian disterilisasi media pada autoklaf bersuhu 121°C. Kemudian ditambahkan *Sodium DL-Lactate* yang berguna sebagai antibakteri sebanyak 120 µl, penambahan antibakteri ini dilakukan ketika media bersuhu kurang lebih 50°C serta media telah disterilisasi (*Biomedical Engineering*, 2015). Media kembali dihomogenkan dengan cara dikocok secara perlahan dan media apabila telah dirasa suhu sesuai dilakukan *plating* media dalam cawan petri kurang lebih 20 ml, dan dibiarkan sampai media mengeras.

3.4.1.2 *Yeast Malt Extract Agar Broth (YMB)*

Cara pembuatan media YMB berdasarkan panduan Kutzman dan Fell tahun 1998. Untuk membuat 1000 ml larutan stok media YMB dibutuhkan bahan berupa 5 gram peptone, 3 gram *malt extract*, 10 gram glukosa, 3 gram *yeast extract* dan 1000 ml aquades. Semua bahan lengkap, kemudian dilarutkan seluruh bahan media dalam kaca erlenmeyer dan dibuat tutup dari *aluminium foil*. Media kemudian diaduk rata diatas *hotplate* yang dilengkapi dengan *magnetik stirer* pada pemanasan rendah. Setelah terlihat media tercampur merata kemudian media disterilisasi dalam autoklaf yang bersuhu 121°C. Media yang dirasa telah steril ditambahkan sebanyak 120 µl anti bakteri berupa *Sodium DL-Lactate* ketika kira-kira ketika media bersuhu 50°C (*Biomedical Engineering*, 2015). Media kembali dihomogenkan pada tabung dengan cara di putar-putar perlahan.

3.4.1.3 Media *Glucose Yeast Peptone* (GYP) 50%

Media *Glucose Yeast Peptone* (GYP) dibuat berdasarkan panduan buku Kurtzman dan Fell 1998. Pembuatan 1000 ml media GYP dilakukan dengan mencampurkan 50 gram glukosa, 5 gram *yeast extract* dan 5 gram peptone pada 1000 ml aquades. Apabila semua bahan telah masuk dalam erlenmeyer, disterilisasi media dengan menggunakan *autoklaf*. Setelah proses sterilisasi, dilakukan penuangan media 5 ml pada tabung reaksi steril di *Laminar Air Flow (LAF)*.

3.4.1.4 Media Fermentasi Karbohidrat

Pembuatan media fermentasi karbohidrat melalui beberapa tahapan sehingga dapat digunakan sebagai media uji. Dilakukan pembuatan media *carbohydrate solution* dan *Andrede's Indicator* sebelum dilakukan fermentasi karbohidrat.

3.4.1.4.1 Media *Carbohydrate Solution*

Pembuatan media *carbohydrate solution* dilakukan dengan melarutkan 10 gram jenis gula uji (glukosa, sukrosa, fruktosa dan laktosa) kedalam 100 ml aquades. Masing-masing gula uji (glukosa, sukrosa, fruktosa dan laktosa) ditimbang sebanyak 10 gram kemudian dimasukkan kedalam *erlenmeyer* 100 ml yang berbeda sesuai dengan jenis gula dan ditambahkan masing-masing *erlenmeyer* dengan 100 ml aquades, sehingga diperoleh larutan stok masing-masing jenis gula uji sebanyak 100 ml. Setelah dihomogenkan media *carbohydrate solution* disterilisasi menggunakan autoklaf sterilisasi.

3.4.1.4.2 Media *Andrede's Indicator*

Pembuatan media *Andrede's Indicator* dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram *Acid Fuchsin* dan 16 ml NaOH (1N Solution) kedalam 100 ml aquades steril. Seluruh bahan dihomogenkan dan disterilisasi menggunakan autoklaf steril. Penggunaan media *Andrede's Indicator* adalah untuk memberi warna pada media sehingga dapat dijadikan sebagai indikator terjadinya perubahan pH. Menurut Giri & Kindo (2015) media *Andrede's Indicator* dapat digunakan sebagai indikator

perubahan pH yaitu dengan perubahan warna merah pada media fermentasi menjadi merah muda.

3.4.1.4.3 Media Uji Fermentasi Karbohidrat

Menurut Atlas (2005) komposisi pembuatan media uji fermentasi karbohidrat meliputi 10 gram pepton, 3 gram *meat extract*, 0,5 ml *carbohydrate solution* (glukosa, fruktosa, sukrosa dan laktosa) dan 10 ml *Andrede's Indicator* dengan keadaan pH 7 dalam 990 ml aquades. Kemudian seluruh bahan dimasukkan ke dalam tabung *erlenmeyer* 1000 ml dan disterilisasi pada autoklaf steril. Sehingga media fermentasi karbohidrat siap digunakan sebagai media uji. Media uji fermentasi karbohidrat kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah dilengkapi dengan tabung Durham sebanyak 9 ml.

3.4.1.5 Media Lead Acetate

Pembuatan media uji H₂S menggunakan *Lead acetate* mengacu pada Karki *et al.*, (2016) dengan melarutkan 40 gram glukosa, 5 gram *yeast extract*, 3 gram pepton, 0,2 gram ammonium sulfat, 1 gram *lead acetate*, 20 gram agar kedalam 1000 ml aquades. Dihomogenkan semua bahan kemudian dilakukan sterilisasi media pada autoklaf steril. Media yang telah steril kemudian dituangkan dalam tabung reaksi sebanyak 8 ml, ditunggu hingga mengeras sehingga dapat digunakan untuk uji H₂S (hidrogen sulfida).

3.4.2 Isolasi Khamir

Isolasi khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis dilakukan dengan mencuci bersih buah jeruk dan dibersihkan pada bagian kulit jeruk menggunakan alkohol 70% kemudian dikeringkan menggunakan tisu. Proses isolasi dilakukan secara aseptis didalam LAF (*Laminary Air Flow*). Tahap awal isolasi dilakukan dengan memotong buah jeruk manis menggunakan pisau steril, dipotong daging buah jeruk manis 3x3 cm dan dipisahkan dari bagian kulit buah. Khamir yang memiliki asosiasi pada buah jeruk diisolasi dengan cara melakukan perendaman daging dan kulit buah yang telah dipotong pada media cair yaitu *Yeast Malt Extract Broth* (YMB) yang ditambahkan *Sodium DL-Lactate* sebagai antibakteri (Watanabe *et al.*, 2016). Perendaman dilakukan dalam tabung *ependorf* 50 ml

dengan mengisi penuh tabung endorff dengan sampel buah dan dituangkan media cair YMB sampai terisi penuh, dilakukan inkubasi sampel selama kurang lebih 3 hari pada suhu ruangan atau apabila terjadi pembentukan gelembung-gelembung berisi udara. Adanya gelembung menandakan telah terjadi fermentasi pada media (Kurtzman dan Fell, 1998), dari hal tersebut mampu dijadikan acuan pertumbuhan dan perkembangan khamir.

Khamir yang diindikasikan telah tumbuh pada media YMB kemudian dilakukan pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel dimasukkan dalam 9 ml aquades steril, dilakukan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . Kemudian diinokulasikan hasil pengenceran 10^{-3} secara *spread plate* pada media *Yeast Medium Extract Agar* (YMEA) yang ditambahkan *Sodium DL-Lactate* sebagai antibakteri (Watanabe *et al.*, 2016). Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu ruang (27°C) selama 48 jam (Suryaningsih *et al.*, 2018).

3.4.3 Purifikasi

Purifikasi khamir dibuat dengan dipilih keberadaan koloni yang terlihat berbeda dengan koloni yang lain dari karakter morfologi dan pertumbuhan koloni pada media (Widiastutik dan Nur, 2014). Diinokulasikan koloni khamir pada media YMB sebanyak 3 ml dalam tabung reaksi dan dilakukan inkubasi selama 7 x 24 jam pada Inkubator shaker. Kemudian akan terlihat kekeruhan pada media YMB yang artinya terjadi pertumbuhan khamir. Hasil pertumbuhan dalam media YMB di *spread plate* pada media *Yeast Medium Extract Agar* (YMEA). Dilakukan subkultur kedua khamir dengan di *streak plate* pada media *Yeast Medium Extract Agar* (YMEA). Kemudian diulangi subkultur ketiga khamir dengan di *streak plate* kembali pada media *Yeast Medium Extract Agar* (YMEA) sampai diperoleh isolat murni dan apabila telah terjadi pertumbuhan koloni murni dilakukan *streak plate* pada YMEA slant atau miring (Cyriacus dan Kingsley, 2010).

3.3.4 Identifikasi Makroskopik

Pengamatan karakter khamir secara makroskopik mengacu pada buku panduan *The Yeast Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Khamir yang

telah dilakukan purifikasi kemudian dilihat karakter morfologi secara makroskopisnya pada media padat YMEA (*Yeast Malt Extract Agar*) dalam cawan petri. Kenampakan morfologi yang diamati berdasarkan pertumbuhan koloni yang terlihat pada media padat, yang termasuk dalam syarat pengamatan yaitu permukaan koloni, tepi atau margin koloni, tekstur koloni, warna koloni, dan elevasi (Zunaidah dan Alami, 2014).

3.3.5 Identifikasi Mikroskopik

Pengamatan mikroskopis mengacu pada buku panduan *The Yeast Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Identifikasi mikroskopik pada media padat dengan cara mengusap isolat menggunakan tusuk gigi steril, kemudian diletakkan pada kaca preparat steril yang telah berisi satu tetes aquades steril dan ditutup menggunakan *coverglass* steril. Pengamatan dilakukan pada perbesaran 1000x menggunakan mikroskop cahaya binokuler digital merk Nikon® E200 yang dilengkapi dengan lampu LED dan layar digital untuk memperjelas bentuk sel, serta dilengkapi dengan menu pengukuran sel, perbesar gambar dan *capture* layar digital. Kenampakan mikroskopik yang dilihat berupa karakteristik ukuran sel yang terlihat, kenampakan bentuk sel khamir (sferoid, silinder, bulat, ovoid dan oval) dan diamati alat reproduksi vegetatif seperti ada tidaknya pembentukan *budding* pada sel khamir (Zunaidah dan Alami, 2014).

3.3.6 Uji Potensi Pengembang Roti

3.3.6.1 Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan memfermentasi khamir pada beberapa media gula uji yang berbeda, yaitu glukosa, laktosa, sukrosa dan fruktosa. Menurut acuan Karki *et al.*, (2017) uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menambahkan 100 µl khamir dengan usia khamir 48 jam pada 9 ml media uji fermentasi. Diinkubasi pada suhu 27 °C selama 7 hari (Harley & Prescott, 2002).

Media fermentasi dimasukkan dalam tabung reaksi yang dilengkapi dengan tabung Durham. Reaksi positif terjadinya fermentasi ditandai dengan adanya perubahan media dari warna merah menjadi merah muda diikuti dengan

pembentukan gelembung pada tabung Durham. Perubahan warna terjadi karena proses fermentasi oleh sel khamir menghasilkan asam dan mengakibatkan penurunan pH. Sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak adanya gelembung dalam tabung Durham dan tidak berubahnya pada warna media. Pada dasarnya terbentuknya gelembung dalam tabung Durham merupakan hasil gas karbondioksida dari proses fermentasi (Harley & Prescott, 2002).

3.3.6.2 Uji Pertumbuhan pada Medium Glukosa 50%

Uji pertumbuhan terhadap kadar glukosa dilakukan dengan acuan Ali & Khan (2014) dengan diinokulasikan isolat khamir pada 5 ml dari media YPG dalam tabung reaksi dengan konsentrasi glukosa 50% (m/v) serta dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu 25 °C, kemudian dilihat kerapatan sel menggunakan Spektrofotometer *UV-vis* pada inkubasi 24 jam dan 48 jam untuk melihat pertumbuhan sel khamir. Menurut Priya *et al.*, (2016) menyatakan bahwa kerapatan sel khamir dapat dihitung menggunakan Spektrofotometer *UV-vis* dengan panjang gelombang 600 nm dan dilakukan pengecekan setiap 24 jam sekali, kemudian media pertumbuhan digunakan sebagai larutan blank. Menurut Herera *et al.*, (2009) menyebutkan tidak banyak khamir yang mampu bertahan hidup pada keadaan dengan konsentrasi gula yang tinggi, yaitu sekitar 20%-50%. Salah satu indikator kemampuan khamir yang digunakan sebagai pengembang adonan adalah mampu melewati uji ini dengan baik.

3.3.6.3 Uji Hidrogen Sulfida (H₂S)

Uji ini dilakukan dengan cara ditumbuhkan isolat khamir pada media *lead acetate* (40 gr/L glukosa, 5g/L *yeast extract*, 3 g/L pepton, 0,2 g/L ammonium sulphate, 1 g/L *lead acetate* dan 20 g/L agar) dalam tabung reaksi. Isolat khamir diambil menggunakan jarum inokulasi, diinokulasikan pada media dengan di tusukkan jarum hingga dasar media. Diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari (Karki, *et al.*, 2017). Uji ini dilakukan untuk mengamati pembentukan hidrogen sulfida, perubahan warna bagian dasar media menjadi hitam menunjukkan adanya pembentukan hidrogen sulfida (Rashid *et al.*, 2013).

3.3.6.4 Uji Toleransi Suhu

Uji ini dilakukan dengan cara ditumbuhkan isolat khamir pada media YPG agar dan diinkubasi pada suhu 25 °C, 30 °C, 37 °C dan 45 °C selama 72 jam. Menurut Nasir *et al.*, (2017) menyatakan bahwa kepadatan sel khamir dihitung sesudah dan sebelum proses inkubasi berlangsung dengan menggunakan Spektrofotometer *UV-vis* dengan panjang gelombang 660 nm, dengan cara diambil dan dimasukkan khamir di media YPG pada *cuvet* hingga batas yang ditentukan. Pengujian toleransi suhu dilakukan untuk mengetahui suhu optimal kemampuan khamir dalam melakukan pertumbuhan. Selama proses uji ini pertumbuhan diamati dan dianalisis (Karki *et al.*, 2017).

3.3.6.5 Uji Toleransi Etanol

Uji ini dilakukan dengan cara ditumbuhkan isolat khamir pada media YPG *broth* yang mengandung 3 konsentrasi etanol yang berbeda-beda, yaitu 10%, 13% dan 15%. Masing-masing diinkubasi pada suhu 30 °C selama 72 jam. Menurut Nasir *et al.*, (2017) menyatakan bahwa kepadatan sel khamir dihitung sesudah dan sebelum proses inkubasi berlangsung dengan menggunakan Spektrofotometer *UV-vis* dengan panjang gelombang 660 nm, dengan cara diambil dan dimasukkan khamir di media YPG pada *cuvet* hingga batas yang ditentukan. Pengujian toleransi etanol dilakukan untuk mengetahui kemampuan khamir tumbuh dalam kondisi fermentasi yang kaya akan etanol dan mengetahui pada konsentrasi etanol keberapakah khamir dapat tumbuh secara optimal optimal (Karki *et al.*, 2017).

3.3.6.6 Uji Flokulasi

Uji flokulasi dilakukan dengan cara diinokulasikan isolat khamir pada media YPG 10 ml dan diinkubasi dalam inkubator shaker selama 3 hari pada suhu 30°C. Isolat khamir yang telah melalui proses inkubasi disentrifugasi pada *sentrifuge* dengan kecepatan 5000 rpm kurang lebih selama 10 menit (Maryam *et al.*, 2017). Uji ini dilakukan untuk mengamati flokulasi yang terbentuk, kemampuan khamir dalam uji flokulasi ini ditandai dengan terbentuknya flokulan atau adanya dua lapisan dalam tube.

3.3.6.7 Uji Potensi Pengembang Adonan Roti

Uji potensi khamir ini dilakukan dengan menumbuhkan strain khamir pada tabung ependorf 15 ml di media YPG kemudian dimasukkan pada *shaker incubator* selama 72 jam pada suhu 30 °C. Untuk memperoleh pelet khamir yang selanjutnya digunakan dalam pengembangan adonan roti, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama kurang lebih 5 menit. Pellet atau flok yang terbenetuk pada dasar media kemudian akan digunakan sebagai pengembang adonan (Karki *et al.*, 2017).

Uji potensi untuk masing-masing strain khamir, disiapkan 50 gr tepung, 1,5 gram garam yang dicampur dengan tepung, 3 gram gula yang dilarutkan dalam air hangat sebanyak 50 ml dan 0,6 gram pelet ragi yang diperoleh dari hasil sentrifugasi, kemudian semua bahan dicampurkan serta diaduk rata (Karki *et al.*, 2017). Uji ini dilengkapi dengan uji kontrol positif dengan menggunakan ragi komersil (Fermipan®) yang nantinya akan digunakan sebagai pembanding dan kontrol negatif berupa adonan roti tanpa ditambahkan dengan khamir. Adonan dibiarkan dalam suhu 37 °C dengan interval waktu antara 1 sampai 12 jam . Diamati perkembangan adonan selama inkubasi berlangsung (Maryam *et al.*, 2017).

3.5 Teknik Analisis Data

Analisis pengolahan data hasil penelitian dijelaskan menggunakan metode deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Perolehan data hasil penelitian ditampilkan secara deskriptif kualitatif dalam bentuk gambar pengamatan. Sedangkan perolehan data kuantitatif diterangkan dalam bentuk tabel dan diagram batang, diklasifikasikan secara sistematis sehingga susunan dan urutan data dapat mempermudah untuk diinterpretasikan sesuai dengan hasil pengamatan yang ada.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Khamir yang Teridentifikasi Pada Buah Jeruk Manis Berdasarkan Karakter Morfologi

Berdasarkan hasil isolasi khamir yang dilakukan pada kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.). Diperoleh lima isolat khamir masing-masing tiga isolat dari kulit dengan kode isolat RYK-1, RYK-2 dan RSK-1 serta dua isolat dari daging buah jeruk dengan kode isolat RYB-1 dan RYB-2. Proses isolasi menggunakan dua media fermentasi awal yang berbeda-beda yaitu, media sukrosa dan YMB (*Yeast Malt Extract Borth*). Kelima isolat khamir yang diperoleh memiliki kode nama, yaitu: RYB-1, RYB-2, RYK-1, RYK-2 dan RSK-1. Isolat khamir yang berhasil ditemukan kemudian diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi isolat dengan mengacu pada buku panduan *The Yeast Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Hasil pengamatan berdasarkan karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada tabel 4.1 dan pada tabel 4.2.

Hasil pengamatan karakter morfologi makroskopis pada media padat menunjukkan seluruh isolat khamir memiliki warna koloni yang sama yaitu berwarna krem (Tabel 4.1). Dari hal ini dapat dimungkinkan isolat khamir yang ditemukan termasuk kedalam kelas *Ascomycetes*. Menurut Kurtzman & Fell (1998) menyebutkan bahwa kelas *Ascomycetes* secara umum tidak memiliki pigmen warna sehingga cenderung memiliki koloni dengan warna putih pucat dan krem. Diperkuat dengan Webster & Weber (2007) yang menyatakan khamir kelas *Ascomycetes* umumnya tidak memiliki pigmen warna yang mengakibatkan warna koloni pada khamir kelas ini cenderung putih dan krem. Sedangkan khamir kelas *Basidiomycetes* memiliki pigmen warna orange, kuning dan merah karena mengandung zat berupa karotenoid.

Tabel 4. 1 Karakter Morfologi Makroskopis Isolat Khamir

Isolat	Permukaan	Tepi	Tekstur	Warna	Elevasi	Bentuk
RYB 1	Halus	Tidak Rata	Seperti mentega	Krem	Rata	Bulat
RYB 2	Halus	Rata	Seperti mentega	Krem	Timbul	Bulat
RYK 1	Berpasir	Tidak Rata	Seperti mentega	Krem	Timbul	Tidak beraturan
RYK 2	Halus	Rata	Seperti mentega	Krem	Rata	Bulat
RSK 1	Halus	Rata	Seperti mentega	Krem	Timbul	Bulat

Berdasarkan reproduksi aseksual yang ditunjukkan dalam pengamatan, seluruh isolat khamir melakukan reproduksi aseksual dengan cara *budding* atau pertunasan (Tabel 4.2). Menurut Tortora (2007) pertunasan (*budding*) dapat bersifat monopolar (1 kutub), bipolar (2 kutub) dan multilateral (banyak kutub). Kutub yang dimaksud adalah sel anak yang terbentuk mengikuti tubuh sel induk. Selanjutnya pengamatan ukuran sel khamir berkisar dari lebar 4-6 μm dan panjang 6-8 μm (Tabel 4.2). Menurut Bhata (2016) menyatakan khamir umumnya memiliki ukuran lebar 3-4 μm dan hingga mencapai 40 μm . Hal ini diperkuat dengan pernyataan Pelczar dan Chan (2008) yang menyatakan ukuran khamir sangat beragam, secara umum lebarnya berkisar antara 1-5 μm dan panjangnya berkisar antara 5- 30 μm . Fardiaz (1992) menyebutkan sel khamir memiliki ukuran yang bervariasi, yaitu dengan panjang 1-5 μm sampai 20 μm dan lebar 1-10 μm dengan bentuk sel yang bermacam-macam yaitu bulat, oval silinder atau batang, segitiga melengkung, berbentuk botol, berbentuk apikulat atau lemon dan bahkan terdapat sel khami yang membentuk pseudomiselium.

Tabel 4. 2 Karakter Morfologi Mikroskopis Isolat Khamir

Kode isolat	Bentuk Sel	Reproduksi	Ukuran $\ell \times p$ (μm)
RYB 1	Oval	Pertunasan Monopolar	4,08 x 7,76 μm
RYB 2	Oval	Pertunasan Monopolar	4,31 x 6,41 μm
RYK 1	Lonjong	Pertunasan Monopolar	6,94 x 7,10 μm
RYK 2	Oval	Pertunasan Multilateral	5,52 x 7,36 μm
RSK 1	Oval	Pertunasan Monopolar	4,42 x 4,70 μm

Pengamatan yang dilakukan memperoleh hasil karakter dari isolat khamir berdasarkan morfologi makroskopis dan mikroskopis. Beberapa isolat menunjukkan perbedaan dalam beberapa karakter. Adanya perbedaan dari setiap isolat khamir yang telah diisolasi seperti halnya firman Allah swt. dalam Q.S Thaha ayat 53-54, sebagaimana berikut :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya “ *Dia Yang telah menjadikan bagi kamu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagi kamu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air, maka Kami tumbuhkan dengannya berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.*”

Berdasarkan redaksi Shihab (2002) dalam *Tafsit al-Misbah* dijelaskan bahwa penciptaan Allah swt. yang sempurna terhadap segala kuasa-Nya. Lafadz "الَّذِي جَعَلَ" merupakan suatu redaksi keagungan Allah swt. yang menciptakan bumi sebagai hamparan dan menurunkan dari langit air dan menumbuhkan berbagai macam serta jenis tumbuh-tumbuhan dari perantara air tersebut. Darinya berbagai jenis, bentuk, rasa, warna dan manfaat diciptakan dengan kadar yang

berbeda dan sesuai. Termasuk halnya khamir yang telah Allah swt ciptakan dengan keadaan dan karakter yang berbeda serta dengan manfaat masing-masing. Dari hal ini Allah memberikan tanda pada orang-orang yang berakal supaya mereka berfikir (Ulul Albab). Dalam Q.S Ali Imran ayat 190 telah disinggung mengenai tanda-tanda kebesaran Allah bagi orang yang berfikir (الالباب)

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ آيَاتٍ لِّأُولِ الْأَلْبَابِ

Artinya “ *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal*”

Kata (الالباب) *al-albab* adalah jamak dari (لب) dari lubb yaitu saripati sesuatu. Menurut Tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa “ benar-benar terdapat tanda kekuasaan dari orang yang berakal”. Dalam Tafsir Fi Zhilalil Qur an *ulul albab* adalah orang-orang yang memiliki pikiran dan pemahaman yang benar. Dalam Tafsir al-Misbah dijelaskan bahwa orang yang berakal adalah orang yang melakukan dua hal, yaitu *tadzakkur* yakni mengingat Allah SWT. dengan ucapan atau hati dalam kondisi saat bekerja maupun istirahat, sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring dan *tafakkur* memikirkan ciptaan Allah SWT, yakni kejadian di alam semesta dengan mengetahui, memahami menghayati bahwa fenomena alam dan segala sesuatu menunjukkan adanya sang pencipta, Allah SWT. Dari hal ini dapat diartikan bahwa manusia yang memiliki sifat *ulul albab* adalah orang-orang yang sholeh, sehingga mampu membuka pandangan untuk menerima ayat-ayat Allah swt. pada alam semesta dan tidak menutup diri terhadap kekuasaan Allah swt. Seperti halnya telah disebutkan dalam firman Allah dalam Al-Qur an surah An Nahl ayat 97 yang menjelaskan janji Allah swt.

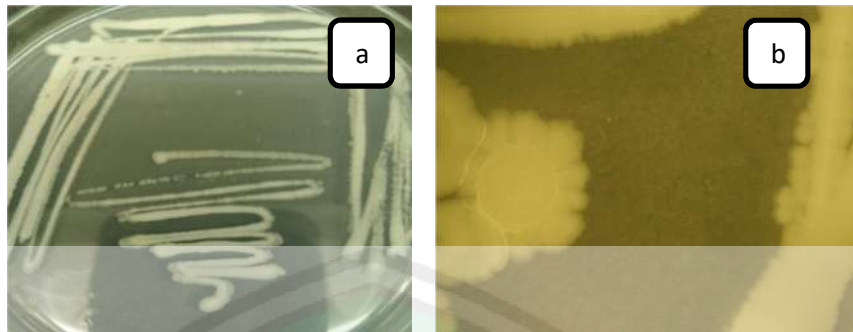
مَنْ عَمِلَ صَالِحًا مِنْ ذَكَرٍ أَوْ أُنْثَىٰ وَهُوَ مُؤْمِنٌ فَلَنُحْيِيَنَّهٗ حَيَاةً طَيِّبَةً ۖ وَلَنَجْزِيَنَّهُمْ أَجْرَهُمْ بِأَحْسَنِ مَا كَانُوا يَعْمَلُونَ

Artinya “*Barangsiapa yang mengerjakan amal saleh, baik laki-laki maupun perempuan dalam keadaan beriman, maka sesungguhnya akan Kami berikan kepadanya kehidupan yang baik dan sesungguhnya akan Kami beri balasan kepada mereka dengan pahala yang lebih baik dari apa yang telah mereka kerjakan*”

Menurut Tafsir Al-Mishbah menyebutkan siapa saja yang berbuat amal saleh di dunia baik laki-laki maupun perempuan yang didorong oleh kekuatan iman akan diberi balasan kehidupan yang baik di dunia dan memberikan balasan pahala yang lebih baik kelak di akhirat (Shihab, 2000). Untuk itu seperti halnya para ahli biologi melakukan penelitian terhadap alam semesta sesuai dengan bidangnya yang bertujuan untuk melihat kekuasaan Allah swt. dan memberi informasi pengetahuan bagi orang-orang yang mau berfikir. Dari hal ini dikaitkan dengan penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui potensi alam terutama buah jeruk manis sebagai agen khamir yang diharapkan mampu memberi manfaat.

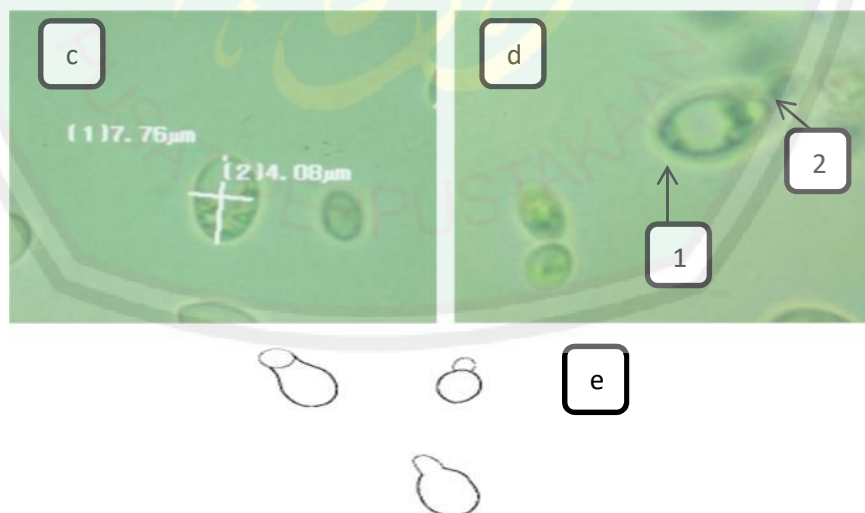
4.1.1 Isolat Khamir RYB-1

Hasil pengamatan isolat khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) berdasarkan morfologi makroskopis pada (Tabel 4.1) diperoleh isolat RYB 1 yang berasal dari daging buah jeruk, memiliki karakter makroskopis permukaan koloni yang halus dengan tepi tidak rata dan memiliki tekstur seperti mentega. Berwarna krem dengan kenampakan elevasi rata serta koloni memiliki bentuk bulat. Sedangkan karakter secara mikroskopis (Gambar 4.2) isolat khamir RYB 1 menunjukkan bentuk sel oval dengan ukuran lebar 4,08 dan panjang 7,76 μm . Reproduksi vegetatif isolat RYB 1 dilakukan dengan cara budding (Gambar 4.2 .d). Apabila dilihat dari karakter yang ditemukan kemiripan isolat RYB 1 ini termasuk dalam kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes*. Menurut Kurtzman & Fell (1998) secara umum kelas *Ascomycetes* memiliki dua subkelas yaitu, *Hemiascomycetes* dan *Euascomycetes*. Hamamoto & Nakase (2000) menyatakan subkelas *Hemiascomycetes* memiliki ciri dinding selnya terdiri atas dua lapisan serta melakukan reproduksi aseksual dengan pertunasan (*budding*).



Gambar 4. 1 a) Koloni isolat RYB 1 pada media padat, b) Koloni isolat RYB 1 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x

Kelas *Ascomycetes* secara umum tidak memiliki pigmen warna sehingga dapat dilihat pada isolat khamir RYB 1 memiliki warna putih yang cenderung dominan berwarna krem dengan reproduksi membentuk *budding*. Menurut Barr (2001) menyebutkan bahwa golongan khamir *Ascomycetes* melakukan reproduksi aseksual dengan adanya pembentukan tunas (*budding*). Dalam Subkelas *Hemiascomycetes* terdapat beberapa genus seperti genus *Saccharomyces* dan *Pichia*. Menurut Carlille *et al.*, (2001) menyatakan bahwa beberapa genus khamir *Saccharomyces* dan *Pichia* memiliki potensi sebagai agen pengembang adonan roti karena beberapa strain dari genus tersebut lebih tahan dalam kondisi yang asam dan panas.



Gambar 4. 2 c) Sel isolat RYB 1 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler, d) Pertunasan sel isolat RYB 1, d.1) sel induk khamir, d.2) sel anak khamir, e) Petunasan monopolar (Yarrow, 1984).

4.1.2 Isolat Khamir RYB-2

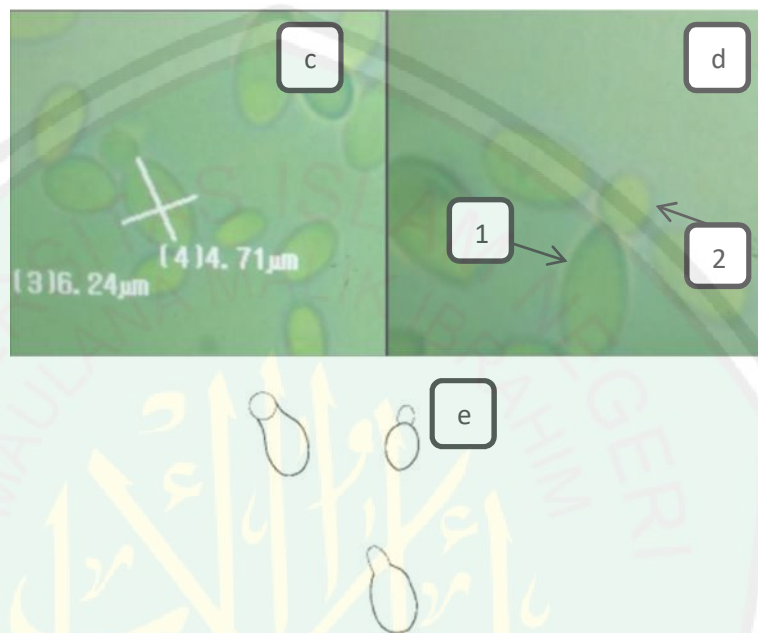
Hasil pengamatan isolat khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) isolat RYB 2 berdasarkan morfologi makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada gambar 4.3 dan gambar 4.4. Karakter yang dimiliki isolat RYB 2 menunjukkan ciri makroskopis (Gambar 4.3. a) memiliki permukaan yang halus dengan tepi yang rata, bertekstur seperti mentega, berwarna krem dengan kenampakan elevasi yang terlihat timbul serta bentuk koloni isolat yang bulat. Sedangkan karakter secara mikroskopis (Gambar 4.4) menunjukkan bentuk sel dari isolat RYB 2 adalah oval dengan ukuran lebar 4,31 dan panjang 6,41 μm serta reproduksi vegetatif isolat RYB 2 dilakukan dengan cara budding (Gambar 4.4 .d). berdasarkan kemiripan karakter makroskopis dan mikroskopis yang dimiliki isolat RYB 2 termasuk dalam kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes*.



Gambar 4. 3 a) Koloni isolat RYB 2 pada media padat, b) Koloni isolat RYB 2 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x

Khamir yang termasuk kedalam subkelas *Hemiascomycetes* pada umumnya tidak memiliki pigmen warna, karena tergolong khamir dalam kelas *Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna dan reproduksi vegetatif dengan pembentukan *budding*. Hal ini ditunjukkan oleh isolat khamir RYB 2 yang memiliki warna yang cenderung krem dan reproduksi aseksualnya terlihat membentuk pertunasan monopolar (Gambar 4.4 d). Hamamoto & Nakase (2000) menyatakan subkelas *Hemiascomycetes* memiliki ciri dinding selnya terdiri atas dua lapisan serta melakukan reproduksi aseksual dengan pertunasan (*budding*). Menurut Jacques dan Casaregola (2016) Khamir dalam sub kelas *Hemiascomycetes* merupakan

khamir yang sering dikaitkan dengan industri pengolahan makanan. Khamir dalam sub kelas *Hemiascomycetes* pada umumnya menghasilkan zat kimia khusus yang memainkan peran penting memberikan aroma dan mempengaruhi tekstur pada produk pangan termasuk dalam pembuatan roti dan keju.

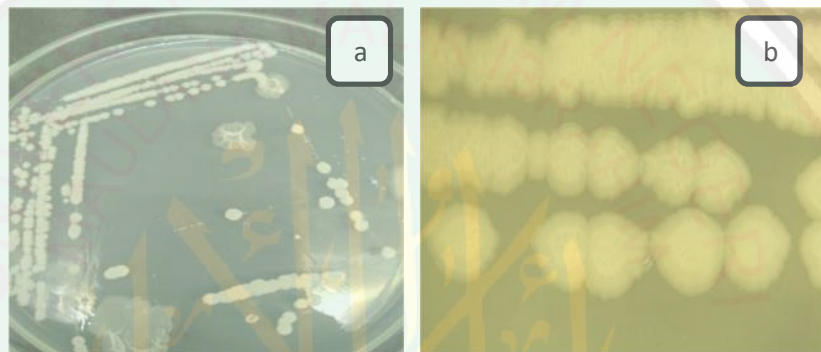


Gambar 4. 4 c) Sel isolat RYB 2 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler, d) Pertunasan sel isolat RYB 2, d.1) sel induk khamir, d.2) sel anak khamir, e) Petunasan monopolar (Yarrow, 1984)

4.1.3 Isolat Khamir RYK-1

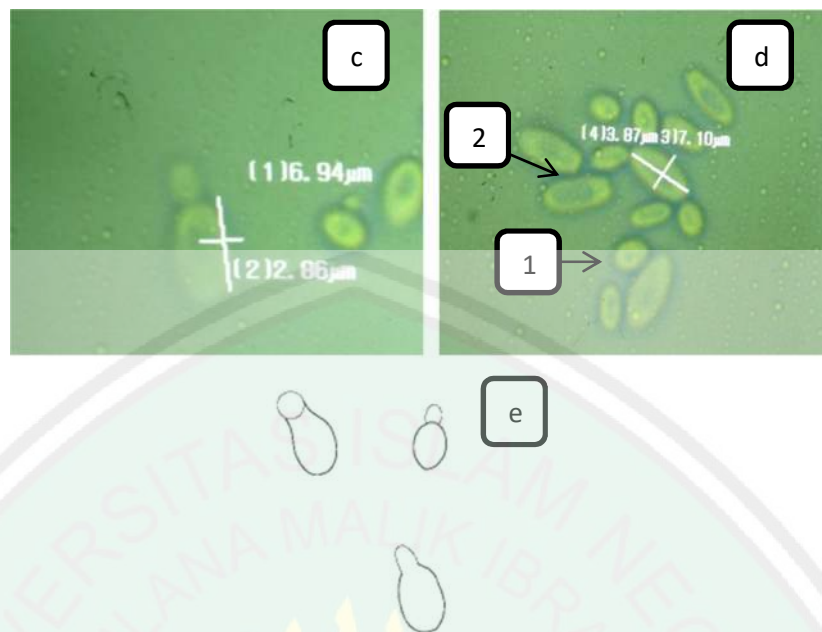
Berdasarkan pengamatan isolat khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) isolat RYK 1 memiliki ciri morfologi makroskopis dan mikroskopis yang dapat dilihat pada gambar 4.5 dan gambar 4.6. Karakter yang dimiliki isolat RYK 1 menunjukkan morfologi makroskopis (Gambar 4.5. a) memiliki permukaan yang berpasir dengan tepi tidak rata, bertekstur seperti mentega, berwarna krem dengan kenampakan elevasi yang terlihat timbul serta bentuk koloni isolat yang bulat. Sedangkan karakter secara mikroskopis (Gambar 4.6. c) menunjukkan bentuk sel dari isolat RYK 1 adalah lonjong dengan ukuran lebar 6,94 dan panjang 7,10 μm dan reproduksi vegetatif isolat RYK 1 dilakukan dengan cara budding (Gambar 4. 6.d). Berdasarkan kemiripan karakter makroskopis dan mikroskopis yang dimiliki isolat RYK 1 termasuk dalam kelas

Ascomycetes subkelas *Hemiascomycetes*. Ditandai dengan koloni isolat yang tidak berwarna sebagaimana ciri kelas *Ascomycetes* dan terlihat pembentukan tunas monopolar pada sel khamir (Gambar 4.6 c) sebagai ciri khas dari khamir subkelas *Hemiascomycetes*. Menurut Webster & Weber (2007) khamir kelas *Ascomycetes* umumnya tidak memiliki pigmen warna yang mengakibatkan warna koloni pada khamir kelas ini cenderung putih dan krem. Sedangkan khamir kelas *Basidiomycetes* memiliki pigmen warna orange, kuning dan merah karena mengandung zat berupa karotenoid.



Gambar 4. 5 a) Koloni isolat RYK 1 pada media padat, b) Koloni isolat RYK 1 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x

Khamir kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes* yang banyak diketahui sebagai agen penelitian. Menurut Kurtzman & Fell (1998) menyatakan bahwa secara umum memiliki kelas *Ascomycetes* bentuk sel yang bulat, elipsoidal, silindris atau bahkan memanjang. Reproduksi dengan pertunasan (*budding*). El helow *et al.*, (2015) menyebutkan bahwa banyak strain khamir yang termasuk subkelas *Hemiascomycetes* yaitu genus *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* dan *Rhodotorula* yang dimanfaatkan dalam bidang industri karena kemampuannya dalam tumbuh dalam medium atau bahan baku yang murah. Selain itu genus tersebut juga dikenal dengan tingkat pertumbuhan yang cepat, kandungan proteinnya tinggi, memiliki stabilitas genetik yang baik dan memiliki nilai gizi yang baik. Namun beberapa genus tersebut memiliki kekurangan yaitu terkadang bersifat patogen.

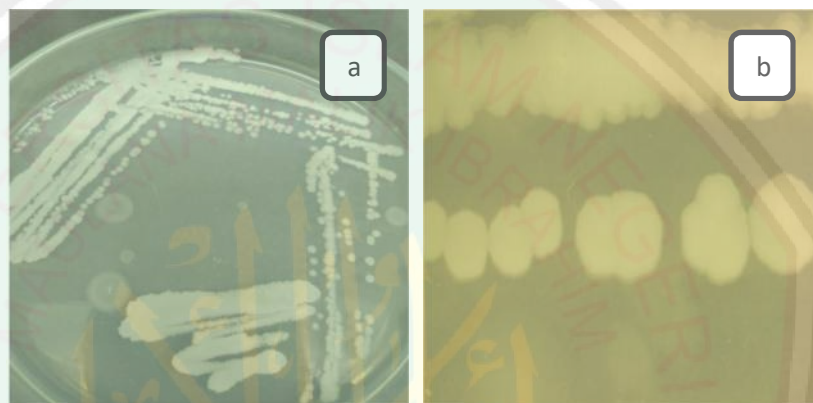


Gambar 4. 6 c) Sel isolat RYK 1 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler, d) Pertunasan sel isolat RYK 1, d.1) sel induk khamir, d.2) sel anak khamir, e) Petunasan monopolar (Yarrow, 1984).

4.1.4 Isolat Khamir RYK-2

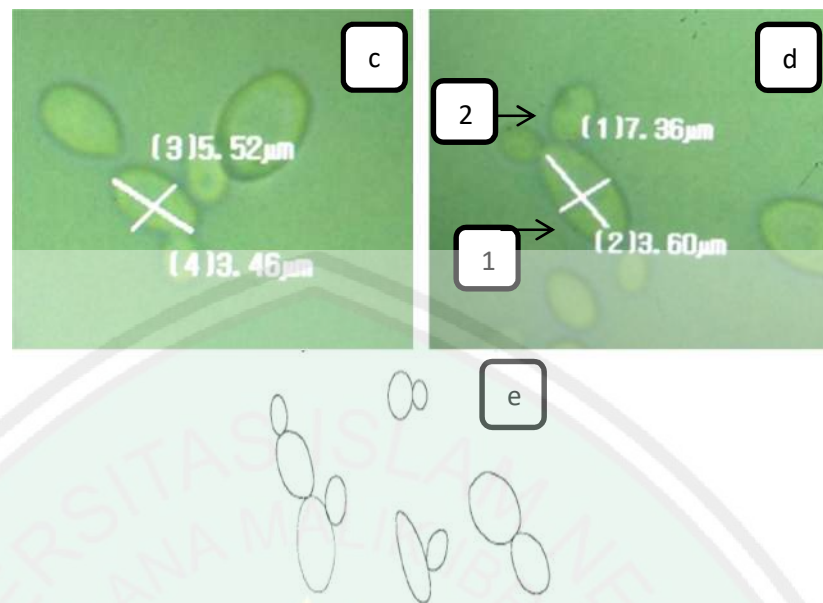
Hasil pengamatan isolat khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) isolat RYK 2 berdasarkan morfologi makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada gambar 4.7 dan gambar 4.8. Karakter yang dimiliki isolat RYK 2 menunjukkan ciri makroskopis (Gambar 4.7. a) memiliki permukaan yang halus dengan tepi yang rata, bertekstur seperti mentega, berwarna krem dengan kenampakan elevasi yang terlihat datar serta bentuk koloni isolat yang bulat. Menurut Fell *et al.*, (1998) kelas *Ascomycetes* adalah salah satu kelas yang tidak mempunyai zat warna atau pigmen warna sehingga pada umumnya koloni kelas ini berwarna putih atau krem. Sedangkan karakter secara mikroskopis (Gambar 4.8. c) menunjukkan bentuk sel dari isolat RYK 2 adalah oval cenderung bulat dengan ukuran lebar 5,52 dan panjang 7,36 μm serta reproduksi vegetatif isolat RYK 2 dilakukan dengan cara pertunasan multilateral (Gambar 4.8.d) yang memiliki kemiripan dengan pertunasan genus *Saccharomyces*, menurut Tortora (2007) pertunasan multilateral adalah pertunasan sel khamir yang memiliki banyak kutub (sel anak) yang secara umum dimiliki oleh khamir *Saccharomyces*. Berdasarkan kemiripan karakter

makroskopis dan mikroskopis yang dimiliki, isolat RYK 2 termasuk dalam kelas *Ascomycetes* sub kelas *Hemiacomycetes*, menurut Kurtzman & Fell (1998) sub kelas *Hemiacomycetes* memiliki ciri spesifik yaitu, koloni yang berwarna krem dengan permukaan yang tidak mengkilat, bentuk selnya bulat memanjang dengan ukuran lebar mulai dari 3.0 dan panjang 8.0 μm . Permukaan khamir dari sub kelas ini terlihat rata secara umum. Genus *Saccharomyces* termasuk dalam sub kelas *Hemiacomycetes*.



Gambar 4. 7 a) Koloni isolat RYK 2 pada media padat, b) Koloni isolat RYK 2 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x

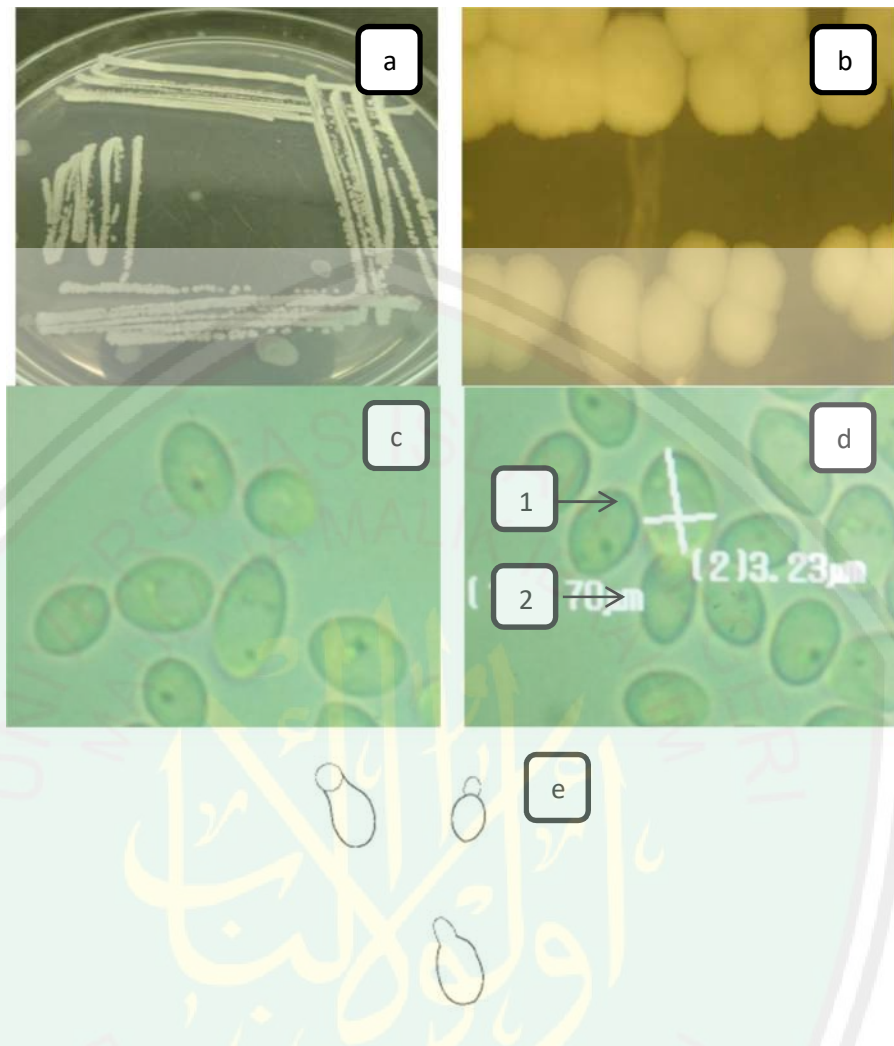
Genus khamir *Saccharomyces* merupakan salah satu genus dari kelas *Ascomycetes* yang masuk dalam subkelas *Hemiacomycetes* yang memiliki salah satu ciri yaitu melakukan reproduksi aseksual dengan pembentukan pertunasan multilateral. Kurtzman & Fell (1998) menyebutkan salah satu subkelas *Hemiacomycetes* yang termasuk dalam genus *Saccharomyces* merupakan genus yang secara umum bereproduksi vegetatif dengan pertunasan (*budding*) multilateral dengan karakter mampu memfermentasi gula dengan baik dibandingkan dengan banyak genus khamir lainnya. Menurut El-helow *et al.*, (2015) menyatakan bahwa penelitian telah menetapkan khamir genus *Saccharomyces* adalah genus utama yang bertanggung jawab sebagai agen fermentasi. Secara umum *Saccharomyces* paling banyak digunakan secara komersil sebagai ragi pembuat roti karena memiliki susunan sel hampir sempurna untuk skala industri.



Gambar 4. 8 c) Sel isolat RYK 2 perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya binokuler, d) Pertunasan multilateral sel isolat RYK 2, d.1) sel induk khamir, d.2) sel anak khamir, e) Petunasan multilateral (Yarrow, 1984).

4.1.5 Isolat Khamir RSK-1

Hasil identifikasi terakhir isolat khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) berdasarkan morfologi makroskopis pada (tabel 4.1) diperoleh isolat RSK 1 dengan karakter makroskopis permukaan koloni isolat yang halus dengan tepi rata dan memiliki tekstur seperti mentega. Berwarna krem dengan kenampakan elevasi timbul serta koloni memiliki bentuk sirkular. Sedangkan karakter secara mikroskopis (Gambar 4.9 .c) isolat khamir RSK 1 menunjukkan bentuk sel oval dengan ukuran lebar 4,42 dan panjang 4,70 μm . Reproduksi vegetatif isolat RSK 1 dilakukan dengan cara budding (Gambar 4.9.d). Apabila dilihat dari karakter yang ditemukan kemiripan isolat RSK 1 ini termasuk dalam kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiacomycetes*. Hal ini ditandai dengan adanya pembentukan pertunasan monopolar sebagai agen reproduksi aseksual (Gambar 4.9 d). Hamamoto dan Nakase (2000) subkelas *Hemiacomycetes* melakukan reproduksi aseksual dengan cara pembentukan tunas (*budding*). Diperkuat oleh pernyataan Tortora (2007) pertunasan monopolar adalah pertunasan sel khamir yang memiliki satu kutub (sel anak).



Gambar 4. 9 a) Koloni isolat RSK 1 pada media padat dicawan petri, b) Koloni isolat perbesaran RSK 1 pada pengamatan menggunakan mikroskop stereo perbearam 11x, c) Sel isolat RSK 1 perbesaran 1000x menggunakan mikroskop cahaya binokuler, d) Pertunasan sel isolat RSK 1, d.1) sel induk khamir, d.2) sel anak khamir, e) Petunasan multilateral (Yarrow, 1984).

Pengamatan isolat khamir dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu, konvensional seperti pengamatan pada penelitian ini dan metode molekuler. Menurut Barnett *et al.*, (2000) identifikasi konvensional merupakan identifikasi berdasarkan karakter fenotif. Karakter fenotif dilihat dari karakter morfologi khamir, baik secara mikroskopis maupun makroskopis. Karakter fenotif juga dapat dilihat dari fase reproduksi seksual dan aseksual khamir serta karakter biokimia yang dilakukan dengan uji fermentasi karbohidrat. Diperkuat dengan

Lanchane *et al.*, (2003) yang menyebutkan bahwa identifikasi konvensional berdasarkan karakter fenotif khamir memiliki banyak kekurangan dan seringkali tidak dapat membedakan spesies khamir. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan bahwa identifikasi konvensional hanya dapat mengetahui kelas dan subkelas isolat khamir yang ditemukan.

Teknik lain dalam identifikasi khamir adalah dengan cara identifikasi molekuler. Menurut Kurtzman & Fell (2006) Teknik identifikasi molekuler digunakan untuk mengidentifikasi suatu spesies khamir dengan menggunakan data *sequence* DNA. Identifikasi khamir secara molekuler ditentukan berdasarkan sekuens dari daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) dari DNA ribosomal. Analisis filogenetik dari hubungan kekerabatan spesies menggunakan daerah atau primer *Internal Transcribed Spacer* (*ITS 1* dan *ITS 2*) dan 5.8S subunit ribosom (Basukriadi, 2010).

4.2 Uji Fermentasi Karbohidrat Isolat Khamir

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan pada kelima isolat khamir yang ditemukan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan khamir dalam memfermentasi karbohidrat yang terdiri dari empat jenis gula yang berbeda, yaitu glukosa, laktosa, sukrosa dan fruktosa. Fermentasi sendiri menurut Harley & Prescott (2002) merupakan suatu reaksi biokimia yang dilakukan oleh organisme hidup yang menghasilkan energi pada kondisi anaerobik. Pemilihan jenis gula ini didasarkan pada gula yang terkandung dalam buah jeruk manis, yaitu glukosa, sukrosa dan fruktosa serta laktosa sebagai indikator khamir *Saccharomyces*. Menurut Periadnadi (2018) menyebutkan bahwa proses fermentasi karbohidrat yang dilakukan oleh khamir secara umum dengan merombak bahan mentah dari beberapa komponen pada media tempat tumbuhnya dan mengubah bahan mentah tersebut menjadi bahan baru. Prosedur pengujian fermentasi karbohidrat mengacu pada prosedur penelitian Harley dan Prescott (2002) dengan sedikit modifikasi dari Atlas (2005) dimana disebutkan media fermentasi karbohidrat diperlukan adanya indikator berupa *Andrede's Indicator* yang fungsinya sebagai indikator perubahan pH yang ditandai dengan perubahan warna dan kekeruhan pada media.

Berdasarkan tabel 4.3 dapat dilihat hasil fermentasi karbohidrat dari kelima isolat dengan empat jenis gula yang berbeda. Seluruh isolat yaitu, RYB1, RYB 2, RYK 1, RYK 2 dan RSK 1 mampu memfermentasi karbohidrat dengan baik pada jenis gula glukosa dan fruktosa terutama pada isolat RYK 2. Menurut Harley & Prescott (2002) menyatakan bahwa suatu isolat mikroba yang mampu tumbuh pada medium yang mengandung jenis gula berupa glukosa dan fruktosa artinya mikroba tersebut mampu melakukan proses fermentasi dengan menghasilkan alkohol dan CO₂ sebagai hasil sampingan dari proses metabolisme yang telah berlangsung. Sedangkan untuk jenis gula sukrosa hanya isolat RYK 2 yang mampu melakukan fermentasi dengan baik pada jenis gula ini dan keseluruhan isolat khamir tidak dapat memfermentasi jenis gula laktosa dengan tidak terbentuknya gelembung dan perubahan warna pada media. Menurut Asyiken *et al.*, (2013) menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* sebagai salah satu khamir agen pengembang roti tidak mampu memfermentasi jenis gula laktosa karena kurangnya enzim sistem berupa laktase dan β -galaktosidase.

Pengujian fermentasi karbohidrat pada jenis gula fruktosa menunjukkan bahwa seluruh isolat khamir mampu melakukan fermentasi dengan baik pada jenis gula ini bahkan terbentuk gelembung dengan intensitas yang tinggi pada isolat khamir RSK 1. Menurut Periadnadi (2018) menyebutkan bahwa terbentuknya gas CO₂ pada tabung Durham karena adanya aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam fermentasi alkohol. Enzim berupa invertase, zimase, karboksilase, heksokinase dan dehidrogenase merupakan enzim-enzim yang dihasilkan oleh khamir yang kemudian akan membantu proses fermentasi. salah satu enzim yang berperan sebagai biokatalis adalah enzim zimase, enzim ini bekerja dengan mengubah glukosa dan fruktosa menjadi alkohol dan CO₂.

Tabel 4. 3 Kemampuan Isolat Khamir dalam Melakukan Fermentasi Karbohidrat pada hari ke-7 dan perubahan pH

Kode Isolat	Jenis Gula	Warna	Gelembung	pH
RYB 1	Glukosa	Merah muda	+	6
RYB 2		Merah muda	+	7
RYK 1		Merah muda	+	5
RYK 2		Merah muda	++	7
RSK 1		Merah muda	+	6
Kontrol		Merah	-	7
RYB 1	Sukrosa	Merah	-	7
RYB 2		Merah	-	7
RYK 1		Merah	-	7
RYK 2		Merah muda	+	5
RSK 1		Merah muda	-	7
Kontrol		Merah	-	7
RYB 1	Fruktosa	Merah muda	+	8
RYB 2		Merah muda	+	7
RYK 1		Merah muda	+	5
RYK 2		Merah muda	+	6
RSK 1		Merah muda	++	6
Kontrol		Merah	-	7
RYB 1	Laktosa	Merah	-	7
RYB 2		Merah	-	7
RYK 1		Merah muda	-	5
RYK 2		Merah	-	7
RSK 1		Merah	-	7
Kontrol		Merah	-	7

Keterangan : - : Tidak terbentuk gelembung
 + : Gelembung sedikit
 ++ : Gelembung banyak

Perubahan pH setelah proses fermentasi dilihat menggunakan indikator pH, hal ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perubahan pH yang terjadi setelah proses fermentasi berlangsung. Berdasarkan hasil pengujian pH terlihat beberapa isolat pada jenis gula tertentu mengalami perubahan pH, dari pH awal kontrol media fermentasi adalah 7 kemudian setelah proses fermentasi terlihat perubahan pH yang berkisar antara 5-8. Menurut Fadilah (2018) pH atau derajat keasaman adalah salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan produk dalam proses fermentasi. Pada hari ke-5 rata-rata terjadi peningkatan pH yang disebabkan karena khamir mengalami fase pertumbuhan, sehingga perombakan gula menjadi etanol terjadi dengan cepat.

Dampak yang terjadi dari fase pertumbuhan yaitu dapat meningkatkan gugus OH- sehingga pH meningkat menjadi basa (C_2H_5OH). Sedangkan fermentasi pada hari ke-6 dan 7 pH mengalami penurunan, dikarenakan selama proses fermentasi menghasilkan gas CO_2 terlarut yang bersifat asam (H_2CO_3). Akibat asam organik yang terbentuk dari hasil samping fermentasi akan mengakibatkan terjadinya penurunan pH. Secara umum khamir dapat tumbuh optimal pada pH 4-6,8.

Berdasarkan pH yang terbentuk pada uji fermentasi karbohidrat terdapat pH yang paling rendah yaitu, 5 pada isolat RYK 1 dengan jenis gula glukosa, fruktosa dan laktosa, serta isolat RYK 2 dengan jenis gula sukrosa. pH yang paling tinggi yaitu, 8 pada isolat RYB 1 dengan jenis gula fruktosa. Dari hal ini dapat diketahui bahwa perbedaan pH setelah 7 hari proses fermentasi disebabkan pembentukan alkohol yang mengakibatkan pH basa dan pembentukan asam organik yang mengakibatkan pH asam. Setelah fermentasi hari ke-6 mulai terjadi pembentukan asam organik yang akan menyebabkan terjadinya penurunan pH. Namun, lambatnya proses fermentasi akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan asam organik sebagai hasil samping fermentasi, sehingga keadaan pH tetap basa walaupun sudah mengalami 7 hari proses fermentasi. Menurut Kurtzman & Fell (1998) lambatnya proses fermentasi disebabkan oleh perbedaan jenis khamir dan aktivitas yang berlangsung.

Proses fermentasi karbohidrat tidak lepas dari proses metabolisme karbohidrat sehingga menghasilkan gas CO_2 dan alkohol yang akan membantu menambah volume adonan roti serta aroma. Menurut Cho dan Devin (2010) menyatakan proses metabolisme dalam fermentasi karbohidrat oleh khamir dilakukan dengan merombak kurang lebih 95% gula dalam media menjadi alkohol dan gas CO_2 . Pada proses uji fermentasi karbohidrat dilakukan selama 7 hari hal ini karena berkaitan dengan proses pertumbuhan khamir, secara umum proses pertumbuhan khamir dalam proses pembuatan bioethanol dilakukan selama 7 hari sampai khamir mampu menghasilkan alkohol secara optimal. Wusna *et al.*, (2016) menyatakan bahwa peran khamir dalam proses fermentasi selama 7 hari menghasilkan kadar alkohol terbaik dibandingkan dengan lama fermentasi kurang maupun lebih dari 7 hari. Selain itu beberapa penelitian menyebutkan

pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan selama 7 hari karena berkaitan dengan pertumbuhan optimal khamir.

4.3 Uji Kemampuan Khamir pada Glukosa 50%

Tabel 4. 4 Pertumbuhan Isolat Sel Khamir pada Medium Glukosa 50% (m/v) dengan indikator kepadatan optik (600 nm)

Kode Isolat	Glukosa 50% (m/v)	
	24 jam	48 jam
RYB 1	0.113	0.385
RYB 2	0.276	0.342
RYK 1	0.125	0.281
RYK 2	0.124	0.284
RSK 1	0.147	0.326
Kontrol	0.000	0.000

Berdasarkan hasil penghitungan nilai OD (*Optical density*) sel khamir dapat dilihat pada (Tabel 4.4) yang menunjukkan seluruh isolat khamir yang ditemukan dapat tumbuh dengan baik dalam kondisi gula yang tinggi. Seluruh isolat khamir menunjukkan pertumbuhan yang ditandai dengan penambahan jumlah densitas sel khamir setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam, dari hal ini dapat dilihat bahwa isolat khamir yang ditemukan memiliki potensi sebagai khamir pengembang adonan roti. Pertumbuhan khamir paling optimal ditunjukkan oleh isolat RYB 1. Menurut Herrera, *et al.*, (2009) menyatakan bahwa tidak banyak khamir yang mampu hidup dalam kondisi kadar gula tinggi yang berkisar antara 20-50%, hal ini diperkuat dengan penelitian Aysikeen *et al.*, (2016) yang dalam penelitiannya menyebutkan isolat khamir yang digunakan sebagai pengembang adonan roti mampu tumbuh dengan baik pada konsentrasi glukosa 20% (m/v) dalam uji kualitatif. Utama *et al.*, (2019) menyebutkan bahwa pada awal proses fermentasi dengan kadar yang sesuai khamir mampu mentolerir tekanan osmotik dengan memanfaatkan gula yang ada dan melakukan sistesis gliserol serta memproduksi asam dengan kadar yang rendah, namun keberadaan kandungan gula yang tinggi dalam medium pertumbuhan khamir menghasilkan

tekanan osmotik tinggi yang kemudian akan menghambat proses pertumbuhan khamir.

4.4 Uji Pembentukan H₂S dan Pembentukan Flokulasi

Tabel 4. 5 Uji pembentuksn H₂S dan Pembentukan Flokulasi

Kode Isolat	Pembentukan H ₂ S	Flokulasi
RYB1	++	+
RYB 2	-	++
RYK 1	+	+
RYK 2	-	+
RSK 1	+	+
Kontrol	-	-

Keterangan : (++) respon intensive, (+) respon normal, (-) tidak ada respon

Isolat khamir yang baik digunakan sebagai pengembang adonan roti memiliki beberapa kriteria yaitu tidak membentuk H₂S dan mampu membentuk flokulan pada proses flokulasi (Lampiran. 4). Pada (Tabel 4.5) menunjukkan dari lima isolat khamir terdapat dua isolat yang tidak merespon uji H₂S yaitu, isolat RYB 2 dan RYK 2 serta kontrol. Uji H₂S dilakukan pada medium *Lead Acetate* sebagai indikator pembentukan H₂S, menurut Rashid *et al.*, (2013) pembentukan H₂S ditandai dengan adanya endapan berwarna hitam pada permukaan media. Kuster & Williams (1964) menyebutkan bahwa terbentuknya endapan hitam sebagai indikator hidrogen sulfida pada media *Lead Acetate Agar* terjadi karena reduksi sulfur anorganik tiosulfat. Menurut Maryam *et al.*, (2018) menyatakan bahwa hidrogen sulfida (H₂S) adalah senyawa yang tidak diinginkan terkait dengan aroma dan rasa yang tidak enak pada proses pengolahan makanan. Isolat khamir yang menunjukkan produksi H₂S yang tinggi tidak diinginkan untuk pembuatan roti karena memberi rasa yang tidak baik dan mengganggu kualitas roti.

Beberapa penelitian disebutkan bahwa keberadaan H₂S dapat ditoleransi dengan kadar tertentu, hal ini disebutkan dalam penelitian Aysikeen *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa dalam penelitiannya semua isolat khamir yang didapatkan menghaiklan H₂S termasuk isolat yang dianggap unggul. Dalam penelitiannya strain ragi komersil yang digunakan sebagai kontrol positif

menunjukkan produksi H_2S yang tinggi sehingga strain isolat khamir yang lain dapat diterima sebagai pengembang adonan roti. Hal ini menunjukkan bahwa kadar H_2S tertentu dapat diterima dalam produk pangan, sesuai dengan keadaan dan kondisi yang terjadi. Menurut Fereirra *et al.*, (2002) kandungan H_2S yang dapat diasimilasi dalam makanan berkisar 245 sampai 289 mg/ liter. Ditambahkan Florin *et al.*, (1993) Kadar H_2S yang dapat diterima dalam roti berkisar ($>10\mu\text{mol/g}$ atau 1 mg/g).

Kemampuan isolat khamir dalam membentuk flokulan pada proses flokulasi juga termasuk hal yang penting sebagai kandidat ragi pengembang roti. Dari kelima isolat yang ditemukan, seluruh isolat mampu membentuk flokulan pada dasar media yaitu isolat RYB 1, RYB 2, RYK 1, RYK 2 dan RSK 1 (Lampiran. 4). Flokulan yang terbentuk inilah yang nanti kemudian akan digunakan sebagai agen sel khamir yang ditambahkan dalam adonan. Apabila isolat khamir tidak mampu menghasilkan flokulan dalam proses flokulasi maka dapat dikatakan isolat khamir tersebut tidak memenuhi kriteria sebagai khamir pengembang adonan roti. Menurut Aysikeen *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa isolat khamir yang memiliki kemampuan membentuk flokulan pada proses flokulasi ini diakibatkan adanya gaya adhesi sel dan merupakan syarat penting khamir dalam industri pembuatan roti. Prinsip proses flokulasi terjadi akibat adanya pemisahan sel-sel khamir dan medium tempat tumbuh khamir, sehingga terbentuk flokulan atau sel-sel khamir murni yang kemudian dapat diproduksi untuk ragi komersil dibidang industri. Dari flokulan yang terbentuk dari isolat khamir yang ditemukan menunjukkan bahwa isolat khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis memiliki potensi sebagai pengembang adonan roti.

4.5 Uji Kemampuan Khamir dalam Toleransi Suhu

Kemampuan khamir untuk hidup dalam kondisi suhu yang tidak menentu terutama tinggi perlu dilakukan adanya pengujian, karena tidak semua khamir mampu toleran atau tetep tumbuh dalam kondisi lingkungan dengan suhu tinggi. Pentingnya kemampuan khamir yang mampu tumbuh dalam kondisi suhu yang tidak menentu akan berkaitan dengan proses fermentasi dan inkubasi yang memiliki kondisi suhu tidak menentu. Menurut Maryam *et al.*, (2017) pada

umumnya khamir mampu tumbuh pada suhu ruang yang dalam kisaran 26 °C– 37 °C. Khamir yang mampu tumbuh dalam kondisi suhu lebih tinggi dari 37 °C menunjukkan kemampuannya yang baik bertahan hidup pada proses fermentasi dengan berbagai kondisi suhu baik normal maupun yang lebih tinggi. Ali *et al.*, (2012) juga menyebutkan bahwa kondisi optimal yang dibutuhkan untuk pertumbuhan khamir adalah berkisaran antara 25-30 °C, kelembapan dan suhu yang terlalu panas atau terlalu dingin dapat memperlambat pertumbuhan khamir serta akan berkaitan dengan kualitas khamir.

Tabel 4. 6 Kemampuan Isolat Khamir dalam Toleransi Suhu

Kode Isolat	30 °C		37 °C		45 °C	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
RYB 1	1.615	3.236	0.732	1.824	0.087	0.613
RYB 2	1.889	2.556	1.323	2.360	0.104	0.604
RYK 1	1.873	3.170	0.452	2.289	0.108	0.902
RYK 2	0.884	2.930	0.423	1.870	0.458	0.995
RSK 1	0.789	2.786	0.253	1.146	0.067	1.195
Kontrol	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Berdasarkan tabel 4.6 dapat dilihat proses pertumbuhan isolat khamir dengan keadaan suhu yang berbeda-beda. Hasil nilai densitas sel berdasarkan kerapatan optik menggunakan Spektrofotometer *Uv-vis* menunjukkan bahwa seluruh isolat khamir mampu tumbuh pada suhu optimal 30 °C, suhu yang cenderung hangat 37 °C dan bahkan pada suhu tertinggi yaitu 45 °C dengan semakin bertambahnya nilai kerapatan sel setelah dilakukan inkubasi selama 72 jam, baik isolat RYB 1, RYB 2, RYK 1, RYK 2 dan RSK 1 mengalami penambahan kerapatan sel. Menurut Karki *et al.*, (2017) menyatakan bahwa isolat khamir yang mampu tumbuh pada suhu yang lebih tinggi merupakan kandidat isolat yang baik sebagai pengembang adonan roti, selain itu isolat yang toleran terhadap keadaan lingkungan hidup yang bersuhu tinggi memiliki potensi yang lebih baik dalam meningkatkan produksi gas karbon dioksida pada proses

fermentasi. Desrosier (1988) dalam bukunya menyatakan bahwa pencampuran khamir dengan adonan akan disertai kenaikan suhu dan pertambahan massa adonan akibat adanya proses fermentasi. Sumber panas yang terbentuk terutama berasal dari energi yang dilepaskan khamir akibat proses hidrasi tepung dan adanya pencampuran secara mekanis dari adonan. Sehingga berdasarkan pengujian toleransi suhu isolat khamir dari kulit dan buah jeruk manis memiliki potensi sebagai pengembang adonan roti.

4.6 Uji Kemampuan Khamir dalam Toleransi Alkohol

Berdasarkan hasil pengujian yang ditunjukkan dalam (Tabel 4.7) menunjukkan kemampuan pertumbuhan isolat khamir dalam mediaum dengan keadaan kadar alkohol yang berbeda-beda. Keseluruhan isolat khamir yang diperoleh memperlihatkan pertumbuhan yang baik pada medium dengan kadar alkohol 10%, 13% dan bahkan kadar alkohol tertinggi yaitu 15%. Pertumbuhan isolat khamir ditandai dengan pertambahan jumlah kerapatan sel khamir setelah dilakukan inkubasi selama 72 jam pada pengukuran kerapatan sel menggunakan Spektrofotometer *Uv-vis* dengan panjang gelombang 600 nm. Menurut Utama *et al.*, (2019) menyatakan tidak banyak khamir yang memiliki kemampuan mentolerir kelebihan alkohol. Secara umum khamir dapat tumbuh optimal dalam kadar alkohol 10%. Kelebihan kadar alkohol umumnya menghambat proses fermentasi, karena kondisi alkohol yang tinggi tersebut dapat mempengaruhi tekanan osmotik atau fluiditas membran yang dapat mengganggu pertumbuhan khamir. Selain itu menurut Karki *et al.*, (2017) Alkohol dengan kadar yang cukup tinggi dapat merusak DNA mitokondria dan menyebabkan inaktivasi enzim serta merusak membran sel, sehingga mengakibatkan kematian pada khamir.

Tabel 4. 7 Kemampuan Isolat Khamir dalam Toleransi Alkohol

Kode	10 %		13 %		15 %	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
RYB 1	0.260	0.920	0.344	0.401	0.018	0.355
RYB 2	0.234	0.652	0.137	0.170	0.004	0.181
RYK 1	0.268	0.311	0.072	0.554	0.158	0.771

RYK 2	0.076	0.148	0.304	0.500	0.153	0.605
RSK 1	0.043	0.217	0.121	0.157	0.134	0.450
Kontrol	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Hasil yang pengujian toleransi alkohol (Tabel 4.7) menunjukkan bahwa seluruh isolat khamir toleran dalam medium dengan kadar alkohol sampai dengan 15%. Hal ini memperlihatkan bahwa isolat khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis memiliki tingkat pertumbuhan yang baik dan mampu mengatasi kelebihan alkohol dalam medium pertumbuhannya, yang ditandai dengan adanya penambahan densitas sel pada Spektrofotometer, dari isolat RYB 1 sampai RSK 1. Berdasarkan hasil pengujian ini dapat dilihat bahwa isolat khamir kulit dan daging buah jeruk manis memiliki potensi yang baik sebagai agen pengembang adonan, karena pada dasarnya ketika proses fermentasi berlangsung terjadi pembentukan alkohol oleh khamir itu sendiri. Menurut Asyiken *et al.*, (2013) kemampuan khamir yang dapat tumbuh pada konsentrasi alkohol tinggi mampu meningkatkan aroma baik pada adonan roti.

4.7 Uji Potensi Isolat Khamir dalam Mengembangkan adonan

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi diperoleh lima isolat khamir yang memiliki potensi sebagai pengembang adonan roti, yaitu RYB 1, RYB 2, RYK 1, RYK 2 dan RSK 1. Seluruh isolat khamir yang diperoleh menunjukkan adanya respon baik berdasarkan pengujian yang telah dilakukan. Sehingga keseluruhan isolat dilakukan pengujian potensi untuk pengembangan adonan. Pengaktifan isolat khamir dilakukan untuk mengetahui potensi awal isolat, proses pengaktifan dilakukan dengan menumbuhkan pelet hasil flokulasi dari isolat kedalam cairan yang mengandung sukrosa dengan air hangat selama 1 jam (Lampiran. 5). Hal ini penting dilakukan untuk mengaktifkan pelet khamir sebelum pembuatan adonan. Menurut Struyf *et al.*, (2017) menyebutkan faktor penting dalam proses pengembangan adonan roti dibagi menjadi tiga, yaitu faktor dalam yang merupakan faktor terpenting dalam pengembangan adonan karena ini berkaitan dengan substrat yang akan digunakan oleh khamir sebagai medium untuk tumbuh. Kedua adalah faktor luar yang merupakan komponen yang

dihasilkan khamir selama proses pengembangan adonan atau fermentasi berlangsung dan yang terakhir adalah faktor eksternal yang merupakan kondisi optimal yang diperlukan khamir selama proses pengembangan.

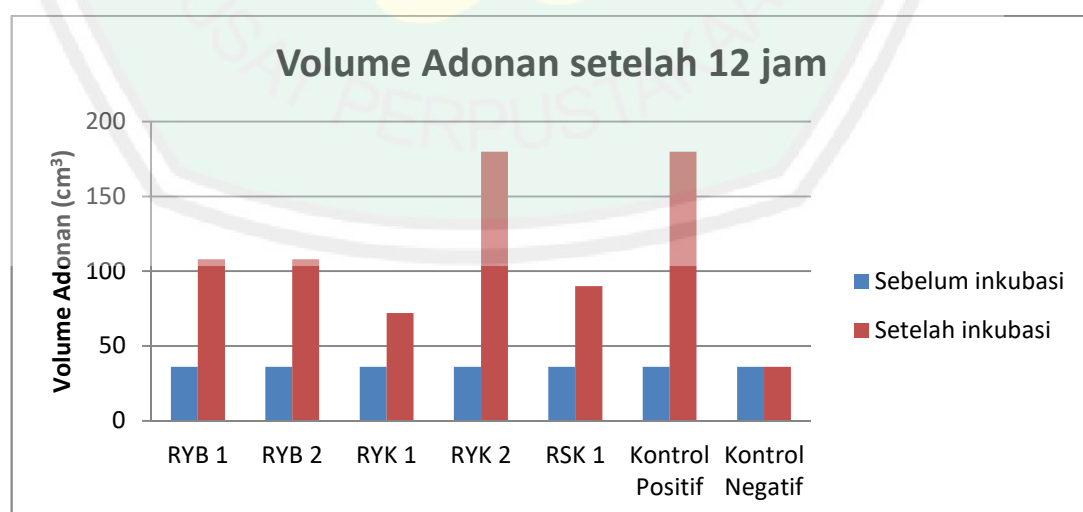


Gambar 4. 10 a) Adonan isolat RYB 1 jam ke-6, b) Adonan isolat RYB 2 jam ke-6, c) Adonan isolat RYK 1 jam ke-6, d) Adonan isolat RYK 2 jam ke-6, e) Adonan isolat RSK 1 jam ke-6, f) Adonan kontrol positif (Fermipan®).

Pengembangan adonan dari isolat khamir yang ditemukan mulai terlihat pada jam ke-6 inkubasi, pada (Gambar 4.10) terlihat adonan RYB 2 dan RYK 2 mulai terlihat melebar memenuhi bagian bawah gelas inkubasi, diikuti isolat RYB 1. Namun, jika dibandingkan dengan kontrol positif pengembangan isolat yang ditemukan masih tertinggal jauh, pada (Gambar 4.10 f) terlihat kontrol positif mengembang dengan baik bahkan jika dilihat pada inkubasi jam selanjutnya, pada jam ke-6 inilah puncak pengembangan dari adonan kontrol positif. Perbedaan volume pengembangan yang terjadi dapat diakibatkan karena pada khamir kontrol positif (Fermipan®) mengandung pengemulsi Sorbitan Monostearate E491 dalam

komposisinya, sedangkan pada isolat khamir yang ditemukan hanya digunakan isolat murni dari hasil sentrifugasi tanpa menambah bahan pengemulsi. Menurut Mortersen *et al.*, (2017) Sorbitan monostearate adalah zat aditif makanan (pengemulsi) yang digunakan dalam pembuatan produk makanan dan perawatan kesehatan serta merupakan surfaktan non ionik dengan sifat pengemulsi, pendispersi dan pembasahan. Dalam pembuatan roti pengemulsi Sorbitan monostearate berfungsi memperbaiki dan menambah volume roti sehingga lebih mengembang dan menjaga kestabilan tekstur roti saat berada dalam kondisi suhu yang dingin. Ditambahkan oleh Edeghor *et al.*, (2016) yang menyatakan menambahkan bakteri asam laktat berupa *Lactobacillus bulgaricus* mampu memperpanjang umur simpan roti, menambah volume dan aroma roti.

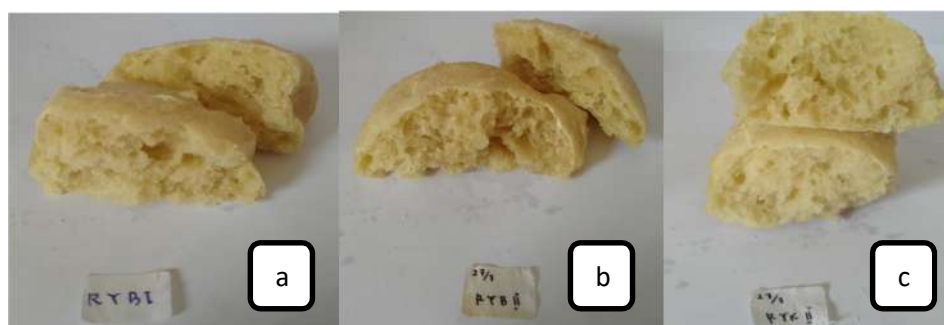
Bahan-bahan dalam pembuatan adonan juga memegang peran penting terkait dalam proses pengembangan adonan. Menurut Mudjadjanto & Yulianti (2004) garam merupakan salah satu bahan penting dalam pembuatan adonan roti, karena berfungsi sebagai pembangkit rasa dari bahan-bahan lainnya, penambah rasa gurih, pengontrol waktu fermentasi dari adonan ragi, penambah kekuatan gluten dan pengatur warna serta mencegah timbulnya bakteri dalam adonan. Ditambahkan Astawan (2006) yang menyatakan penambahan air dalam pembuatan adonan roti tidak kalah penting, karena berfungsi sebagai media gluten dengan karbohidrat.

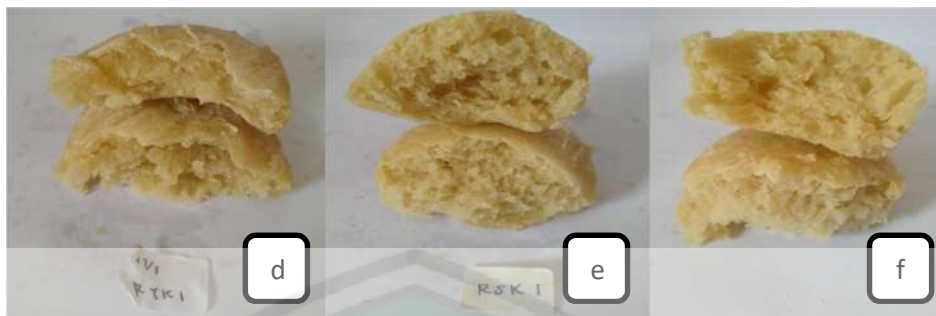


Gambar. 4. 11 Volume pengembangan adonan sebelum dan setelah inkubasi selama 12 jam.

Hasil inkubasi adonan roti selama 12 jam (Gambar 4.11) menunjukkan bahwa seluruh adonan mengalami pengembangan jika dibandingkan dengan kontrol positif maupun negatif (Lampiran. 8). Isolat RYK 2 (Gambar 4.11) memiliki tingkat pengembangan yang unggul dibandingkan dengan isolat lain. Kemudian diikuti isolat RYB 1 dan RYB 2. Sedangkan untuk isolat RYK 1 dan RSK 1 tidak memperlihatkan pengembangan yang signifikan, apabila dibandingkan dengan isolat lain dan kontrol positif. Pengembangan yang terjadi dapat dilihat dari meningkatnya volume adonan akibat dari proses fermentasi yang berlangsung. Proses fermentasi yang berlangsung menghasilkan gas CO₂ sehingga terbentuk rongga udara dan terjadi pengembangan dalam adonan. Menurut Shabrina (2017) menyatakan dalam mengembangkan adonan roti, khamir bekerja dengan cara memanfaatkan gula untuk menghasilkan etil alkohol dan karbondioksida (CO₂). Gas CO₂ yang terbentuk akan ditahan gluten dari tepung sehingga akan terbentuk adonan yang mengembang dengan rongga udara didalamnya.

Volume peningkatan adonan dalam (Gambar 4.11) setiap isolat memiliki kemampuan masing-masing dalam meningkatkan volume adonan, perbedaan terlihat jelas dengan perbandingan kontrol positif dan kontrol negatif. Menurut Carbonetto *et al.*, (2018) menyatakan bahwa selama proses fermentasi berlangsung, sel khamir akan melakukan pembelahan dan memanfaatkan protein gluten dari tepung untuk kemudian menghasilkan rongga akibat adanya karbondioksida yang terbentuk dari pemecahan karbohidrat dari substrat tempat hidup khamir. Dari rongga udara yang terbentuk dari proses fermentasi, adonan roti mengalami penambahan volume udara sehingga adonan menunjukkan adanya pengembangan.





Gambar 4.12 a) Rongga roti isolat RYB 1, b) Rongga roti isolat RYB 2, c) Rongga roti isolat RYK 1, d) Rongga roti isolat RYK 2, e) Rongga roti isolat RSK 1, f) Rongga roti kontrol positif (Fermipan®).

Hasil adonan dari proses pengembangan kemudian dilakukan pemanggangan pada oven dengan suhu 180 °C selama 20 menit agar dapat diketahui terbentuknya rongga udara dalam roti. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh karakteristik roti setelah dilakukan pemanggangan pada (Tabel 4.8).

Tabel 4. 8 Karakteristik Roti dari Isolat Khamir

Kode Isolat	Warna	Aroma	Tekstur	
			Luar	Dalam
RYB 1	Krem	++	Keras	Lembut berongga
RYB 2	Krem	++	Keras	Lembut berongga
RYK 1	Kecoklatan	+	Keras	Tidak berongga
RYK 2	Krem	+++	Keras	Lembut berongga
RSK 1	Krem	++	Keras	Lembut berongga

Keterangan : + : Kurang Baik
 ++ : Baik
 +++ : Sangat Baik

Hasil yang diperoleh setelah proses pemanggangan roti memperlihatkan isolat RYK 2 (Gambar 4.12. c) memiliki ukuran pengembangan yang unggul dibandingkan dengan isolat lain, selain itu roti dari isolat RYK 2 memiliki aroma yang lebih harum dibandingkan roti dengan kontrol positif ((Fermipan®) (Gambar 4.12. f). Isolat RYK 2 memiliki warna roti yang krem dengan rongga yang cukup banyak pada bagian dalam roti menyerupai kontrol positif serta bertekstur keras

pada bagaian luar dan lembut dibagian dalam. Kemudian roti dari isolat RYB 1 dan RYB 2 (Gambar 4.12. a dan b) memiliki karakteristik yang hampir sama yakni memiliki warna krem dengan aroma fermentasi yang khas dan terbentuknya rongga dibagian dalam roti serta tekstur luar roti yang keras dan lembut dibagainya dalam. Pada roti dari isolat RYK 1 memiliki karakteristik yang cukup berbeda dibandingkan dengan yang lain, yaitu memiliki warna roti kecoklatan dengan aroma yang tidak terlalu sedap dan tidak terbentuknya rongga pada bagian dalam roti. Dan yang terakhir roti dari isolat RSK 1 memiliki karakteristik dengan warna roti krem, memiliki aroma fermentasi yang khas dan pada bagian dalam roti terdapat rongga uda selain itu bagain dalam roti memiliki tekstur yang lembut serta tekstur yang keras dibagaian dalam roti.

Selama proses pemanggangan akan terjadi penambahan volume adonan akibat adanya tekanan panas yang tinggi, Desrosier (1988) menyebutkan bahwa terdapat dua reaksi selama proses pemanggangan yang pertama adalah pada saat peletakkan adonan pada oven yang panas, bertemunya adonan dengan suhu yang panas pada ruang pemanggangan akan membentuk lapisan luar permukaan adonan yang kemudian terjadi pengembangan roti, selama proses tersebut berlangsung volume adonan dapan naik mencapai 30%. Yang kedua terdapat pengaruh fisis dari panas terhadap gas yang terbentuk dalam adonan sehingga menaikkan tekanan. Hal ini lah yang kemudian menciptakan rongga dalam adonan, didalam adonan terdapat ruang udara atau gas yang terjebak dimana setiap gas memberikan celah-celah pada roti dan mengakibatkan volume adonan bertambah.

Perubahan warna pada adonan setelah proses pengovenan yang terjadi berkaitan dengan bahan-bahan yang digunakan seperti adanya penggunaan gula. Menurut penelitian Yayath (2009) menguatkan dengan pernyataan bahwa keberadaan gula dalam pembuatan roti berfungsi sebagai sumber energi untuk khamir. Residu gula yang tidak habis dalam proses fermentasi akan memberikan rasa manis dan warna krem atau kecoklatan (*golden brown*) pada roti. Selain itu gula juga berperan pada proses pewarnaan kulit bagian luar roti (karamelisasi gula) pada pembakaran oven. Selain itu aroma juga merupakan faktor penting dalam pembuatan roti, Menurut Dalton *et al.*, (2016) berdasarkan prinsip analisis

sensori, aroma merupakan faktor penting kedua setelah warna karena pada umumnya pertimbangan dalam penerimaan suatu bahan pangan adalah berdasarkan penilaian aroma.

Tekstur juga tidak kalah penting dalam pembuatan roti. Selain adanya khamir yang melakukan fermentasi menghasilkan CO₂ dan alkohol, penggunaan tepung berperan penting dalam tekstur yang dihasilkan. Menurut Wang *et al.*, (2006) gluten dan gliadin yang terdapat dalam tepung terigu akan mengalami perubahan menjadi gluten apabila dicampurkan dengan air. Gluten inilah yang akan membentuk struktur pori-pori dan menjadikannya tekstur produk roti tidak keras dan memiliki tekstur yang lembut.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Berdasarkan karakter morfologi diperoleh lima isolat khamir yang berhasil diisolasi dari kulit dan daging buah jeru manis, dimana RYB 1 memiliki kemiripan dengan kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes*, isolat RYB 2 memiliki kemiripan dengan dengan kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes*, isolat RYK 1 memiliki kemiripan dengan kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes*, serta isolat RYK 2 dan RSK 1 memiliki keiripan kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes*. Ditandai dengan keseluruhan reproduksi aseksual sel khamir menggunakan pertunasan (*budding*).
2. Berdasarkan hasil uji potensi isolat khamir dalam pembuatan adonan roti, isolat RYK 2 dari kulit jeruk yang memiliki kemampuan paling baik dibandingkan dengan isolat lain yang ditandai dengan volume adonan yang tinggi sebanding dengan kontrol positif dan memiliki aroma yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif. Isolat terbaik kedua diikuti RYB 1 dan RYB 2 dari daging buah jeruk dengan volume adonan yang cukup tinggi dan Isolat RSK 1 dari kulit jeruk. Dan terakhir isolat RYK 1 dari kulit jeruk yang tidak memiliki kemampuan yang signifikan dalam mengembangkan adonan roti.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini adalah pada pengujian fermentasi gula-gula dapat dilakukan penambahan jenis gula galaktosa dan maltosa sebagai indikator fermentasi dan identifikasi lebih baik dilakukan secara molekuler menggunakan primer *ITS 1* dan *ITS 2* agar diketahui secara jelas spesies isolat khamir yang ditemukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesanya, O. A., Edo, O., Oluyemi, K. A., Josiah, S. J., Adesanya, R. A., & Ofusori, D. A. (1937). Ethanol Production By *Saccharomyces Cerevisiae* From Cassava Peel Hydrolysate Table of Contents, (May)
- Ali, A., Shehzad, A., Khan, M., Shabbir, M., & Amjid, M. (2012). Yeast, its types and role in fermentation during bread making process-A. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 22(3), 171–179.
- Artnarong, S., Masniyom, P., & Maneesri, J. (2016). Isolation of yeast and acetic acid bacteria from palmyra palm fruit pulp (*Borassus flabellifer* Linn.). *International Food Research Journal*, 23(3), 1308–1314.
- Asyikeen, Z., Ma'aruf, A. G., Sahilah, A. M., Mohd Khan, A., & Wan Aida, W. M. (2013). A new source of *Saccharomyces cerevisiae* as a leavening agent in bread making. *International Food Research Journal*, 20(2), 967–973.
- Astawan. 1999. *Membuat MI dan Bihun*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Balarabe, M., Mohammed, S. (2017). Physicochemical analysis and sensory evaluation of bread produced using different indigenous yeast isolates. *Science World Journal*, 12(1).
- Barnett, J. A., Payne, R. W., & Yarrow. (2000). *Yeasts: Characterization And Identification*. Cambridge University Press.
- Barr, M. E. 2001. Ascomycota. *In Systematics and Evolution*. Springer. Berlin. Heidelberg
- Boboye, & Dayo, O. (2009). Comparative Evaluation of the Sensory Properties of Doughs Fermented with Yeast Isolated from Orange. *Biotechnology*, 8(3), 389–392.
- Casamorin, J. A., Bennett, R., & Dedeles, G. (2014). Biosorption of Cd (II) by Yeasts from Ripe Fruit Peels in the Philippines. *Journal of Health and Pollution*, 4(7), 14–24. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-4-7.14>
- Carbonetto, B., Ramsayer, J., Nidelet, T., Legrand, J., & Sicard, D. (2018).

- Bakery yeasts, a new model for studies in ecology and evolution. *Yeast*, 35(11), 591–603. <https://doi.org/10.1002/yea.3350>
- Carlile, M.J. dan S.C. Watkinson. 2001. *The Fungi*. London: Academic Press Ltd
- Cho, I. H., & Peterson, D. G. (2010). Chemistry of bread aroma: A review. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 575–582. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0081-3>
- Dalton, A., & Syamsir, E. (2016). Pengaruh Penambahan Emulsifier terhadap Mutu Sensori Roti Tawar selama Penyimpanan The Addition of Emulsifiers Influence on the Quality of Sensory Pan Bread for Storage, 3(2), 95–102.
- Dandi, N. D., Dandi, B. N., & Chaudhari, A. B. (2013). Bioprospecting of thermo- and osmo-tolerant fungi from mango pulp-peel compost for bioethanol production. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 103(4), 723–736. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9854-4>
- Desrosier, N. (1988). *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Diana, Lady, & Lasmini, T. (2016). Isolasi dan Identifikasi Khamir Selulolitik Dari Tanah Rizosfer Anggrek Puser Bumi (*Pecteilis susannae* L.) di Hutan Wonosadi Gunung Kidul DIY. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 4(1), 21–28. <https://doi.org/10.24252/bio.v4i1.1116>
- Dufour, J. P., Verstrepen, K., Derdelinckx, G., Boekhout, T., and Robert, V. (2003). *Yeasts in Food: Beneficial and Detrimental Aspects*. Boca Raton: CRC Press.
- Ebabhi, A., Adekunle, Okunowo, & Osuntoki. (2013). Isolation and characterization of yeast strains from local food crops. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 4(4), 38–43.
- Edeghor, U., Lennox, J., & Aminadokiari, D. (2016). Bread fermentation using synergistic activity between lactic acid bacteria (*Lactobacillus bulgaricus*) and baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Pakistan Journal of Food Sciences*, 26(1), 2226–5899
- El-Helow, E. R., Elbahloul, Y., El-Sharouny, E. E., Ali, S. R., & Ali, A. A. M.

- (2015). Economic production of baker's yeast using a new *Saccharomyces cerevisiae* isolate. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 29(4), 705–713.
- Fadilah, Yuda, I. G. Y., Mahaputra Wijaya, I. M., & Suwariani, N. P. (2018). Studi Pengaruh Ph Awal Media Dan Konsentrasi Substrat Pada Proses Fermentasi Produksi Bioetanol Dari Hidrolisat Tepung Biji Kluwih (*Actinocarpus Communis*) Dengan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 6(2), 115. <https://doi.org/10.24843/jrma.2018.v06.i02.p03>
- Fardiaz. (2009). *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Florin, J., Neale, G., Sara, G., & Jhon, H. (1993). Sulfate Content of Food and Beverages. Pdf. *Journal of Food Composition and Analysis*, 6, 140–151.
- Giauque, H., & Hawkes, C. V. (2013). Climate affects symbiotic fungal endophyte diversity and performance. *American Journal of Botany*, 100(7), 1435–1444. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200568>
- Haitami, Ulfa. A & Muntaha, A. (2017). Kadar Sunkist Peras Dan Infused Water. *Medical Laboratory Technology Journal*, 3(1), 98-102
- Haniah, Miftachul. (2008). Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Skripsi. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hamamoto, M., and Nakase, T. (2000). Phylogenetic relationships among fungi inferred from small subunit ribosomal RNA gene sequences. In *Applied Microbial Systematics* (pp. 57-71). Springer, Dordrecht.
- Harley. J. P and L.M. Prescott. (2002). *Laboratory Exercise in Microbiology*. New York: McGraw-Hill Education.
- Herrera, C. M., De Vega, C., Canto, A., & Pozo, M. I. (2009). Yeasts in floral nectar: A quantitative survey. *Annals of Botany*, 103(9), 1415–1423. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp026>
- Jacques, N., & Casaregola, S. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The hemiascomycetous yeasts. *International Journal of Food Microbiology*,

- 126(3), 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.020>
- Kanti, A., & H.J.D. Latupapua. (2001). Identifikasi Keragaman Khamir yang Diisolasi dari Tanah Kebun Biologi Wamena Kabupaten Jayawijaya, Propinsi Papua. *J. Biol. Indon.*, 3(2), 150–160.
- Karki, T. B., Timilsina, P. M., Yadav, A., Pandey, G. R., Joshi, Y., Bhujel, S., Neupane, K. (2017). Selection and Characterization of Potential Baker's Yeast from Indigenous Resources of Nepal. *Biotechnology Research International*, 2017, 1–10.
- Karsinah, Sudarsono, L. Setyobudi, dan H. Aswidinnoor. 2002. Keragaman Genetik Plasma Nutfah Jeruk Berdasarkan Analisis Penanda RAPD. *Jurnal Biotek Pertanian*.7(1);8-16
- Komatsuzaki, N. (2016). Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from fruits and humus: Their suitability for bread making. *Progress in Biological Sciences*, 6(1), 55–63.
- Koswara, S. (2016). *Teknologi Pengolahan Roti*. *Nachrichten Aus Der Chemie*, 64(7–8), 793. <https://doi.org/10.1002/nadc.20164054487>
- Kuester, E., & Williams, S. T. (1964). Production of Hydrogen Sulfide By Streptomycetes and Methods for Its. *Applied Microbiology*, 12(1), 46–52.
- Kurtznasiman, C. P., & Fell, J. W. (2006). Yeast Systematics and Phylogeny — Implications of Molecular Identification Methods for Studies in Ecology. In *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts* (pp. 11–30).
- Kurtzman, C. P., & Fell, J. W. (1998). *The Yeast: A Taxonomy Study*. Amsterdam: Elsevier.
- Kurtzman, C. P. & Sugiyama, J. (2001). Ascomycetous yeasts and yeastlike taxa. *Systematics and Evolution* (pp. 179-200). Springer. Berlin. Heidelberg.
- Lachance, M. A., Daniel, H. M., Meyer, W., Prasad, G. S., Gautam, S. P., & Boundy-Mills, K. (2003). The D1/D2 domain of the large-subunit rDNA of the yeast species *Clavispora lusitaniae* is unusually polymorphic. *FEMS yeast research*, 4(3), 253-258
- Laztity R. 2000. *The Chemistry of Cereal Proteins*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida
- Liu, I. H., & Cho, D. G. (2010). Chemistry of bread aroma: A review. *Food*

- Science and Biotechnology*, 19(3), 575–582. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0081-3>
- Nasreen, Z., Jabeen, S., Shafique, M., Usman, S., & Yaseen, T. (2014). Production of alcohol by yeast isolated from apple, orange and banana. *International Journal of Food and Nutrition Sciences*, 1(2), 16–19.
- Nagai, T., Kai, N., Tanoue, Y., & Suzuki, N. (2018). Characteristics of Rice Flour Breads Using Yeast Isolated from Pear Red Bartlett Fruits. *Journal of Agricultural Science*, 10(3), 16. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n3p16>
- Nasir, A., Rahman, S. S., Hossain, M. M., & Choudhury, N. (2017). Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* from pineapple and orange and study of metal's effectiveness on ethanol production. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 7(1), 76–91. <https://doi.org/10.1556/1886.2016.00035>
- Ma'ruf, A. Z. A. A. (2011). Leavening ability of yeast isolated from different local fruits in bakery product. *Sains Malaysiana*, 40(12).
- Martos, M. A., Zubreski, E. R., Garro, O. A., & Hours, R. A. (2013). Production of Pectinolytic Enzymes by the Yeast *Wickerhamomyces anomalus* Isolated from Citrus Fruits Peels. *Biotechnology Research International*, 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/435154>
- Martiningsih, E. (2007). Pemanfaatan Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca* L. Var *Sapientum*) Sebagai Substrat Fermentasi Etanol Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Dissertation
- Maryam, B. S, U. (2017). Screening of fermentative potency of yeast isolates from indigenous sources for dough leavening. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2(1).
- Mendes-Ferreira, A., Mendes-Faia, A., & Leão, C. (2002). Survey of hydrogen sulphide production by wine yeasts. *Journal of Food Protection*, 65(6), 1033–1037. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.6.1033>
- Moede, F. H., Gonggo, S. T., & Ratman, R. (2017). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol dari Pati Ubi Jalar Kuning (*Ipomea batata* L.). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), 86.

- Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Di Domenico, A., Dusemund, B., Frutos, M. J., Lambré, C. (2017). Re-evaluation of sorbitan monostearate (E 491), sorbitan tristearate (E 492), sorbitan monolaurate (E 493), sorbitan monooleate (E 494) and sorbitan monopalmitate (E 495) when used as food additives. *EFSA Journal*, 15(5). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4788>
- Muchtadi D. (2009). *Prinsip, Proses dan Teknologi Pangan*. Bandung: Penerbit Alfabeta
- Mudjajanto E. S dan Yulianti. (2004). *Membuat Aneka Roti*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Murtando, H., Sahiri, N., & Madauna, I. (2016). Identifikasi Karakteristik Morfologi Dan Anatomi Tanaman Jeruk Lokal (*Citrus Sp*) Di Desa Karya Agung Dan Karya Abadi. *Agrotekbis*, 4(6), 642–649.
- Obasi, whong, Ado, A. (2017). Leavening Ability Of Some Wild Yeasts And The Mutant, 2(1), 596–608.
- Periadnadi, P., Sari, D. K., & Nurmiati, N. (2018). Isolasi dan keberadaan khamir potensial pemfermentasi nira aren (*Arenga pinnata merr.*) dari dataran rendah dan dataran tinggi di sumatera barat. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 4(1), 29.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S., (1988). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pomeranz dan Shellenberger. (1971). *Bread Science dan Technology*. The AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut
- Rashid, A, N, M., Dash, B., & Nurul, C. (2013). Exploration of Potential Baker ' s Yeast from Sugarcane Juice : Optimization and Evaluation. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16(13).
- Rasud, Y., Ulfa, S., & Baharia. (2015). Pertumbuhan Jeruk Manis (*Citrus sinensis L.*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Sitokinin Secara In Vitro. *J. Agroland*, 22(3), 197–204.
- Satyanaraya, & Kunze. (2009). *Yeast biotechnology: diversity and aolications*. New Delhi: Springer Science.
- Shabrina, N. (2017). Pengaruh Subtitusi Tepung Terigu Dengan Tepung Kacang

Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L) Dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Roti Tawar. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.

Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir al-misbah*. Lentera Hati. Jakarta

Shinde, V. A., & Patil, R. B. (2016). Production of Ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* Using Orange Peels and Banana Peels. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(8), 280–284. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.508.029>

Struyf, N., Van der Maelen, E., Hemdane, S., Verspreet, J., Verstrepen, K. J., & Courtin, C. M. (2017). Bread Drough and Baker's Yeast: An Uplifting Synergy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 850–867. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12282>

Suryaningsih, V., Ferniah, R. S., & Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik morfologi, biokimia, dan molekuler isolat khamir ik-2 hasil isolasi dari jus buah sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Biologi*, 7(1), 18–25. R

Subandi. (2010). *Mikrobiologi*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.

Thapa, S., Shrestha, R., Tirewal, A., Sharma, A., & K.C., Y. (2015). Isolation of yeast from soil and different food samples and its characterization based on fermentation. *Nepal Journal of Biotechnology*, 3(1), 29–34. <https://doi.org/10.3126/njb.v3i1.14226>

Tobing, D., Bayu, E., & LAM Siregar. (2013). Identifikasi karakter morfologi dalam penyusunan deskripsi jeruk siam (*Citrus nobilis*) di beberapa daerah kabupaten karo. *agroekoteknologi*, 2(1).

Tortora, G. J., Funke, B. R. & Case, C. L., (2010). *Microbiology an introduction* 10th edition, Pearson edition, Inc., Publishing as Pearson Benjamins Cummings, San Francisco, 1301 Sansome.

Tsegaye, Z. (2016). Isolation, identification and characterization of ethanol tolerant yeast species from fruit for production of bio-ethanol. *International Journal of Modern Chemistry And Applied Science*, 3(3).

Turker, M. (2009). Yeast biotechnology: Diversity and applications. *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*, (April 2014), 1–744.

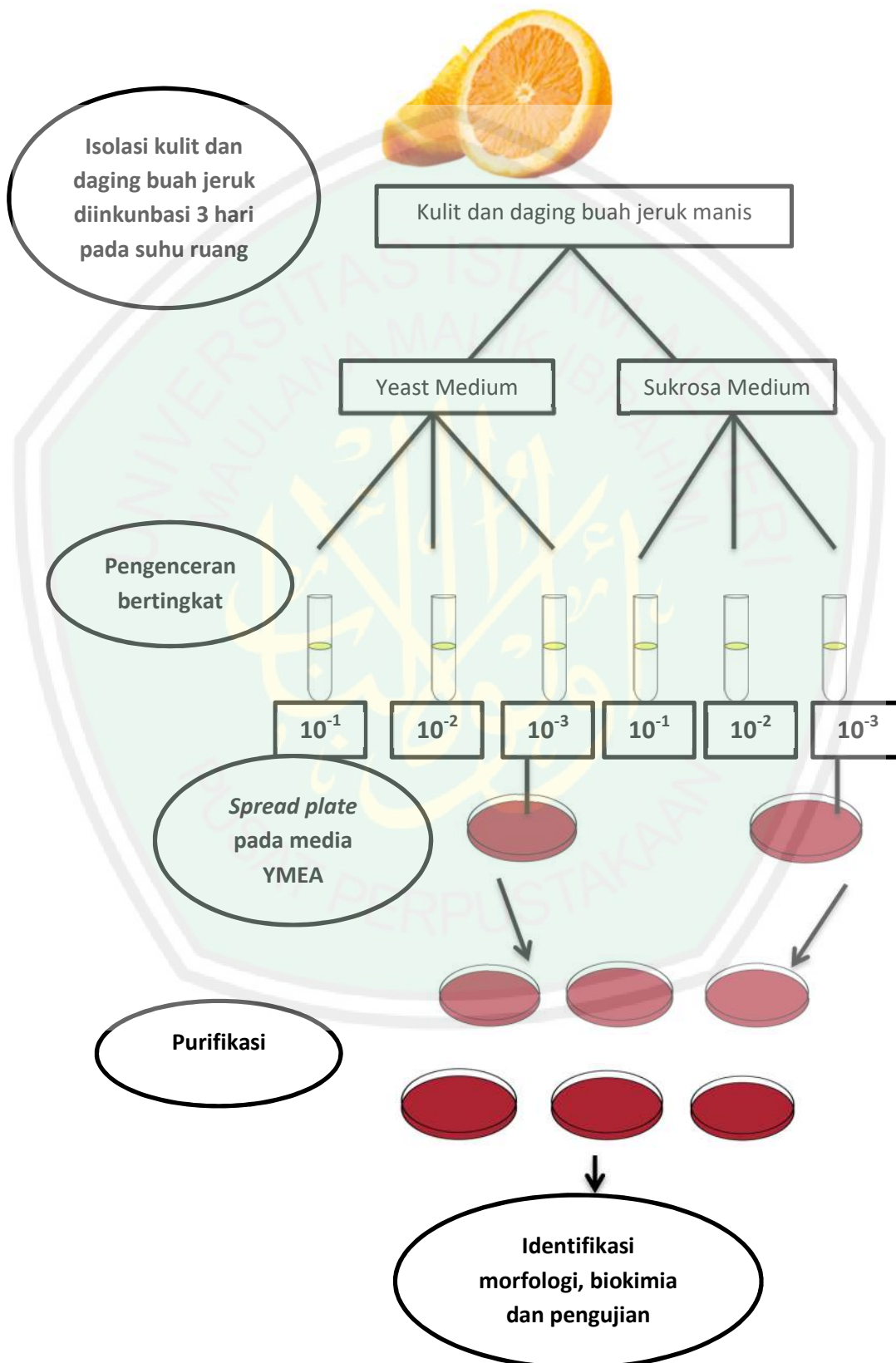
<https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8292-4>

- Utama, G. L., Tyagita, Krissanti, I., Wira, D. W., & Balia, R. L. (2019). Stress tolerance Yeast strain from papaya wastes for bioethanol production. *International Journal of GEOMATE*, 17(61), 97–103.
- Wang, J. S., Zhao, M. M., Zhao, Q. Z., Bao, Y., & Jiang, Y. M. (2007). Characterization of hydrolysates derived from enzymatic hydrolysis of wheat gluten. *Journal of food science*, 72(2), C103-C107.
- Watanabe, M., Uchida, N., Fujita, K., Yoshino, T., & Sakaguchi, T. (2016). Bread and effervescent beverage productions with local microbes for the local revitalization. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 6(3), 381–384.
- Weber, W. and. (2007). *Introduction to Fungi*. England: Cambridge University Press.
- Wieser, H., & Koehler, P. (2006). The biochemical basis of celiac disease. *Cereal Chemistry*, 85(1), 1-13.
- Widiastutik, N., & Alami, H. (2014). Isolasi dan Identifikasi Yeast dari Rhizosfer. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 3(1), 11–16.
- Worang, R.L. (2003). Makalah Individu Pengantar Falsafah Sains (PPS702) Bogor: Program Pascasarjana/S3 Institut Pertanian Bogor
- Wusnah, W., Bahri, S., & Hartono, D. (2019). Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* B.C) secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 8(1), 48. <https://doi.org/10.29103/jtku.v8i1.1915>
- Yayath.(2009). *Ketahanan Pangan*. Yogyakarta: UGM Press
- Yousif, M.R. and Safaa, M. F. (2014). Effect of Using Different Types of Yeasts on the Quality of Egyptian Balady Bread. *Journal of American Science*, 10(2).
- Zarei, O., Dastmalchi, S., & Hamzeh-Mivehroud, M. (2016). A simple and rapid protocol for producing yeast extract from *Saccharomyces cerevisiae* suitable for preparing bacterial culture media. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15(4), 907–913.
- Zunainda, & Alami. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Yeast dari Rhizosphere

Avicennia Marina Wonorejo. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 3(1), 1–4.



Lampiran 1. Proses isolasi khamir dari kulit dan daging buah jeruk manis.



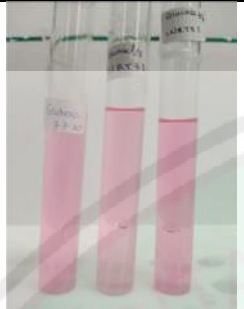


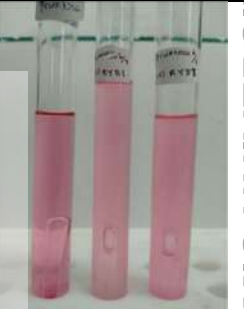

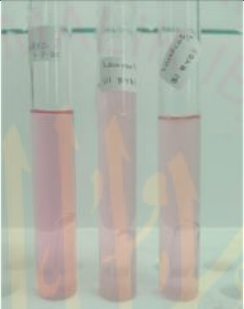




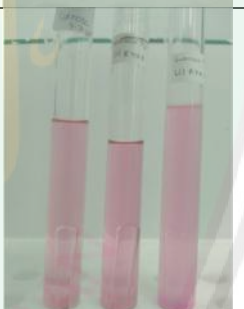
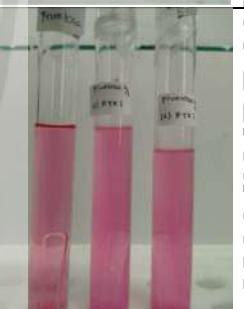
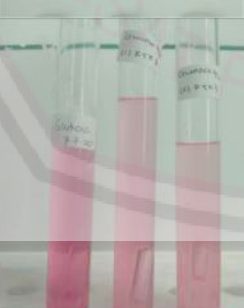


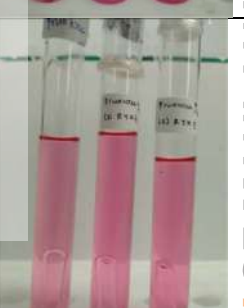
Lampiran 2. Hasil Fermentasi Karbohidrat

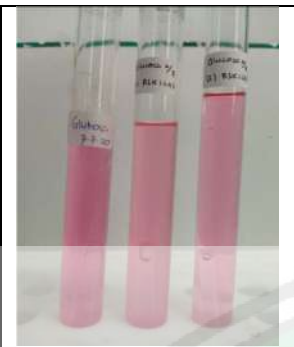
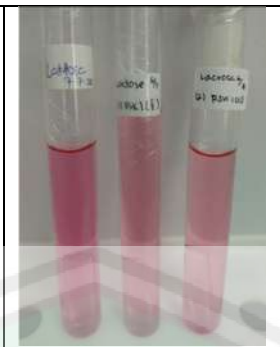
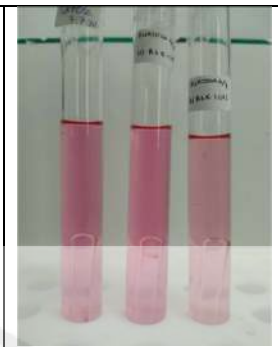
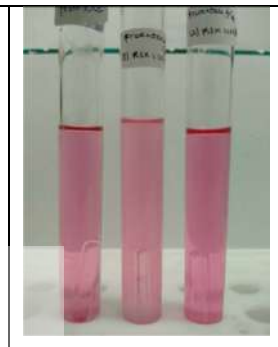
NO	JENIS GULA	NAMA ISOLAT	ULANGAN	HARI KE						
				1	2	3	4	5	6	7
1	GLUKOSA	RYB 1	1	-	P	P	P	P+	P+	P+
2			-	-	-	-	-	+	+	
3		RYB 2	1	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
4			2	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
5		RYK 1	1	-	-	K	K	K	K	K+
6			2	-	PK	PK	PK	PK	PK	PK+
7		RYK 2	1	-	K+	K+	K+	K++	K++	K++
8			2	-	K+	K+	K+	K+	K++	K++
		RSK 1	1	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
			2	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
9	LAKTOSA	RYB 1	1	-	-	-	-	-	-	-
10			2	-	-	-	-	-	-	-
11		RYB 2	1	-	-	-	-	-	-	-
12			2	-	-	-	-	-	-	-
13		RYK 1	1	-	-	-	-	-	-	-
14			2	-	-	-	-	-	-	-
15		RYK 2	1	-	-	-	-	-	-	-
16			2	-	-	-	-	-	-	-
		RSK 1	1	-	-	-	-	-	-	-
			2	-	-	-	-	-	-	-
17	FRUKTOSA	RYB 1	1	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
18			2	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
19		RYB 2	1	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
20			2	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
21		RYK 1	1	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
22			2	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
23		RYK 2	1	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
24			2	-	K+	K+	K+	K+	K+	K+
		RSK 1	1	-	K+	K+	K+	K++	K++	K++
			2	-	-	-	-	-	-	-
25			1	-	-	-	-	-	-	

26	SUKROSA	RYB 1	2	-	-	-	-	-	-	-
27			RYB 2	1	-	-	-	-	-	-
28		2		-	-	-	-	-	-	-
29		RYK 1	1	-	-	-	-	-	-	-
30			2	-	-	-	-	-	-	-
31		RYK 2	1	K+	K+	K+	K+	K+	K+	K+
32			2	K+	K+	K+	K+	K+	K+	K+
		RSK 1	1	-	-	-	-	-	-	-
			2	P	P	P	P	P	P	P



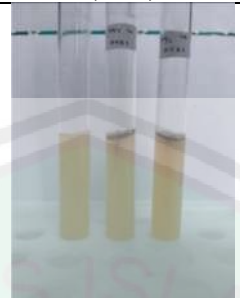
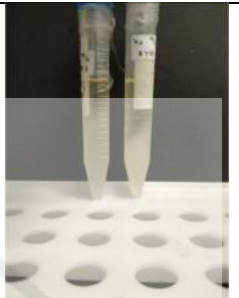

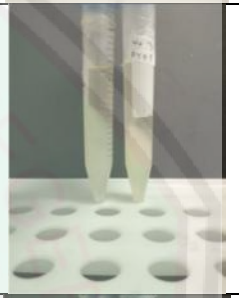

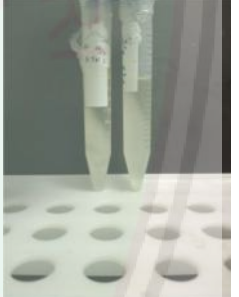
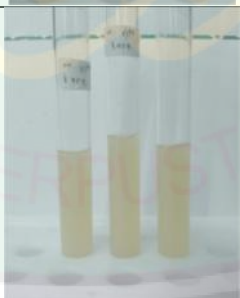
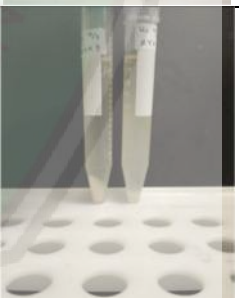
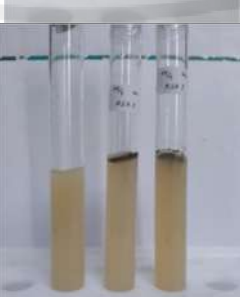

Lampiran 3. Gambar Hasil Fermentasi Karbohidrat

No	Kode Isolat	Jenis Gula			
		Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Fruktosa
1.	RYB 1				
2.	RYB 2				
3.	RYK 1				
4.	RYK 2				














5.	RSK 1				
----	-------	---	---	--	---



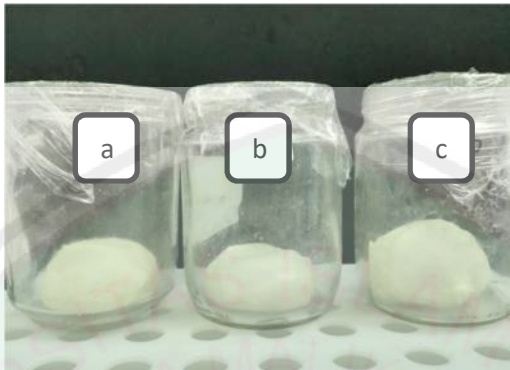


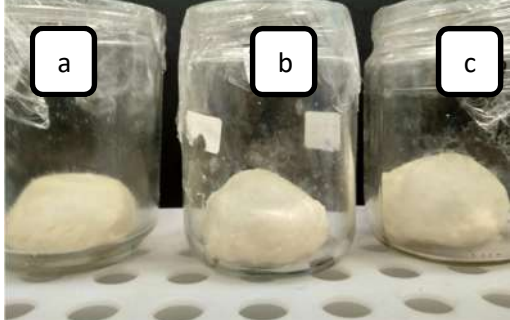
Lampiran 4. Hasil Uji Hidrogen Sulfida (H₂S) dan Flokulas

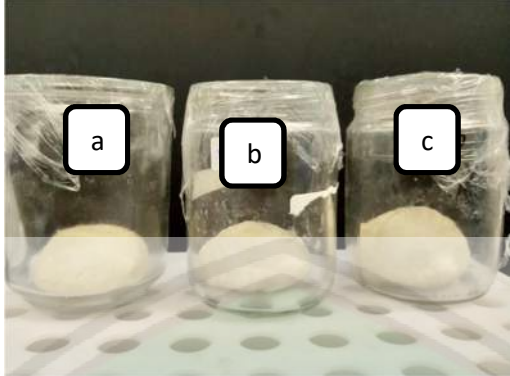
No	Kode Isolat	Hasil Uji Hidrogen Sulfida (H ₂ S)	Hasil Uji Flokulasi
1.	RYB 1		
2.	RYB 2		
3.	RYK 1		
4.	RYK 2		
5.	RSK 1		

Lampiran 5. Hasil Aktivasi Sel Khamir

Kode Isolat	Hasil Aktivasi Sel	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
RYB 1			
RYB 2			
RYK 1			
RYK 2			
RSK 1			

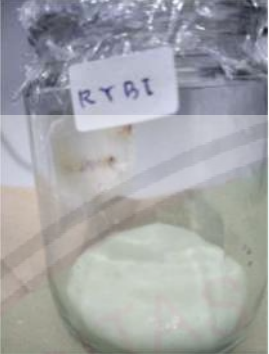











Lampiran 6. Proses Pengembangan Adonan 1 jam Pertama

Kode Isolat	Adonan Roti	Keterangan
RYB 1		<ul style="list-style-type: none"> a. Kontrol Negatif b. Isolat RYB-1 c. Kontrol Positif
RYB 2		<ul style="list-style-type: none"> a. Kontrol Negatif b. Isolat RYB-2 c. Kontrol Positif
RYK 1		<ul style="list-style-type: none"> a. Kontrol Negatif b. Isolat RYK-1 c. Kontrol Positif
RYK 2		<ul style="list-style-type: none"> a. Kontrol Negatif b. Isolat RYK-2 c. Kontrol Positif

RSK 1		<ul style="list-style-type: none">a. Kontrol Negatifb. Isolat RSK-1c. Kontrol Positif
-------	--	---






Lampiran 7. Proses Pengembangan Adonan Selama 6 jam

Kode Isolat	Adonan Roti	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
RYB 1			
RYB 2			
RYK 1			
RYK 2			



Lampiran 8. Proses Pengembangan Adonan Selama 12 jam

Kode Isolat	Adonan Roti	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
RYB 1			
RYB 2			
RYK 1			
RYK 2			
RSK 1			



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Bina Margareta
NIM : 16620081
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2019/2020
Pembimbing : Dr. Hj Ulfah Utami, M.Si
Judul Skripsi : Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit Dari Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Sebagai Pengembang Adonan Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	16/12/2019	Judul dan Kerangka Penelitian	Uf
2.	23/01/2020	Konsultasi BAB I	Uf
3.	04/02/2020	Konsultasi BAB II	Uf
4.	07/02/2020	Revisi BAB II dan Konsultasi BAB III	Uf
5.	12/02/2020	ACC BAB I, II dan III	Uf
6.	16/08/2020	Konsultasi data BAB IV	Uf
7.	03/09/2020	Revisi BAB IV	Uf
8.	16/09/2020	Revisi BAB IV	Uf
9.	30/09/2020	Konsultasi Perbaikan BAB IV dan BAB V	Uf
10.	07/10/2020	ACC Skripsi	Uf

Malang, 7 Oktober 2020

Pembimbing Skripsi

Dr. Hj. Ulfah Utami., M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002

Ketua Program Studi,



Dr. Erika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Bina Margareta
NIM : 16620081
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ Genap TA 2019/2020.
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
Judul Skripsi : Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Sebagai Pengembang Adonan Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	30 Januari 2020	Konsultasi Integrasi Agama Bab 1	
2.	2 Februari 2020	ACC Integrasi Agama Bab 1	
3.	1 Oktober 2020	Konsultasi Integrasi Agama Bab IV	
4.	5 Oktober 2020	Konsultasi Integrasi Agama Bab IV	
5.	6 Oktober 2020	ACC Integrasi Agama Bab IV	

Pembimbing Skripsi,

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIP. 19890113 20180201 1 244

Malang, 7 Oktober 2020
Ketua Program Studi,



Dr. Erika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002