

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KHAMIR PADA BUAH SALAK
PONDOH (*Salacca edulis* Reinw.) SEBAGAI KANDIDAT PENGEMBANG
ROTI**

SKRIPSI

Oleh:

YEKTI INDRIANA SARI

NIM. 15620034



**PROGAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KHAMIR PADA BUAH SALAK
PONDOH (*Salacca edulis* Reinw.) SEBAGAI KANDIDAT PENGEMBANG
ROTI**

SKRIPSI

Oleh:

YEKTI INDRIANA SARI

NIM. 15620034

Diajukan Kepada :

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**PROGAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KHAMIR PADA BUAH SALAK
PONDOH (*Salacca edulis* REINW) SEBAGAI KANDIDAT
PENGEMBANG ROTI**

SKRIPSI

Oleh :

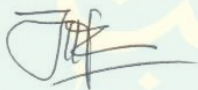
Yekti Indriana Sari

NIM. 15620034/S-1

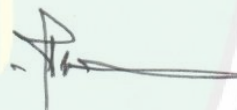
**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:
Tanggal 17 November 2020**

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



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



Dr. Ahmad Barizi, MA
NIP. 19731212 199803 1 008

**Mengetahui
Ketua Program Studi Biologi**



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

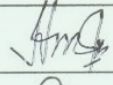
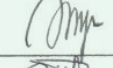
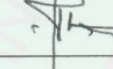
**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KHAMIR PADA BUAH SALAK
PONDOH (*Salacca edulis* Reinw.) SEBAGAI KANDIDAT PENGEMBANG
ROTI**

SKRIPSI

Oleh:
YEKTI INDRIANA SARI
NIM 15620034

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

Tanggal, 02 Desember 2020

Penguji Utama	<u>Ir. Liliek Harianie AR, M.P</u> NIP. 19620901 199803 2 001	()
Ketua Penguji	<u>Drs. Nur Kusmiyati. M. Si</u> NIP. 19890816 20160108 2 061	()
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	()
Anggota Penguji	<u>Dr. Ahmad Barizi, MA</u> NIP 19731212 199803 1 008	()

Mengetahui dan Mengesahkan

Ketua Program Studi Biologi




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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda di bawah ini:

Nama : Yekti Indriana Sari
 NIM : 15620034
 Jurusan : Biologi
 Fakultas : Sains dan Teknologi
 Judul Penelitian : Isolasi dan Karakterisasi Khamir Pada Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis*) Sebagai Kandidat Pengembang Roti

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

Malang, 28 Desember 2020
 Yang membuat pernyataan



Yekti Indriana Sari
NIM 15620034

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

لَهُ مُعَقِّبَاتٌ مِّنْ بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ
حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ وَمَا لَهُمْ مِّنْ دُونِهِ مِنْ
وَالٍ ۝

“Artinya: **Bagi manusia ada malaikat-malaikat yang selalu mengikutinya bergiliran, di muka dan di belakangnya, mereka menjaganya atas perintah Allah. Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri. Dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, maka tak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia (QS. Ar-Ra’d [13]: 11).**”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya sederhana ini, kupersembahkan kepada:

Ayahanda dan Ibunda tercinta : Bapak Suntoro dan Ibu Sri Kuswari

**Saudara tercinta : Kakak (Hanna Citaning Arum) dan Adik (Annas
Annafi Bakti Darmawan)**

Calon suami : Mas Eman Suherman

Guru-guru dan Sahabatku dimanapun berada

Terimakasih tak terhingga, insyaAllah balasan syurga dari-Nya



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala 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 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. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.Si, selaku Ketua Progam Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus Dosen Wali yang telah membimbing dan memberikan motivasi agar penulis tetap semangat dalam menempuh studi di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Drs. Ulfah Utami M,Si. dan Bapak Dr. Ahmad Barizi, M.A selaku dosen pembimbing, karena atas bimbingan, petunjuk, pengarahan dan kesabaran beliau penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Segenap dosen, laboran dan staff administrasi jurusan Biologi yang telah meluangkan waktu, memberikan banyak ilmu dan informasi terkait skripsi ini.
6. Keluarga besar tercinta Bapak Suntoro dan Ibu Sri Kuswari serta mbak Hanna Citaning Arum dan adik Annas Annafi Bakti Darmawan yang selalu menjadi sumber kekuatan dalam setiap langkah dan dengan sepenuh hati memberikan

dukungan moril maupun materil serta ketulusan do'a yang selalu terpanjatkan sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

7. Mas Eman Suherman yang telah meluangkan waktu sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
8. Keluarga Besar Biologi, khususnya Genetist Angkatan 2015 yang telah berbagi kebersamaan, baik di waktu suka maupun duka selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi ini.
9. Teman-teman penelitian selama di laboratorium yang saling membantu dan mendukung sehingga terselesaikannya penelitian ini dengan baik.
10. Keluarga Besar KSR PMI Unit UIN Malang yang telah kebersamai proses untuk belajar berorganisasi selama menempuh pendidikan di kampus ini.
11. Teman-teman di Kos Catalonia, Kontrakan, Kos Pak Munir yang telah kebersamai baik suka maupun duka selama di rantauan kota Malang ini.
12. Keluarga besar Asrama Bustanul Qur'an Malang, khususnya Ustadz Ulil dan Ustadzah Inayah yang tak kenal lelah dalam memberikan tauladan dan nasihat serta do'a yang tulus bagi kami sebagai santrinya.
13. Teman-teman Bustanul Qur'an 2 (MB9) yang telah kebersamai untuk semangat dalam mengaji dan semangat menyelesaikan skripsi ini.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas dukungan, semangat, saran, do'a dan pemikiran sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

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, 21 Desember 2020

Yekti Indriana Sari

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
ملخص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Khamir	8
2.2 Morfologi Khamir	9
2.3 Fisiologi Khamir	10
2.4 Habitat Khamir	11
2.5 Taksonomi Khamir	12
2.5.1 Kelas Basidiomycetes	13
2.5.1.1 Subkelas Hymenomycetes	13
2.5.1.2 Subkelas Uredinomycetes	14
2.5.1.3 Subkelas Ustilaginomycetes	14
2.5.2 Kelas Ascomycetes	14
2.5.2.1 Subkelas Archiascomycetes	14
2.5.2.2 Subkelas Euascomycetes	15
2.5.2.3 Subkelas Hemiascomycetes	15
2.6 Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw)	16
2.6.1 Buah Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw)	16
2.7 Uji Biokimia Khamir Sebagai Kandidat <i>Baker Yeast</i>	19
2.7.1 Fermentasi Karbohidrat	19
2.7.2 Toleransi Etanol	20
2.7.3 Toleransi Suhu	21
2.7.4 Produksi H ₂ S	21

2.7.5 Flokulasi.....	22
2.8 Kandidat Khamir Sebagai Ragi Pengembang Roti	22
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1 Rancangan Penelitian.....	24
3.2 Waktu dan Tempat	24
3.3 Alat dan Bahan.....	25
3.3.1 Alat.....	25
3.3.2 Bahan	25
3.4 Prosedur Penelitian	25
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	25
3.4.2 Pembuatan Media.....	25
3.4.2.1 YMB	25
3.4.2.2 YMEA	26
3.4.2.3 Glucose Yeast Peptone Broth (GYPB) Konsentrasi 50%	26
3.4.2.4 Yeast Peptone Glucose Broth (YPGB).....	26
3.4.2.5 Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA)	27
3.4.2.6 Lead Acetate	27
3.4.2.7 Media Fermentasi Karbohidrat.....	27
3.4.3 Prosedur Isolasi Khamir.....	28
3.4.4 Purifikasi	28
3.4.5 Pengamatan Morfologi Mikroskopik dan Makroskopik Khamir....	29
3.4.6 Uji <i>Screening</i> Biokimia.....	29
3.4.6.1 Kemampuan Fermentasi Karbohidrat.....	29
3.4.6.2 Uji Toleransi YPG Konsentrasi Gula 50%.....	30
3.4.6.3 Uji Toleransi Etanol	30
3.4.6.4 Uji Toleransi Suhu.....	31
3.4.6.5 Uji Hidrogen Sulfida (H ₂ S).....	31
3.4.6.6 Uji Flokulasi	32
3.4.7 Uji Pengembang Roti.....	32
3.5 Analisa Data	33
3.6 Desain Penelitian	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Karakterisasi Morfologi Khamir dari Isolasi Buah Salak Pondoh.....	34
4.1.1 Isolat Khamir Kode YIS-1	36
4.1.2 Isolat Khamir Kode YIS-2	38
4.1.3 Isolat Khamir Kode YIS-3	39
4.1.4 Isolat Khamir Kode YIS-4.....	41
4.1.5 Isolat Khamir Kode YIS-5	42
4.1.6 Isolat Khamir Kode YIS-6.....	44
4.1.7 Isolat Khamir Kode YIS-7	45
4.1.8 Isolat Khamir Kode YIS-8.....	47
4.2 Kemampuan Khamir Berdasarkan Karakterisasi Biokimiawi	48
4.2.1 Fermentasi Karbohidrat (Glukosa, Fruktosa, Sukrosa, Laktosa dan Galaktosa.	48

4.2.2 Kemampuan Khamir Buah Salak Pondoh Berdasarkan Toleransi Yeast Peptone Glucose Broth YPG Broth Konsentrasi 50%.....	52
4.2.3 Kemampuan Khamir Berdasarkan Toleransi Terhadap Etanol	54
4.2.4 Kemampuan Khamir Berdasarkan Toleransi Terhadap Suhu	57
4.2.5 Kemampuan Khamir Berdasarkan Produksi Hidrogen Sulfida	60
4.2.6 Kemampuan Khamir Dalam Membentuk Flokulan.....	62
4.3 Kemampuan Khamir Berdasarkan Pengembangan Adonan Roti	64
4.3.1 Dialog Penelitian Khamir Sebagai Kandidat Pengembang Roti Dalam Perspektif Islam.....	68
BAB V PENUTUP	71
5.1 Kesimpulan	71
5.2 Saran	71
DAFTAR PUSTAKA.....	72
LAMPIRAN.....	80



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bentuk- bentuk Sel Khamir.....	9
Gambar 2.2 Tanaman Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw).....	15
Gambar 2.3 Buah Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw)	17
Gambar 2.4 Anatomi Buah Salak Pondoh	18
Gambar 2.5 Bagan Jalur Utama Fermentasi Piruvat.....	19
Gambar 4.1 a) Sel Isolat YIS-1 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-1, c) Pertunasan Monopolar <i>Pichia fluxuum</i>	37
Gambar 4.2 a) Koloni isolat YIS-1 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-1, c) <i>Pichia fluxuum</i> JCM 21985	38
Gambar 4.3 a)Sel Isolat YIS-2 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-2, c) Pertunasan Multilateral <i>Saccharomyces disporus</i>	39
Gambar 4.4 a)Koloni isolat YIS-2 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-2, c) <i>Saccharomyces disporus</i> JCM 21985	39
Gambar 4.5 a)Sel Isolat YIS-3 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-3, c) Pertunasan Multilateral <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	40
Gambar 4.6 a)Koloni isolat YIS-3 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-3, c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 21985	41
Gambar 4.7 a)Sel Isolat YIS-4 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-4, c) Pertunasan Multilateral <i>Saccharomyces disporus</i>	42
Gambar 4.8 a)Koloni isolat YIS-4 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-4, c) <i>Saccharomyces disporus</i> JCM 21985	42
Gambar 4.9 a)Sel Isolat YIS-5 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-5, c) Pertunasan Multilateral <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	43
Gambar 4.10 a)Koloni isolat YIS-5 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-5, c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 21985	44
Gambar 4.11 a)Sel Isolat YIS-6 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-6, c) Pertunasan Multilateral <i>Candida globosa</i>	45
Gambar 4.12 a)Koloni isolat YIS-6 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-6, c) <i>Candida globosa</i> JCM 21985	45
Gambar 4.13 a)Sel Isolat YIS-7 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-7, c) Pertunasan Multilateral <i>Pichia sargantensis</i>	46
Gambar 4.14 a)Koloni isolat YIS-7 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-7, c) <i>Pichia sargantensis</i> JCM 21985	47
Gambar 4.15 a)Sel Isolat YIS-8 Perbesaran 1000x, b)Pertunasan Sel Isolat YIS-8, c) Pertunasan Multilateral <i>Debaryomyces fransiscae</i>	48
Gambar 4.16 a)Koloni isolat YIS-8 Perbesaran 11x, b)Koloni Isolat YIS-8, c) <i>Debaryomyces fransiscae</i> JCM 21985	48
Gambar 4.17 Hasil Adonan Roti Setelah di panggang	66

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Buah Salak Pondoh Dalam Setiap 100 Gram	18
Tabel 4.1 Morfologi Mikroskopis Khamir	34
Tabel 4.2 Morfologi Makroskopis Khamir	36
Tabel 4.3 Uji Fermentasi Karbohidrat Setelah Masa Inkubasi 7 hari	49
Tabel 4.4 Indikator Perubahan Asam Pada Hasil Fermentasi Karbohidrat	50
Tabel 4.5 Pertumbuhan pada Uji YPG Broth Gula 50%	53
Tabel 4.6 Toleransi Etanol Pada Isolat Khamir Nilai OD 600 nm	55
Tabel 4.7 Pertumbuhan Isolat Khamir pada Toleransi Etanol Media YPGB	55
Tabel 4.8 Toleransi Suhu Pada Isolat Khamir Nilai OD 600 nm.....	58
Tabel 4.9 Pertumbuhan Isolat Khamir Pada Toleransi Suhu Media YPGB	58
Tabel 4.10 Pertumbuhan Isolat Khamir Pada Toleransi Suhu Media YPPGA.....	58
Tabel 4.11 Pertumbuhan Isolat Khamir Pada Media Miring Hidrogen Sulfida	61
Tabel 4.12 Pertumbuhan Isolat Khamir Pada Media Flokulasi	62
Tabel 4.13 Kemampuan Khamir Berdasarkan Uji pengembang roti.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Khamir Hasil Isolasi dari Buah Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i>).....	80
Lampiran 2. Hasil Fermentasi Karbohidrat Hari Ke-7.....	81
1. Hasil Fermentasi Glukosa	81
2. Hasil Fermentasi Laktosa	83
3. Hasil Fermentasi Galaktosa.....	84
4. Hasil Fermentasi Sukrosa.....	86
5. Hasil Fermentasi Fruktosa.....	87
Lampiran 3. Hasil Fermentasi Karbohidrat dan Uji pH Hari ke-8.....	89
1. Hasil Fermentasi Glukosa (hari ke-8) dan uji pH	89
2. Hasil Fermentasi Laktosa (hari ke-8) dan uji pH	89
3. Hasil Fermentasi Galaktosa (hari ke-8) dan uji pH.....	89
4. Hasil Fermentasi Sukrosa (hari ke-8) dan uji pH.....	90
5. Hasil Fermentasi Fruktosa (hari ke-8) dan uji pH.....	90
Lampiran 4. Hasil Pengamatan Toleransi Terhadap Gula YPG Broth 50%.....	90
Lampiran 5. Hasil Pengamatan Toleransi Terhadap Etanol.....	92
Lampiran 6. Hasil Pengamatan Toleransi Terhadap Suhu.....	93
Lampiran 7. Hasil Pengamatan Terhadap Produksi Hidrogen Sulfida	94
Lampiran 8. Hasil Pengamatan Khamir Terhadap Flokulasi	96
Lampiran 9. Hasil Pengamatan Khamir Sebagai Pengembang Roti.....	98
Grafik 4.1 Peningkatan Volume Adonan Roti Sebelum Dipanggang.....	65

ABSTRAK

Sari, Yekti Indriana. 2020. Isolasi Dan Karakterisasi Khamir Pada Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw) Sebagai Kandidat Pengembang Roti. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Dr. Ulfah Utami, M.Si. Pembimbing Agama: Dr. Ahmad Barizi, M. A

Saat ini, ragi yang digunakan oleh industri roti di Indonesia masih impor, antara lain: ragi merk Fermipan, Saf-instan (Perancis), ragi Mauripan (Australia), ragi Gold Pakmaya (Turki). Ragi yang digunakan umumnya menggunakan galur murni dari spesies khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Khamir merupakan mikrofungi uniseluler eukariotik yang memiliki berbagai potensi, salah satunya sebagai pengembang roti. Penelitian tentang isolasi khamir dari buah lokal untuk dimanfaatkan sebagai kandidat pengembang roti masih belum banyak dilakukan di Indonesia. Eksplorasi khamir pada buah lokal salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw) dapat dimanfaatkan sebagai sumber alternatif khamir *indigeneous* asli dari Indonesia.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis khamir yang terdapat pada buah salak pondoh (*Salacca edulis*) berdasarkan karakter morfologi, mengetahui kemampuan khamir berdasarkan uji *screening* biokimia dan *uji pengembang roti* sebagai kandidat pengembang roti. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu: isolasi, purifikasi, karakterisasi khamir secara makroskopik dan mikroskopik, uji fermentasi karbohidrat, toleransi glukosa 50%, toleransi etanol 10%, 13% dan 15%, toleransi suhu 30°C, 37°C dan 45°C, flokulasi, hidrogen sulfida dan uji pengembang roti. Isolat khamir dengan kemampuan *uji pengembang roti* terbaik dipilih sebagai kandidat pengembang roti. Hasil isolasi dan karakterisasi didapatkan delapan isolat khamir yaitu YIS-1, YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6, YIS-7 dan YIS-8.

Berdasarkan pengamatan morfologi, bahwa semua isolat khamir mempunyai kemiripan yang sama dengan anggota subkelas *Hemiascomycetes* dalam kelas *Ascomycetes*. Berdasarkan uji fermentasi karbohidrat (fruktosa, glukosa, sukrosa, laktosa dan galaktosa) didapatkan enam isolat khamir terbaik yaitu isolat YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6 dan YIS-7, pada uji toleransi glukosa 50% didapatkan empat isolat khamir terbaik yaitu YIS-2, YIS-4, YIS-6 dan YIS-8, pada uji hidrogen sulfida didapatkan dua isolat khamir terbaik yaitu isolat YIS-1 dan YIS-6, semua isolat khamir toleran terhadap media konsentration etanol 10%, 13% dan 15% dan toleran terhadap suhu 30°C dan 37°C, dan semua isolat khamir memiliki kemampuan untuk flokulasi. Berdasarkan *uji pengembang roti*, bahwa isolat khamir terbaik dalam menumbuhkan adonan roti yaitu isolat YIS-3 dan YIS-4, sedangkan isolat khamir terbaik setelah pemanggangan adonan roti yaitu isolat YIS-4 dan YIS-7.

Kata Kunci: Isolasi khamir, buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw), uji *screening* biokimia, uji pengembang roti, kandidat pengembang roti

ABSTRACT

Sari, Yekti Indriana. 2020. The Yeast Isolation and Characterization in Salak Pondoh (*Salacca edulis Reinw*) as a Candidate for Bread Developer. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim of Malang. Advisor: Dr. Ulfah Utami, M.Si. Religious Advisor: Dr. Ahmad Barizi, M. A.

Currently, the yeast that has been used by the bakery industry in Indonesia is still imported, including: yeast of *Fermipan* brand, *Saf-instant* (France), *Mauripan* yeast (Australia), *Gold Pakmaya* yeast (Turkey). The yeast generally uses pure strains from the yeast species of *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast is a eukaryotic unicellular micro fungus that has various potentials, one of which is as a bread developer. The research about the isolation of yeast from local fruit is to be used as a candidate for bread developer that has not been widely carried out in Indonesia. Exploration of yeast in the local fruit of *salak pondoh* (*Salacca edulis Reinw*) can be used as an alternative source of native indigenous yeast from Indonesia.

The purposes of the research were to determine the types of yeast found in *salak pondoh* (*Salacca edulis*) based on morphological characters, to determine the ability of yeast based on biochemical screening tests and *uji pengembang rotis* as candidates for bread developer. The research consisted of several stages, namely: isolation, purification, macroscopic and microscopic characterization of yeast, carbohydrate fermentation test, 50% glucose tolerance, 10% ethanol tolerance, 13% and 15% tolerance, temperature tolerance of 30°C, 37°C and 45°C, flocculation, sulfide hydrogen and the *uji pengembang roti*. Yeast isolates with the best *uji pengembang roti* ability were selected as candidates for bread developer. The isolation and characterization results were obtained eight yeast isolates, namely YIS-1, YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6 YIS-7 and YIS-8.

Based on morphological observations, all yeast isolates had the same similarities with members of the *Hemiascomycetes* sub-class in the *Ascomycetes* class. Based on the carbohydrate fermentation test (fructose, glucose, sucrose, lactose and galactose) were obtained the six best yeast isolates, namely isolates of YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6 and YIS-7, in the glucose tolerance test of 50% was obtained four best yeast isolates, namely YIS-2, YIS-4, YIS-6 and YIS-8, in the hydrogen sulfide test were obtained two best yeast isolates, namely YIS-1 and YIS-6 isolates, all yeast isolates were tolerant toward the concentration medium ethanol of 10%, 13% dan 15% and tolerant to temperatures of 30°C dan 37°C, and all yeast isolates had the ability to flocculate. Based on the *uji pengembang roti*, the best yeast isolates in growing bread dough were YIS-3 and YIS-4 isolates, the best yeast isolates after baking bread dough were YIS-4 and YIS-7 isolates.

Keywords: yeast Isolation, *salak pondoh* (*Salacca edulis Reinw*), biochemical screening test, dough leavening test, bread developer candidate.

مستخلص البحث

ساري، ييكتي إندريانا. 2020. العزل وتوصيف الخميرة في فاكهة سالاك بوندوه (*Salacca edulis Reinw*) كمكون مطور الخبز. رسالة الجامعي. قسم علم الحياة، كلية العلوم والتربية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف لعلم الحياة: الدكتور أولفة أوتمي، الماجستير. المشرف لعلم الدين: الدكتور أحمد باريزي، الماجستير.

حاليا لا تزال الخميرة المستخدمة في صناعة المخازن في إندونيسيا مستوردة، بما في ذلك: خميرة ماركة فرميفان، Saf-instan (الفرنسية)، خميرة ماوريفان (أستراليا)، خميرة Gold Pakmaya (تركي). كانت الخميرة المستخدمة عموما سلالات نقية من أنواع الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. الخميرة هي الفطريات الدقيقة أحادية الخلية حقيقية النواة لها إمكانات مختلفة، أحدها كمطور للخبز. هذا البحث يركز عن عزل الخميرة من الفاكهة المحلية لاستخدامها كمكون مطور الخبز لا يتم على نطاق واسع في إندونيسيا. استكشاف الخميرة في الفاكهة المحلية لسالاك بوندوه (*Salacca edulis Reinw*) كمصدر بديل لخميرة *indigeneous* الأصلية من إندونيسيا. الهدف من هذا البحث هو لتحديد أنواع الخميرة الموجودة في سالاك بوندوه (*Salacca edulis Reinw*) بناء على الصفات المورفولوجية، لتحديد قدرة الخميرة بناء على اختبارات الفرز البيوكيميائية واختبارات تخمير العجين كمكون مطور الخبز. يتكون هذا البحث من عدة مراحل، وهي: العزل والتنقية والتوصيف الميكروسكوبي والمجهري للخميرة، واختبار تخمير الكربوهيدرات، وتحمل الجلوكوز بنسبة 50٪، و 10٪، و 13٪، و 15٪ من تحمل الإيثانول، و 30 درجة مئوية، و 37 درجة مئوية، و 45 درجة مئوية، وتحمل درجة الحرارة، والتلبد، رقيق الهيدروجين واختبار تخمير العجين. تم اختيار عزلات الخميرة ذات أفضل قدرة على اختبار تخمير العجين كمكون لمطور الخبز. حصلت نتائج العزل والتوصيف على ثمانية عزلات خميرة، وهي YIS-1 و YIS-2 و YIS-3 و YIS-4 و YIS-5 و YIS-6 و YIS-7 و YIS-8. بناء على الملاحظات المورفولوجية، فإن جميع عزلات الخميرة لها نفس أوجه التشابه مع أعضاء الفئة الفرعية *Hemiascomycetes* في فئة *Ascomycetes*. بناء على اختبار تخمير الكربوهيدرات (الفركتوز والجلوكوز والسكرز واللاكتوز والجالاتوز)، تم الحصول على أفضل ستة عزلات خميرة، وهي YIS-2 و YIS-3 و YIS-4 و YIS-5 و YIS-6 و YIS-7، في اختبار تحمل الجلوكوز. و 50٪ حصل على أربع عزلات من أفضل الخميرة وهي YIS-2 و YIS-4 و YIS-6 و YIS-8، في اختبار كبريتيد الهيدروجين تم الحصول على اثنين من أفضل عزلات الخميرة، وهما YIS-1 و YIS-6، وكانت جميع عزلات الخميرة متحملة لوسط التركيز. الإيثانول 10٪ و 13٪ و 15٪ ومتحمل لدرجات حرارة 30 درجة مئوية و 37 درجة مئوية، وجميع عزلات الخميرة لديها القدرة على التلبد. بناء على اختبار تخمير العجين، كانت أفضل عزلات الخميرة في نمو عجين الخبز هي عزلات YIS-3 و YIS-4، بينما كانت أفضل عزلات الخميرة بعد عجين الخبز هي عزلات YIS-4 و YIS-7. الكلمات المفتاحية: عزل الخميرة، فاكهة سالاك بوندوه (*Salacca edulis Reinw*)، اختبار الفحص الكيميائي الحيوي، اختبار تخمير العجين، مكون لمطور الخبز.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara *megabiodiversity* karena merupakan satu diantara negara yang memiliki tingkat keragaman hayati tertinggi di dunia (Triyono, 2013). Negara *megabiodiversity* memiliki banyak keunikan ekosistem, endemis, genetik dan keanekaragaman jenis spesies. Keanekaragaman spesies mencakup beraneka ragam bentuk kehidupan diantaranya hewan, tumbuhan, gen maupun mikroorganisme (Sutoyo, 2010). Mikroorganisme memiliki jenis yang beranekaragam, satu diantaranya yaitu khamir. Khamir merupakan mikroorganisme mampu hidup di daerah ekstrim dan memiliki cakupan ekologi yang cukup luas (Purwitasari, 2004).

Khamir merupakan bagian dari organisme tingkat rendah yang termaktub dalam Firman-Nya Al-Qur'an surat al-Baqarah [2]:29, yaitu:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ
بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ^{٢٩}

Artinya: "Dialah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu" (Q.S al-Baqarah [2]: 29).

Surat al-Baqarah ayat 29 menurut terjemahan kajian tafsir Jalalain (Jalaludin, 2010) bahwa kata *istawa* dalam ayat tersebut bermakna "berkehendak" dan "mendatangi" karena menggunakan kata sambung "*ilaa*". وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ. Artinya ilmu Allah itu meliputi seluruh apa yang diciptakan- Nya. Sebagaimana firman-Nya "Apakah Allah yang menciptakan itu tidak mengetahui (apa yang kamu tampakkan dan sembunyikan)". Allah SWT menciptakan langit berlapis tujuh setelah menciptakan bumi agar dapat bermanfaat bagi umat manusia dan memperkuat rasa syukur kepada Allah SWT. Beraneka ragam makhluk hidup tersebut hidup saling berdampingan, menjaga keberlangsungan eksosistem, salah

satunya yakni khamir yang lebih kecil ukurannya dan memiliki metabolisme tubuh rendah sehingga tentu terdapat manfaat bagi kehidupan.

Khamir di Indonesia memiliki keanekaragaman sangat tinggi yaitu sebanyak 42% dari khamir di dunia (Kanti, 2005). Menurut Kurtzman C.P. dan Fell (2006), terdapat 37 *genera* khamir berhasil ditemukan di Indonesia dibandingkan dengan 89 *genera* dalam monograf khamir terdaftar dan hanya satu persen khamir telah teridentifikasi dari total khamir di dunia. Keanekaragaman yang tinggi inilah menyebabkan khamir dapat hidup pada habitat terrestrial dan air (Kurtzman, C. P. dan Fell, 1998), di kulit binatang dan udara (Suryaningsih, *et al.*, 2018). Han, *et al.*, (2015), menambahkan bahwa khamir yang tersebar di habitat terrestrial umumnya ditemukan pada tanah, bagian daun tanaman, buah dan bunga.

Khamir umumnya dapat ditemukan dalam persebaran dan populasi yang cukup luas pada bagian buah (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006). Buah memiliki kandungan air dan karbohidrat yang merupakan habitat ideal khamir sehingga khamir dapat mudah untuk diisolasi karena mengandung konsentration karbohidrat yang tinggi (Tsegaye, 2016). Buah juga memiliki pH yang rendah sesuai habitat khamir (Silva, *et al.*, 2008). Vadkertiová *et al.*, (2012), juga menambahkan bahwa khamir ditemukan lebih banyak pada buah yang matang.

Khamir yang telah teridentifikasi pada buah, diantaranya *Candida tropicalis* pada buah sirsak (*Annona muricata*) (Suryaningsih, *et al.*, 2018), *Saccharomyces cerevisiae* pada buah kelengkeng (*Dimocarpus longan*), sirsak (*Annona muricata*) dan mangga (*Mangifera indica*) (Ma'Aruf *et al.*, 2011). Tsegaye (2016), menyebutkan khamir *Zygosacharomyces fermentatii*, *Saccharomyces boulardii*, *Candida apicola* pada buah mangga (*Mangifera indica*); *Pichia holstii* dan *Zygosacharomyces bisporus* pada buah pepaya (*Carica papaya*); *Issatchenkia orientalis*, *Kluyveromyces delphensis* dan *Candida sorboxylosa* pada buah jeruk (*Citrus sinesis*). Maryam *et al.*, (2017), menambahkan juga khamir yang teridentifikasi pada buah jeruk (*Citrus sinesis*) yaitu *Rhodotorula mucilagnosa*, *Kodamaea ohmeri*, *Rhodotorula minuta* dan khamir pada buah nanas (*Ananas comosus*) yaitu *Candida colliculosa*, *Rhodotorula minuta*, *Candida krusei*, *Candida magnolia*, *Candida magnolia*.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk isolasi khamir pada buah-buahan di luar negeri. Penelitian terkait isolasi khamir hingga saat ini jarang dilakukan di Indonesia, sedangkan di Indonesia jenis keanekaragaman buah begitu banyak dan memiliki potensi besar untuk ditemukannya khamir. Sehingga penelitian ini penting dilakukan untuk mengeksplorasi khamir yang ada pada buah- buahan di Indonesia. Menurut Kurtzman, C. P., dan Piskur (2006), 99% khamir di dunia diperkirakan masih belum teridentifikasi. Kanti (2005), menambahkan bahwa eksplorasi khamir menjadi sangat penting karena melihat besarnya manfaat khamir terutama pada khamir yang memiliki potensi dalam hal ekonomi. Salah satu tanaman buah yang memiliki potensi sebagai habitat khamir adalah buah salak (*Salacca zalacca*).

Salak (*Salacca zalacca*) termasuk dalam tanaman buah tropis suku *Araceae* (Palem- palem) asli Indonesia (Yasin, 2013). Salak merupakan salah satu tanaman yang ada sepanjang tahun tanpa dipengaruhi oleh musim. Buah salak memiliki nilai gizi yang cukup tinggi khususnya kandungan karbohidrat (Kuswardhani, 2015). Sumber karbohidrat yang cukup melimpah pada buah salak pondoh menjadi salah satu indikator sebagai habitat alami khamir. Selain itu, buah salak memiliki kandungan gula sederhana yang telah dianalisis secara *proximate* diantaranya 7,6% sukrosa, 5,9% fruktosa dan 3,9% glukosa dengan total gula 17,4% (Saleh *et al.*, 2018), sedangkan menurut Fatimah, *et al.*, (2013), sebesar 32,96% glukosa.

Gula tersebut dimanfaatkan sebagai sumber energi khamir, sehingga buah salak pondoh diketahui memiliki potensi sebagai media khamir. Penelitian yang digunakan untuk isolasi khamir dilakukan pada buah salak varietas pondoh (*Salacca edulis*). Salak pondoh Jawa (*Salacca edulis*) (Gaertner) Voss merupakan salah satu varietas unggul yang telah dikembangkan di Indonesia dan komoditi salak pondoh terbesar di daerah Jawa khususnya di Jombang (BAPPENAS, 2000). Buah salak pondoh ini juga memiliki keistimewaan yang tidak dimiliki oleh salak pondoh varietas lain yaitu telah manis ketika masih muda (Zubaidah, *et al.*, 2017). Kandungan karbohidrat buah salak pondoh yaitu 20,9% lebih tinggi dibandingkan kandungan salak pada umumnya hanya 16,65-18,79% (Soetomo, 2001).

Kandungan gula terhadap beberapa varietas salak yang diukur menggunakan *brix* tertinggi yaitu salak pondoh sebesar 48% dibandingkan salak swaru sebesar

35%, salak gula pasir sebesar 39%, salak madu sebesar 36% dan salak madura 33% (Zubaidah *et al.*, 2017). Penelitian isolasi khamir yang telah dilakukan pada buah salak (*Salacca zalacca*), ditemukan spesies khamir yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (Ma'Aruf *et al.*, 2011). Penelitian pada daging buah salak pondoh belum pernah dilakukan di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian khamir pada buah salak pondoh perlu dilakukan untuk mengeksplorasi khamir yang ada di Indonesia. Isolasi khamir merupakan bagian dari perlakuan awal yang penting dilakukan untuk menggali potensinya sehingga menunjang aplikasi dalam pemanfaatan khamir tersebut.

Isolasi khamir pada buah- buahan dapat diaplikasikan dalam perkembangan bioteknologi sebagai agen pembuatan roti. Asyikeen *et al.*, (2013), menyatakan bahwa dari khamir lokal yang diisolasi dari 30 buah lokasi berbeda didapatkan 13 strain yang berpotensi sebagai agen ragi pembuatan roti. Khamir tersebut menunjukkan kinerja fermentasi yang lebih baik dibandingkan dengan strain ragi komersial. Watanabe *et al.*, (2016), menambahkan bahwa di negara Jepang juga telah dilakukan eksplorasi khamir lokal sebagai agen ragi pengembang roti dari 70 sampel tanaman dan buah dari beberapa lokasi di Jepang.

Salah satu bahan utama dalam proses pembuatan roti adalah ragi. Ragi atau pengembang roti merupakan kultur mikroorganisme yang dapat menggunakan gula sebagai sumber energi serta menghasilkan karbondioksida dan alkohol sebagai hasil fermentasi (Tsegaye Z., *et al.*, 2018). Ragi roti membantu proses fermentasi tepung terigu sehingga didapatkan roti dengan tekstur dan cita rasa yang khas. Ragi akan memproduksi gas CO₂ yang berperan dalam mengembangkan adonan roti memperlunak gluten dan menghasilkan asam- asam organik yaitu asam asetat, aldehid, dan ester sebagai pembentuk flavor serta aroma pada roti (Fleury, 2002).

Saat ini ragi yang digunakan oleh industri roti di Indonesia masih impor antara lain: ragi merk Fermipan, Saf-instan (Perancis), ragi Mauripan (Australia), ragi Gold Pakmaya (Turki). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menggunakan khamir asli suatu daerah (*indigeneous*) sebagai pembanding terhadap ragi kering instan komersial. Roti yang dibuat menggunakan khamir lokal menghasilkan kualitas rasa, aroma dan ukuran roti setelah dipanggang hampir sama dengan roti yang dibuat menggunakan ragi roti komersial. Khamir lokal yang berhasil

dilakukan yaitu hasil isolasi buah-buahan di daerah Hirosima (Watanabe *et al.*, 2016).

Fermentasi khamir pada adonan roti menghasilkan karbon dioksida, etanol dan asam amino yang berfungsi sebagai pengembang, rasa, aroma pada adonan roti (Ma'Aruf, *et al.* 2011). Khamir tidak memiliki kandungan hidrogen sulfida, dapat melakukan flokulasi, memiliki sifat toleransi terhadap glukosa, etanol dan suhu (Karki *et al.*, 2017). Khamir dapat melakukan fermentasi karbohidrat pada glukosa, sukrosa, fruktosa, maltosa dan laktosa (Olowonibi, 2017). Penelitian tentang isolasi khamir dari buah lokal untuk dimanfaatkan sebagai agen pengembang roti masih belum banyak dilakukan di Indonesia. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan suatu penelitian mencari khamir dari buah salak pondoh yang berpotensi sebagai agen pengembang roti. Seleksi dengan melakukan *screening* biokimia bertujuan untuk mendapatkan strain khamir yang bermanfaat di bidang pangan dan ekonomi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dikaji pada penelitian ini adalah:

1. Apa saja jenis khamir yang ditemukan dari daging buah salak pondoh (*Salacca edulis*) berdasarkan karakterisasi morfologi secara makroskopik dan mikroskopik?
2. Bagaimana kemampuan khamir dari daging buah salak pondoh (*Salacca edulis*) terhadap uji biokimiawi (fermentasi karbohidrat, toleransi etanol, toleransi suhu, toleransi glukosa 50%, flokulasi dan hidrogen sulfida) ?
3. Bagaimana kemampuan khamir dari daging buah salak pondoh (*Salacca edulis*) terhadap uji pengembang roti?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui jenis khamir yang ditemukan dari daging buah salak pondoh (*Salacca edulis*) berdasarkan karakteristik morfologi secara makroskopik dan mikroskopik.

2. Untuk mengetahui kemampuan khamir dari daging buah salak pondoh (*Salacca edulis*) terhadap uji biokimiawi (fermentasi karbohidrat, toleransi etanol, toleransi suhu, toleransi glukosa 50%, flokulasi dan hidrogen sulfida).
3. Untuk mengetahui kemampuan khamir dari daging buah salak pondoh (*Salacca edulis*) sebagai pengembang roti.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dalam penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini dapat menginformasikan strain asal buah salak pondoh (*Salacca edulis*) yang berpotensi digunakan sebagai agen pengembang roti.
2. Penelitian ini dapat diaplikasikan pada bidang pangan skala industri.
3. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam mengembangkan pembuatan produk di Indonesia dan mengurangi angka impor terhadap produk-produk luar negeri.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Buah salak varietas pondoh yang digunakan pada penelitian ini diambil pada musim hujan yang diperoleh di Kebun Salak pondoh daerah Dusun Keras RT 002/ RW 003 Kecamatan Diwek Kabupaten Jombang.
2. Media untuk isolasi khamir yang digunakan yaitu sukrosa dan YMB (*Yeast Malt Broth*).
3. Media untuk purifikasi yaitu YMEA (*Yeast Malt Extract Agar*) dan media untuk *screening* biokimia yaitu YPG (Yeast Peptone Glucose Broth), YPG Agar, media fermentasi karbohidrat dan *lead acetate*.
4. Identifikasi khamir dilakukan berdasarkan karakter makroskopis dan mikroskopis yakni permukaan, tekstur, bentuk, warna, elevasi, tepi, kenampakan, reproduksi dan ukuran sel khamir.
5. Uji fermentasi karbohidrat menggunakan sukrosa, laktosa, glukosa, galaktosa dan fruktosa.
6. Uji toleransi glukosa dengan konsentration 50%.

7. Uji toleransi terhadap suhu dengan 3 suhu inkubasi berbeda yakni, 30°C, 37°C, dan 45°C.
8. Uji toleransi terhadap etanol menggunakan 3 variasi konsentration yakni 10%, 13% dan 15%.
9. Kontrol positif untuk uji pengembang roti adalah ragi roti merk *fermipan*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme yang tidak memiliki klorofil, organisme heterotrofik dengan inti dan biasanya memiliki dinding sel yang kuat. Khamir adalah fungi uniseluler yang tersebar luas di berbagai lingkungan, yaitu akuatik, terrestrial, maupun di atmosfer (Waluyo, 2008). Khamir bersifat heterotrof umumnya berbentuk uniseluler dan dapat hidup sebagai parasit atau saprofit (Kurtzman, C. P. dan Fell, 1998). Khamir termasuk golongan mikroorganisme eukariotik bersel tunggal yang terdapat dalam salah satu kingdom yaitu fungi (Pelczar, 2013). Khamir memiliki sel vegetatif uniseluler dan tahapan miselium (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006).

Allah SWT telah menciptakan khamir sebagaimana makhluk hidup Allah lainnya, sebagaimana firman Allah dalam surat Yasin [36]:36, yaitu:

سُبْحَنَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُثْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ^{٣٦}

Artinya: Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui (Q.S Yasin [36]:36).

Berdasarkan ayat tersebut, Allah SWT telah menciptakan makhluk hidup dengan sebaik- baiknya. Menurut Abdullah (1994), dalam Tafsir Ibnu Katsir menafsirkan bahwa “Maha Suci Rabb yang telah menciptakan pasangan baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi,” yaitu berupa tumbuh- tumbuhan, buah- buahan dan tanam-tanaman, dari diri mereka yakni laki- laki dan perempuan, maupun dari apa yang tidak mereka ketahui yaitu berupa makhluk- makhluk lain yang tidak mereka ketahui. Atas segala yang telah Allah SWT ciptakan tersebut, manusia dapat mengambil pelajaran dan patut mensyukuri nikmat yang telah Allah SWT berikan.

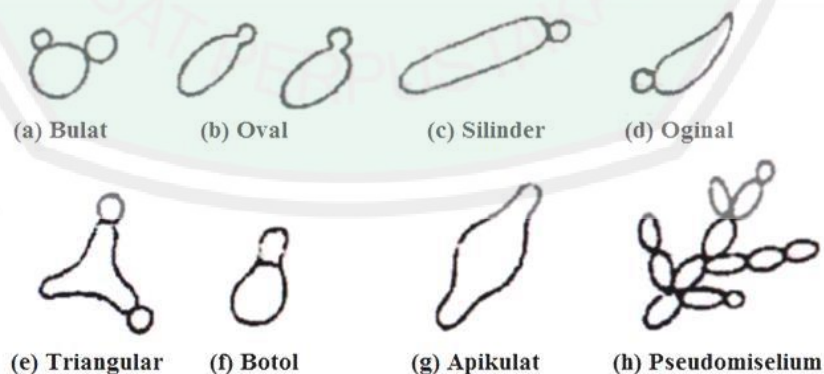
Kata وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ maksudnya setiap sesuatu dari berbagai jenis makhluk hidup ciptaan Allah SWT yang tidak dapat dilihat langsung oleh mata telanjang baik di daratan dan di lautan, di langit maupun di bumi seperti khamir. Khamir merupakan makhluk hidup mikroskopis yang telah Allah ciptakan. Setiap makhluk hidup ciptaan

Allah SWT seperti mikroorganisme uniseluler khamir perlu diteliti atau dikaji agar selanjutnya dapat dimanfaatkan oleh manusia.

2.2 Morfologi Khamir

Di dalam klasifikasi dan identifikasi khamir memiliki kaitan penting dengan morfologi dan fisiologi khamir. Morfologi khamir dibagi menjadi morfologi mikroskopik dan makroskopik. Morfologi mikroskopik terdiri dari ukuran sel, bentuk sel dan reproduksi sel yang digunakan untuk membedakan khamir. Ukuran sel dan bentuk sel digunakan sebagai parameter untuk membedakan antara *kelas* dengan *genus* (Becze, 1955). Khamir memiliki ukuran yang bervariasi, biasanya memiliki panjang 1-5 μm , lebar 1-10 μm , diameter 3 – 4 μm , dan ada yang mencapai 20 μm hingga 40 μm (Bhatia, 2016). Isolat khamir yang tidak membentuk hifa sejati (*Truephypha*) dapat ditemukan pada khamir *Trichosporon* spp., sedangkan khamir yang tidak memiliki hifa semu (*Pseudophypha*) dapat ditemukan pada *Kluyveromyces* spp., dan *Pichia* spp., (Kurtzman, C. P. dan Fell, 1998). Gandjar dan Sjamsuridzal (2006), menambahkan bahwa bentuk sel khamir dapat dipengaruhi oleh medium tumbuhnya.

Warna koloni mengkilat seperti mentega (Rini, 2017). Sel khamir memiliki bentuk yang beraneka macam, yaitu globe, bola, telur, zaitun, silinder bulat, ovoid, sferikal, oval, spheroid, silinder (Ashlihah dan Alami, 2014), segitiga melengkung, batang, botol, lemon atau apikulat dan membentuk pseudohifa atau miselium (pseudomiselium) (Fardiaz, 1992), (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Bentuk- bentuk Sel Khamir (Sumber: Rini, 2017).

Morfologi makroskopis terdiri dari tekstur koloni, bentuk koloni, permukaan koloni, warna koloni, margin koloni dan elevasi koloni. Identifikasi morfologi dapat

menunjukkan awal perbedaan antar koloni khamir. Morfologi makroskopis yaitu pada *Kelas Basidiomycetes* dan *Kelas Ascomycetes*. *Kelas Basidiomycetes* memiliki pigmen berwarna terang, seperti merah, merah muda, jingga, sedangkan *Kelas Ascomycetes* memiliki warna dominan, seperti krem dan putih karena tidak memiliki pigmen (Kurtzman, C. P. dan Fell, 1998). Pelczar, M. J. (1998), menyatakan bahwa secara makroskopis khamir memiliki ciri- ciri koloni yaitu terdapat spora, tidak berlendir, tidak mengkilat, dan berwarna putih kekuningan atau putih susu. Hal ini didukung oleh penelitian Spencer (1997), hampir 90% khamir mempunyai penampakan morfologi putih kekuningan.

2.3 Fisiologi Khamir

Fisiologi khamir yakni keseluruhan fungsi secara fisik dan kimia yang terjadi pada metabolisme khamir. Walker (1998), bahwa fisiologi sel khamir berkaitan dengan proses metabolisme khamir, proses reproduksi, proses pertumbuhan, proses makanan, proses bertahan hidup hingga proses kematian khamir. Sifat metabolisme khamir dibedakan menjadi dua macam yaitu oksidatif dan fermentatif. Keadaan oksidatif (respirasi) dapat menghasilkan H_2O dan CO_2 . Keadaan fermentatif khamir yaitu dapat melakukan fermentasi alkohol dengan merombak glukosa menjadi gas dan alkohol, misalnya fermentasi pada produk roti. Keduanya dipergunakan khamir sebagai energi walaupun energi yang dihasilkan melalui respirasi lebih tinggi dari yang melalui fermentasi. Khamir bersifat fakultatif sehingga dapat hidup dalam keadaan aerobik maupun anaerobik (Pelczar, M.J., 2008).

Menurut Kanti (2005), karakteristik fisiologi khamir yaitu kemampuan khamir dalam melakukan asimilasi dan fermentasi pada berbagai jenis sumber nitrogen dan karbon. Schneiter (2004), menyatakan bahwa karakteristik fisiologi khamir juga digunakan untuk mengidentifikasi spesies, misalnya dengan melihat adanya *budding* khamir dari *phylum Ascomycetes* kelas *Hemiascomycetes*. Salah satu karakteristik fisiologi khamir yang khas yaitu kemampuan khamir untuk memfermentasi gula pada produksi etanol.

Kemampuan khamir untuk memfermentasi gula erat kaitannya dengan katabolisme gula. Proses katabolisme gula dapat dilakukan oleh khamir osmotoleran. Khamir osmotoleran didefinisikan sebagai khamir yang bertahan

hidup pada aktivitas air atau zat pelarut yang rendah dan aktivitas zat terlarut yang tinggi. Khamir osmotoleran juga merupakan khamir yang dapat hidup pada kadar garam atau kadar gula yang tinggi. Salah satu manfaat khamir osmotoleran bagi kehidupan manusia yaitu pada produk pangan sebagai fermipan. Khamir ini menjadi strain khusus khamir kering instan yang dapat berkinerja lebih baik dalam adonan gula tinggi daripada khamir lainnya (Dijken dan Scheffers, 1986).

Sel khamir sering digunakan proses fermentasi industri karena kemampuannya untuk mengkonversi secara efisien relatif tinggi dari konsentrasi gula menjadi etanol dan CO₂. Sel khamir yang difermentasi menghasilkan alkohol tinggi, senyawa karbonil, senyawa fenolik, turunan asam lemak dan senyawa belerang. Hidrogen sulfida berperan penting dalam fisiologi sel khamir menunjukkan osilasi glikolitik yang berkoordinasi mengatur metabolisme khamir. Hidrogen sulfida menyebabkan respirasi penghambatan sehingga berperan dalam mengatur osilasi pernapasan di bagian asetildehida (Dzialo *et al.*, 2017).

2.4 Habitat Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme yang memiliki tingkat persebaran yang cukup luas terhadap habitat alamnya. Keberadaan khamir sangat melimpah di alam yaitu di atmosfer (udara), perairan/akuatik (laut), dan daratan/terrestrial (tanah) (Ashlihah dan Alami, 2014). Habitat di daratan/ terrestrial meliputi di tanaman, hewan dan tanah, sedangkan habitat di perairan meliputi laut atau estuari (muara) dan di air tawar (Kurtzman, C. P. dan Fell, 1998). Khamir dapat ditemukan pada saluran usus hewan yang berdarah panas dan permukaan daun, dimana khamir dapat hidup secara simbiotik atau sebagai parasit (Schneiter, 2004). Khamir banyak ditemukan pada habitat di lingkungan yaitu bunga, buah- buahan, biji- bijian yang mengandung banyak gula (Suryaningsih, *et al.*, 2018).

Menurut Kurtzman, C. P. dan Fell (1998), khamir dapat ditemukan pada tumbuhan, yaitu bagian buah. Spesies khamir pada buah yaitu *Saccharomyces cerevisiae* pada buah Rambutan kultivar Binjai (Ismail, 2019), *Candida tropicalis* pada buah sirsak (Suryaningsih, *et al.*, 2018). Khamir *Zygosacharomyces fermentatii* dan *Saccharomyces boulardii* pada buah mangga; *Zygosacharomyces bisporus* dan *Pichia holistii* pada buah pepaya; *Candida sorbaxyllosa*,

Kluyveromyces delphensis dan *Issatchenkia orientalis* pada buah jeruk (Tsegaye, 2016). Khamir *Candida colliculosa*, *Rhodotorula minuta* dan *Candida crusei* pada buah nanas; *Rhodotorula muciglanosa* dan *Kodamea ohmeri* pada jeruk manis; *Cryptococcus tereu*, *Cryptococcus leurentii* dan *Candida utilis* pada anggur (Maryam *et al.*, 2017).

2.5 Taksonomi Khamir

Taksonomi merupakan ilmu yang mempelajari tentang identifikasi dan klasifikasi. Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik uniseluler yang menurut taksonomi tergolong ke dalam Kingdom *Eumycota*. Spesies khamir tergolong dalam Kingdom *Eumycota* yaitu Kelas *Ascomycetes* dan Kelas *Basidiomycetes*. Khamir Kelas *Basidiomycetes* menghasilkan basidiospora (*basidiosporogenous*), sedangkan khamir Kelas *Ascomycetes* menghasilkan askospora (*ascosporogenous*) dalam melakukan reproduksi seksualnya (Kurtzman, C. P. dan Fell, 1998). Khamir yang terdapat dalam kelas *Basidiomycetes* dan *Ascomycetes* terdiri dari khamir anamorfik dan khamir telemorfik. (Querol dan Fleet, 2006). Khamir yang ditemukan fase seksualnya dikelompokkan sebagai khamir telemorfik, sedangkan khamir yang ditemukan fase aseksualnya dikelompokkan sebagai khamir anamorfik atau *conidial yeast* (Gandjar, I. dan Sjamsuridzal, 2006). Nama genus diberikan dalam taksonomi khamir berdasarkan fase reproduksinya yaitu anamorfik atau telemorfik (Yarrow, 1998).

Berdasarkan pertumbuhannya terhadap makanan khamir diklasifikasikan menjadi beberapa tipe khamir diantaranya, yaitu *film yeast*, *lactose fermenting yeast*, *alcohol yeast*, *lemon shape yeast* atau *apiculate*, *food and feet yeast* dan *osmophilic yeast* (Kurtzman *et al.*, 2011). *Film yeast* yaitu khamir yang mempunyai kemampuan terhadap oksidasi asam- asam organik, metabolisme terhadap permukaan makanan yang bersifat asam dan resisten pada kondisi lingkungan asam (Sari, 2010). *Lactose fermenting yeast* yaitu khamir yang dapat memfermentasi karbohidrat sederhana misalnya laktosa yang ada di dalam susu. *Alcohol yeast* yaitu khamir yang mempunyai kemampuan dapat memfermentasi alkohol. *Lemon shape yeast* atau *apiculate* yaitu khamir yang mempunyai kemampuan mengacaukan fermentasi wine, *off- flavor* dan membentuk alkohol adan asam volatil tinggi. *Food*

and *feet yeast* yaitu khamir yang dimanfaatkan untuk bahan pakan ternak dan bahan pangan, seperti protein sel tunggal. *Osmophilic yeast* yaitu khamir yang resisten pada lingkungan kadar garam dan gula yang tinggi (Kanti dan Sumerta, 2017).

2.5.1 Kelas *Basidiomycetes*

Khamir Kelas *Basidiomycetes* memproduksi basidiospora pada struktur *basidium* sebagai reproduksi seksualnya (Kurtzman C.P. dan Fell, 2006). Pertunasan secara enteroblastik menjadi karakteristik khamir kelas *Basidiomycetes* sebagai reproduksi aseksualnya dan memiliki dinding sel yaitu *multilayer* (banyak lapis). Kelas *Basidiomycetes* dibagi menjadi tiga subkelas berdasarkan analisis sequence daerah D1/D2 gen LSU rRNA yaitu *Hymenomycetes*, *Urediniomycetes*, dan *Ustilaginomycetes*. Subkelas *Hymenomycetes* terdiri atas *Tremellales*, *Trichosporonales*, *Filobasidiales*, dan *Cystofilobasidiales*. Subkelas *Ustilaginomycetes* terdiri atas *Exobasidiomycetidae*, *Ustilaginomycetidae*, dan *Malasseziales*. Subkelas *Urediniomycetes* terdiri dari *Agaricostilbum*, *Microbotryum*, *Sporidiobolous* dan *Erythrobasidium* (Fell et al., 2000).

2.5.1.1 Subkelas *Hymenomycetes*

Khamir subkelas *Hymenomycetes* memiliki dinding sel yang terdiri dari glukosa, xylosa dan mannososa dan tipe septa *dolipore* (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006). Khamir yang termasuk teleomorfik yaitu genus *Bulleromyces*, sedangkan khamir yang termasuk anamorfik yaitu genus *Bullera* (Satyanaraya, 2009). Berdasarkan morfologi makroskopisnya, khamir *Bullera armeniaca* tampak mengkilap dan warna terang oranye atau oranye kemerahan, tekstur koloni seperti mentega, tipe elevasi yaitu datar dan timbul (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.5.1.2 Subkelas *Urediniomycetes*

Khamir subkelas *Urediniomycetes* memiliki dinding sel yang terdiri dari glukosa, mannososa, fruktosa dan rhamnosa tetapi tidak terdapat xylosa (Satyanaraya, 2009). Khamir yang termasuk teleomorfik yaitu genus *Rhodosporidium* Banno dan *Rhodotorula*, sedangkan khamir yang termasuk anamorfik yaitu genus *Rhodotorula* dan *Cryptococcus* Vuillemin. Berdasarkan morfologi makroskopisnya, spesies

Cystofilobasidium infirmominiatum memiliki permukaan koloni yang halus dengan warna merah muda dan elevasi timbul (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.5.1.3 Subkelas *Ustilaginomycetes*

Khamir subkelas *Ustilaginomycetes* memiliki dinding sel yang terdiri dari glukosa, mannosa dan galaktosa (Gandjar, 2006). Khamir *Ustilaginomycetes* tidak terdapat senyawa xylosa dan memiliki karakteristik tipe septa seperti *micropore* atau margin yang bertingkat. Khamir yang termasuk anamorfik yaitu genus *Pseudozyma* Bandoni dan *Tilletiopsis* Derx, sedangkan yang termasuk teleomorfik yaitu genus *Ustilago* Corda (Satyanaraya, 2009). Berdasarkan morfologi makroskopisnya, spesies khamir *Pseudozyma aphidis* memiliki koloni yang berwarna putih hingga krem agak kekuningan dan kusam, elevasi yaitu datar dan terdapat kandungan seperti tetesan minyak (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.5.2 Kelas *Ascomycetes*

Khamir Kelas *Ascomycetes* memproduksi askospora pada struktur *askus* sebagai reproduksi seksualnya. Pertunasan secara holoblastik menjadi karakteristik khamir kelas *Basidiomycetes* sebagai reproduksi aseksualnya dan dinding sel yaitu *bilayer*. Kelas *Ascomycetes* terdiri atas tiga subkelas yakni *Archiascomycetes*, *Euascomycetes*, dan *Hemiascomycetes* (Kurtzman dan Sugiyama, 2001). Subkelas *Archiascomycetes* ordo yaitu *Pneumocystidales*, *Neolactales*, *Protomycetales*, *Schizosaccharomycetales*, *Taphrinales*. *Hemiascomycetes* ordo yaitu *Saccharomycetales* (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.5.2.1 Subkelas *Archiascomycetes*

Khamir subkelas *Archiascomycetes* memiliki dinding sel dua lapis (*bilayer*), bagian askus tidak ditutupi askokarp dan melakukan pembelahan sel atau pembentukan *budding* enteroblastik sebagai reproduksi aseksualnya (Hamamoto dan Nakase, 2000). Khamir yang termasuk telemorfik yaitu genus *Protomyces* Unger dan *Schizosaccharomyces* Lindner, sedangkan khamir yang termasuk anamorfik yaitu genus *Lalaria* R.T. Moore. Genus *Lalaria* memiliki koloni dengan warna kekuningan atau merah muda dan secara mikroskopis memiliki reproduksi

vegetatif yaitu *budding* dekat kutub atau keluar kutub sel (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.5.2.2 Subkelas *Euscomycetes*

Khamir subkelas *Euscomycetes* termasuk ke dalam *yeast-like fungi*. Askus khamir subkelas *Euscomycetes* ditutupi oleh askokarp (Hamamoto dan Nakase, 2000). Khamir yang termasuk *anamorfik* yaitu genus *Aureobasidium*. Khamir lainnya yaitu dari anggota genus *Endomyces* dan *Oosporidium* (Boekhout dan Phaff, 2003). Berdasarkan morfologi makroskopis, khamir *Endomyces scopularu* memiliki koloni dengan warna putih dan elevasi timbul (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.5.2.3 Subkelas *Hemiascomycetes*

Khamir subkelas *Hemiascomycetes* memiliki dinding sel lapis dua (*bilayer*), askus ditutupi oleh askokarp, dan pembentukan *budding* tipe holoblastik atau pembentukan arthrokonidia (Kurtzman dan Sugiyama, 2001). Askokarp khamir subkelas *Hemiascomycetes* dibagi menjadi beberapa jenis, diantaranya yaitu *hemispheroidal*, *globose*, *spheroidal*, *hat-shaped*, *lenticular* dan *ovoidal* (Sari, 2010). Khamir yang termasuk teleomorfik yaitu genus *Debaryomycetes* dan *Pichia*, sedangkan khamir yang termasuk anamorfik yaitu genus *Candida* dan *Saccharomyces*. Berdasarkan morfologi makroskopisnya, khamir *Saccharomyces cerevisiae* memiliki tekstur koloni seperti mentega dengan warna krem muda, elevasi timbul atau rata dan permukaan koloni halus (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.6. Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw)

Salak adalah tanaman yang termasuk kedalam keluarga *Palmae* asli di wilayah Asia Tenggara dan berasal dari Indonesia. Terdapat beberapa varietas salak di Indonesia. Varietas salak unggul yang telah dikembangkan oleh pemerintah yaitu Salak Pondoh, Enrekang, Swaru, Gula batu (Bali) dan Nglumut. Salak dikenal yaitu *snake fruit*, karena memiliki kulit seperti sisik ular dengan nama ilmiah umumnya yaitu *Salacca zalacca* (Tim Karya Mandiri, 2010) (Gambar 2.2).

Tanaman salak pondoh dapat diklasifikasikan sebagai berikut, menurut USDA (United States Department of Agriculture) yaitu Kingdom: *Plantae*, Subkingdom:

Tracheobionta, Superdivision: *Spermatophyta*, Divisi: *Magnoliophyta*, Kelas: *Liliopsida*, Subkelas: *Arecidae*, Order: *Arecales*, Family: *Arecaceae/Palmae*, Genus: *Salacca* Reinw, Spesies: *Salacca edulis* Reinw.



Gambar 2.2 Tanaman Salak Pondoh. (Sumber: Dok. pribadi)

Salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw) merupakan tumbuhan keluarga *Palmae* di Indonesia dapat berbunga sepanjang tahun yaitu pada bulan Januari, April, Juli, dan Oktober (Rai *et al.*, 2016). Salak pondoh dapat tumbuh di dataran rendah umumnya pada 100-500 m dpl, tetapi dapat mencapai ketinggian hingga 700 mdpl. Iklim lainnya yang tepat bagi pertumbuhan salak pondoh yaitu dengan curah hujan berkisar 200-400 mm/bulan dan suhu yaitu 20-30°C. Salak pondoh dapat ditanam pada kondisi tanah yang subur, kelembapan tinggi dan gembur dengan pH (derajat keasaman tanah) yang tepat adalah 4,5 – 7,5 (BAPPENAS, 2000).

2.6.1 Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw)

Allah SWT telah menciptakan beranekaragam tanaman yang memiliki banyak manfaat bagi kehidupan di bumi ini, sebagaimana yang terdapat dalam Firman-Nya surat Ar-Rahman [56]:11, yaitu sebagai berikut:

فِيهَا فَكِهَةٌ وَالنَّخْلُ ذَاتُ الْأَكْمَامِ

Artinya: “Di bumi itu ada buah-buahan dan pohon kurma yang mempunyai kelopak mayang” (Q.S ar-Rahman [56]:11).

Ayat tersebut menunjukkan bahwa bahwa Allah SWT telah menciptakan beraneka ragam buah-buahan. Berdasarkan terjemahan tafsir Jalalain (2010), terdapat kalimat “*Di bumi itu ada buah- buahan*” yang artinya beraneka ragam rasa,

warna dan aromanya. Keanekaragaman buah, Allah SWT menyampaikan bahwa tentunya juga terdapat beranekaragam potensi dari segala macam buah-buahan yang dapat diteliti untuk dimanfaatkan bagi kehidupan manusia. Salah satu buah yang dapat dikaji yaitu dari tanaman salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw).

Buah salak pondoh (*Salacca edulis*) terdiri dari beberapa bagian, yaitu daging buah, kulit buah dan biji (Trubus, 1989) (Gambar 2.3). Buah salak pondoh umumnya harus dipanen pada tingkat kematangan optimum, sebab buah saat muda biasanya memiliki rasa sepat yang sangat khas. Rasa sepat yang dihasilkan dapat menghilang pada tingkat kematangan yang optimum dan berubah rasanya menjadi manis, namun sedikit masam serta beraroma harum. Ada pengecualian khusus pada salak pondoh (*Salacca edulis*) yaitu rasanya manis walaupun masih muda dan tidak memiliki rasa yang sepat (Tim karya mandiri, 2010).



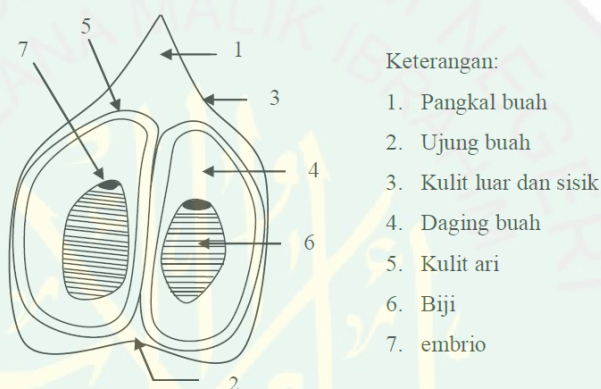
Gambar 2.3 Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw) (Sumber: USDA)

Buah salak pondoh yang telah matang dari pohon umumnya berusia enam bulan sejak bunga tersebut mekar. Kematangan buah salak pondoh dapat ditandai oleh warna kulit kuning tua atau merah kehitaman, sisik yang telah jarang dan duri halus yang telah hilang. Ujung kulit (bagian meruncing) lunak apabila ditekan. Karakteristik lainnya yaitu warna permukaan kulitnya mengkilat, mengeluarkan aroma khas yang cukup kuat dan mudah terlepas apabila dipetik dari tangkai buahnya (Tim karya mandiri, 2010). Buah salak pondoh memiliki kandungan gizi yang tinggi, menurut Soetomo (2001), kandungan gizi dalam setiap 100 gramnya terdiri dari (Tabel 2.1):

Tabel 2.1. Kandungan Gizi Buah Salak Pondoh Dalam Setiap 100 Gram

Kandungan Zat	Nilai Rata- Rata Buah Salak pondoh
Kalori	77 kal
Protein	0,4 g
Lemak	0 g
Karbohidrat	20,9 g
Kalsium	28 g
Fosfor	18 mg
Zat besi	4,2 mg
Vitamin A	0 SI
Vitamin B1	0,04 mg
Vitamin C	2 mg
Air	78,0 mg

Sumber: Soetomo, 2001



Gambar 2.4. Anatomi Buah Salak Pondoh (Bappenas, 2000).

Buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw) memiliki ukuran yang relatif lebih kecil, warna daging putih, tekstur yang lebih keras, warna kulitnya lebih hitam daripada salak pondoh lainnya. Bentuk daging buah salak pondoh yaitu mendekati bundar, rasa manis, biji kecil dan berat sekitar 30-100 gram (Bappenas, 2000). Anatomi buah salak pondoh yaitu pada Gambar 2.4.

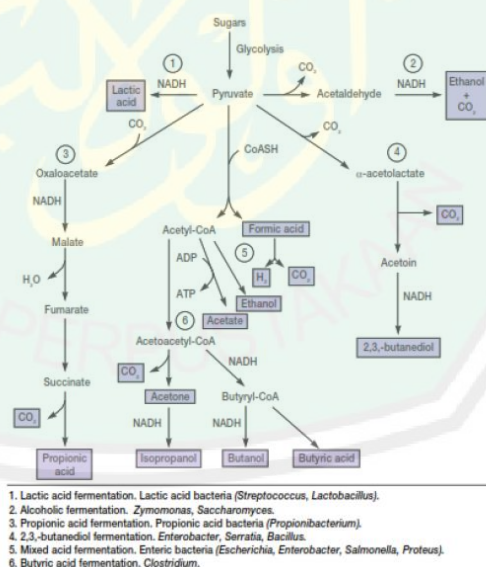
Buah salak pondoh mengandung karbohidrat yang cukup tinggi juga mengandung senyawa antioksidan seperti vitamin C, vitamin A dan senyawa fenolik. Umur simpan buah salak pondoh yaitu kurang dari seminggu karena pematangan buah yang cepat dan memiliki kandungan air yang tinggi yaitu 78% (Ong dan Law, 2009). Menurut Bappenas (2000), salak pondoh *Salacca edulis* Reinw merupakan salah satu jenis kultivar terbaik di Indonesia. Keunggulan salak pondoh ini dibandingkan salak lainnya yaitu buahnya sudah manis meskipun masih muda dan rasa gurih serta tidak sepat. Hal ini karena buah salak pondoh

mengandung gula sebesar 23,30%, kandungan kadar air 79,3%, tannin yang relative kecil 0,08%, kandungan total asam yang kecil 0,32% dan kandungan vitamin C 87,4 mg/100 gr (Widaningsih, 2013).

2.7 Uji Biokimia Khamir Sebagai Kandidat *Baker Yeast*

2.7.1 Fermentasi Karbohidrat

Fermentasi adalah reaksi biokimia penghasil energi di mana molekul organik berfungsi sebagai elektron akseptor dan donor dari berbagai mikroorganisme (Harley dan Prescott, 2002). Mikroorganisme ini mampu hidup tanpa oksigen dan dapat memecah senyawa organik sehingga disebut anaerob. Salah satu mikroorganisme yang dapat hidup pada kondisi anaerob fakultatif yaitu khamir karena dapat hidup tanpa atau dengan oksigen (Karkie, *et al.*, 2017). Fermentasi karbohidrat yang terjadi oleh khamir menghasilkan etanol, gas dan asam asetat (Okafor, 2007). Kemampuan khamir mengubah karbohidrat menjadi metabolisme yang dapat digunakan untuk identifikasi karena setiap khamir memiliki kemampuan yang berbeda dalam fermentasi gula (Harley dan Prescott, 2002). Proses akhir fermentasi karbohidrat terbentuknya gas dan bersifat asam (gambar 2.5).



Gambar 2.5 Bagan Jalur Utama Fermentasi Piruvat (Harley dan Prescott., 2002).

Ragi komersial yaitu khamir *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat yaitu sukrosa, maltosa, fruktosa, glukosa, galaktosa, dan rafinosa tetapi tidak laktosa (Thais *et al.*, 2006). Menurut Tarek

(2001), sel khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang tidak dapat memfermentasi laktosa sebenarnya disebabkan oleh kurangnya laktase atau sistem β -galaktosidase. Ma'aruf, *et al.*, (2011), menyatakan bahwa khamir yang baik digunakan untuk pengembang roti yaitu yang tidak dapat mengasimilasi laktosa, tetapi dapat tumbuh diatas permukaan glukosa dan galaktosa yang dihasilkan dari hidrolisis laktosa. Pfannebecker *et al* (2016), menyebutkan bahwa khamir dapat hidup pada kandungan gula tinggi yaitu 50%- 70% atau disebut khamir osmotoleran. Ali dan Mohammed (2014), menambahkan bahwa umumnya khamir dapat hidup pada konsentration gula maksimal 20%.

Khamir osmotoleran yaitu strain khusus khamir yang mampu bekerja lebih baik dalam adonan gula tinggi dibandingkan khamir lainnya (Djiken dan Alexander, 1986). Kaitannya sangat penting untuk fermentasi adonan, komponen yang terbentuk selama fermentasi seperti alkohol memiliki kontribusi terhadap aroma dan rasa roti, namun alkohol akan menguap dalam pengembangan roti (Fleury, *et al.*, 2002). Khamir yang digunakan sebagai pengembang roti yaitu mampu melakukan fermentasi karbohidrat yang dapat menghasilkan karbon dioksida mampu dan etanol (Ma'aruf, *et al.*, 2011).

2.7.2 Toleransi Etanol

Kemampuan khamir terhadap toleransi etanol dapat digunakan untuk menentukan khamir sebagai biofermentasi. Toleransi etanol tinggi dapat disebabkan oleh lipid yang memiliki komposisi kompleks dari membran plasma sehingga dapat melakukan sintesis ergosterol dengan jumlah banyak dibandingkan fosfolipid dan kolesterol (Ingram *et al*, 1984). Jimenez dan Benetez (1986), menambahkan bahwa toleransi etanol merupakan bagian penting yang digunakan dalam industri produksi alkohol. Tsegay (2016), strain khamir (*Saccharomyces boulardii*, *Candida sorboxylosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida apicola*, dan *Issatchenkia orientalis*) dapat tumbuh dengan baik pada konsentration etanol yaitu 2%, 6%, 10%, 14% dan 16%. Strain khamir (*Kluyveromyces delphensis* dan *Zygosaccharomyces fermentatii*) hanya tumbuh pada konsentration etanol 2% dan 6%. Strain khamir (*Pichia holistii* dan *Zygosaccharomyces bisporus*) tidak dapat tumbuh pada berbagai konsentration etanol yang telah digunakan.

Penelitian yang dilakukan oleh Nwachukwu, *et al.* (2006), menunjukkan bahwa strain khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang diisolasi dari buah anggur mampu tumbuh pada konsentration etanol 16%. Sumerta (2017), menambahkan dari hasil penelitiannya yakni strain khamir *Saccharomyces cerevisiae* mampu tumbuh pada konsentration etanol tertinggi dibandingkan strain khamir lainnya. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki karakteristik yaitu dapat memproduksi etanol dalam kondisi konsentration etanol yang terbatas dan mampu memanfaatkan kondisi terus untuk tumbuh (Merico, *et al.*, 2007), juga toleran terhadap etanol yang dihasilkannya (de Olivia- Neto, *et al.*, 2013). Khamir yang memiliki kemampuan toleransi terhadap etanol dimanfaatkan sebagai pengembang roti (Maryam, 2017).

2.7.3 Toleransi Suhu

Suhu merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap mikroorganisme khamir, dimana pada reaksi enzim hingga menjadi katalis terdapat sensitivitas suhu. Proses katalik berhenti apabila suhu berada dibawah optimal, sedangkan umumnya enzim memiliki suhu yang optimal. Apabila suhu terlalu tinggi mengakibatkan enzim menjadi terdenaturasi. Peningkatan produksi gas CO₂ dapat mempercepat proses pengembangan pada adonan roti, sehingga sifat toleran terhadap suhu kriteria penting sebagai pengembang roti (Karkie *et al.*, 2017).

Suhu yang dibutuhkan oleh khamir untuk proses fermentasi yaitu berkisar 20-30°C dan dapat mencapai 35°C pada akhir fermentasi (Thais, *et al.*, 2006). Khamir yang tumbuh dibawah suhu optimal memproduksi gas CO₂ lebih sedikit dibandingkan pada suhu yang tinggi khamir dapat menstimulasi kerja enzim dalam proses metabolisme sel sehingga terjadi peningkatan produksi gas CO₂ (Komatsuzaki, 2016). Khamir pada pengembang roti umumnya dapat bertahan pada suhu 30°C (Ma'aruf, *et al.*, 2011).

2.7.4 Produksi H₂S

Hidrogen sulfida (H₂S) atau asam sulfida adalah gas yang mudah terbakar, tidak berwarna dan bau khas seperti busuk (Herlianty dan Dewi, 2013). Hidrogen sulfida adalah senyawa yang tidak diinginkan keberadaannya karena dapat mempengaruhi rasa dan aroma pada roti. Khamir yang menunjukkan produksi H₂S tinggi tidak

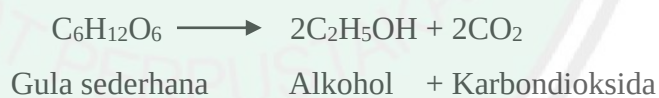
diinginkan dalam pembuatan roti karena dapat memberikan rasa tidak enak sehingga mengganggu kualitas roti (Tsegaye *et al*, 2018). Khamir sebagai pengembang roti tidak memiliki kandungan hidrogen sulfida (Karkie, *et al.*, 2017).

2.7.5. Flokulasi

Flokulasi merupakan kemampuan khamir membentuk endapan dalam media pertumbuhan yang digunakan. Flokulasi dapat terjadi karena terdapat interaksi dari dua komposisi yang berbeda pada permukaan yang sama. Teori flokulasi diantaranya, teori jembatan Ca^{2+} , teori *Lectin-model* dan teori koloidal (Soares, 2011). Terjadinya flokulasi juga disebabkan interaksi antara permukaan polisakarida dengan protein terhadap sel yang berdekatan (Miki *et al*, 1982). Kondisi pH optimum yang digunakan dalam proses flokulasi yaitu 4,5. Flokulasi dapat memberikan keuntungan yang baik dari segi ekonomi pada produksi biomassa roti dalam skala industri. Khamir yang mampu membentuk flok akan lebih mudah terpisah dari media tanpa melalui proses filtrasi atau sentrifugasi, sehingga dapat mengurangi biaya produksi (Karki *et al*, 2017).

2.8 Kandidat Khamir Sebagai Ragi Pengembang Roti

Khamir sebagai kandidat pengembang roti yaitu memiliki kemampuan dalam memfermentasi gula yang dapat menghasilkan karbondioksida dan etanol (Maryam, 2017). Reaksi kimia yang terjadi pada fermentasi khamir sebagai pengembang roti:



Khamir yang dapat digunakan dalam pengolahan makanan disebut sebagai ragi pengembang roti. Ragi yang digunakan umumnya menggunakan galur murni dari spesies khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Charlile, *et al.*, 2001). Khamir ini memiliki karakteristik berbentuk bulat telur, membentuk *budding* pada reproduksi vegetatifnya, sifat fisiologisnya yang stabil sehingga dapat mengubah gula dan pati menjadi alkohol dan karbondioksida, memiliki daya tahan simpan lama, terdispersi di air dan tumbuh sangat cepat (Vahinta, 2010). Kisaran suhu yang optimal bagi pertumbuhan khamir tersebut yaitu 25 - 30°C, memiliki pH yaitu 4 - 4,5°C. Khamir

dapat tumbuh dalam kondisi anaerob dan termasuk kelompok khamir yang fermentatif karena dapat memecah glukosa lewat jalur glikolisis atau fermentasi alkohol (Fardiaz, 1992).

Faktor yang mempengaruhi kehidupan khamir dalam pengembangan roti yaitu:

- 1) Kondisi asam (pH), nilai pH berkisar 3 – 8. Umumnya mikroorganisme dapat tumbuh pada kondisi pH 5 – 8, sehingga hanya khamir tertentu saja yang bertahan pada bahan pangan dengan pH rendah. pH dengan nilai di luar 2 – 10 memiliki sifat merusak.
- 2) Nutrisi, ragi membutuhkan nutrisi sebagai perkembangan dan pertumbuhan yakni unsur N, P, C, vitamin dan mineral- mineral.
- 3) Suhu optimum penting digunakan bagi pertumbuhan sel khamir, karena proses pertumbuhan tersebut akan melalui suatu emulsi untuk dapat menghasilkan enzim. Selanjutnya enzim berfungsi mengubah glukosa menjadi alkohol (Andaka dan Sentani, 2016).

Proses dalam pengembangan roti terdiri dari pencampuran, fermentasi dan pembakaran adonan yang dibantu oleh khamir (Cho *et al.*, 2010). Komposisi yang digunakan terdiri dari tepung terigu, air, ragi atau khamir dan garam. Tepung terigu mengandung protein, gluten dan 1-2% gula terutama oligosakarida, glukosa, fruktosa. Dalam pembuatan roti, jumlah ragi atau khamir yang dimasukkan yaitu sekitar 2% dan konsentersasi garam 1,5 – 2%. Konsentersasi ini dapat menghambat sebagian enzim ragi dan memberikan adonan yang optimal untuk roti. Dalam menyiapkan adonan, proses pengadukan (*kneading*) berlangsung lama dan menyeluruh untuk meningkatkan elastisitas dan kelenturan gluten sehingga menghasilkan adonan yang dapat mengembang dengan baik (Michael, 2001).

Adonan yang dapat menyediakan lingkungan sesuai dengan pertumbuhan khamir dapat menambah volume roti yang dihasilkan (Ali *et al.*, 2012). Sumber karbohidrat yang dapat difermentasi oleh roti yaitu glukosa, fruktosa, sukrosa dan maltosa (Kurtzman, 1998). Fungsi khamir dalam adonan pengembangan roti yaitu untuk memfermentasi gula sehingga menghasilkan etanol setelah pemanggangan dan karbon dioksida dalam mengembangkan adonan tepung, pematangan serta pengembangan rasa fermentasi (Maryam, 2017). Khamir dapat mempengaruhi struktur gluten dan meningkatkan ekstensibilitas dengan cara mengoksidasi disulfida dan rantai protein sehingga dapat memberikan kontribusi terhadap rasa dan tekstur roti (Komatsuzaki, N. 2016).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu eksplorasi dan eksperimental. Penelitian eksplorasi dilakukan dengan isolasi khamir pada buah salak pondoh (*Salacca edulis*) yang diperoleh dari Desa Keras, Kecamatan Diwek, Kabupaten Jombang. Pengambilan sampel dilakukan secara acak (*simple random sampling*) bagi setiap anggota populasi agar mendapatkan kesempatan yang sama untuk menjadi sampel penelitian. Penelitian eksperimental dilakukan untuk menguji isolat khamir yang disajikan melalui deskriptif kualitatif dan kuantitatif.

Penelitian deskriptif kualitatif yakni melalui penggambaran khamir secara morfologi makroskopis dan mikroskopis serta karakterisasi fisiologis biokimiawi. Uji *screening* biokimiawi yang dilakukan yaitu fermentasi karbohidrat, uji toleransi etanol, uji toleransi suhu, uji toleransi gula, hidrogen sulfida dan flokulasi. Penelitian kuantitatif disajikan melalui uji toleransi (gula, etanol, suhu) dan uji pengembang roti (*uji pengembang roti*) yang dibandingkan dengan ragi komersial (*fermipan*). Data kualitatif dan kuantitatif menunjukkan range strain khamir pada buah salak pondoh (*Salacca edulis*) yang baik atau tidak digunakan sebagai pengembang roti.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2019 sampai dengan bulan Agustus 2020. Pengambilan sampel buah salak pondoh (*Salacca edulis*) dilaksanakan di Desa Keras RT 01, RW 02 Kecamatan Diwek Kabupaten Jombang. Penelitian berbasis laboratorium dilakukan di laboratorium Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Isolasi dan identifikasi morfologi khamir dilakukan di Laboratorium Optik dan Laboratorium Mikrobiologi. Uji *screening* biokimia dan uji pengembang roti dilakukan di Laboratorium Pangan dan Biokimia.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, *beaker glass*, *erlenmeyer*, gelas ukur, *vortex*, *blue tip*, *yellow tip*, tusuk gigi, tisu, *plastic wrap*, kertas label, aluminium foil, plastic, kamera, oven, pisau, sendok, *spreader*, *stirrer*, *sentrigugator*, tabung reaksi, tabung durham, pinset, jarum ose, lemari pendingin, timbangan analitik, mikropipet, spatula, *deckglass*, *object glass*, inkubator, *hotplate*, *shaker*, *Laminar Air Flow* (LAF), mikroskop cahaya Nikon Eclipse E200, mikroskop *computer* binokuler Nikon SMZ-1500, spektrofotometri, gelas selai, autoklaf sterilisasi dan autoklaf destruksi.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah salak pondoh (*Salacca edulis*). Media yang digunakan yakni YPG Agar (*Yeast Pepton Glukosa Agar*), YPG (*Yeast Pepton Glukosa Broth*, *Sodium DL-Lactate*, YMEA (*Yeast Malt Extract Agar*), YMB (*Yeast Malt Broth*), *Lead Acetate Medium*, NaOH, media fermentasi karbohidrat (glukosa, galaktosa, sukrosa, sukrosa dan laktosa), *acid fuhsin*, NaCl, tepung terigu, gula, alkohol dan aquades.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan cara dibungkus cawan petri dengan kertas dan alat- alat kaca dibungkus dengan aluminium foil kemudian semuanya dimasukkan ke dalam plastik tahan panas Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf sterilisasi suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.2 Pembuatan Media

3.4.2.1 YMB

YMB dibuat berdasarkan Kurtzman dan Fell (1998). Komposisi yang digunakan yaitu 3 gram *yeast extract*, 3 gram *malt extract*, 5 gram pepton, 10 gram glukosa; suhu 24°C pada pH 5,5 yang dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dihomogenkan

menggunakan *hotplate stirrer*. Media yang telah homogen selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. YMB telah steril didiamkan hingga suhu mencapai 50°C kemudian ditambahkan dengan Sodium DL-Lactat sebanyak 120 µL sebagai antibakteri (Biomedical Engineering, 2015).

3.4.2.2 YMEA

YMEA dibuat dengan mengikuti James, *et al* (1996). Komposisi yang digunakan terdiri dari *yeast extract* 3 gram, *malt extract* 3 gram, pepton 5 gram, glukosa 10 gram dan *microbial* agar 20 gram dalam 1 liter aquades Media dibuat dalam tabung Erlenmeyer kemudian dihomogenkan menggunakan stirrer dan dipanaskan pada hot plate. Media yang telah homogen selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. YMEA yang telah disterilisasi didiamkan hingga 50°C kemudian ditambahkan dengan Sodium DL-Lactat sebanyak 120 µL sebagai antibakteri (Biomedical Engineering, 2015). Media dituang pada setiap cawan petri sebanyak 20 ml. Media agar didiamkan dan ditunggu hingga memadat kemudian disimpan di lemari pendingin untuk digunakan inokulasi selanjutnya.

3.4.2.3. *Glucose Yeast Peptone Broth* (GYPB) Konsenterasi Glukosa 50%

GYPB dibuat dengan mengikuti Kurtzman dan Fell (1998). Komposisi 5 gram *yeast extract*, 5 gram pepton, dan 500 gram glukosa dalam 1000 ml aquades. Media dilarutkan dalam dalam *beaker glass* kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke tabung- tabung reaksi. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan *autoclaf*. Media yang telah steril didiamkan lalu digunakan untuk uji GYPB glukosa 50%.

3.4.2.4 *Yeast Peptone Glucose Broth* (YPGB)

YPGB dibuat berdasarkan acuan oleh Asyikeen (2013), dengan mengencerkan 20 gram glukosa, 20 gram pepton, 10 gram *yeast extract* pada 1000 mL aquades. Media dihomogenkan dalam *beaker glass* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril siap digunakan untuk uji selanjutnya.

3.4.2.5 Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA)

YPGA dibuat mengikuti Asyikeen (2013), dengan membuat komposisi 1 L YPG Agar pada 20 gram glukosa, 20 gram pepton, 10 gram *yeast extract* dan 1000 mL aquades. Selanjutnya dihomogenkan kemudian sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril, dituangkan ke masing- masing cawan petri dan didiamkan hingga mengeras.

3.4.2.6 Lead Acetate

Lead acetate dibuat menggunakan acuan oleh Karki (2017). Komposisi yang digunakan dalam pembuatan 1000 mL media yaitu 5 gram *yeast extract*, 3 gram pepton, 40 gram glukosa, 1 gram *lead acetate*, 20 gram *microbial agar* dan 1000 mL aquades. Selanjutnya dihomogenkan kemudian dilakukan sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, media dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL dan ditunggu hingga mengeras.

3.4.2.7 Media Fermentasi Karbohidrat

Media fermentasi karbohidrat mengikuti acuan buku Atlas (2005). Komposisi yang dibutuhkan untuk membuat 1000 ml media tersebut yaitu 50 ml *carbohydrat solution*, 10 ml *Andrade's indicator*, 10 gram pepton, 3 gram *meat extract* dan 5 gram NaCl. Media fermentasi dibuat dengan mengencerkan semua bahan selain *carbohydrat solution* dengan 990 ml aquades. Pembuatan *carbohydrat solution* dan *andrade's indicator* dilakukan secara terpisah. Media 100 mL *carbohydrat solution* dibuat dengan mencampurkan 10 gram gula dalam 100 ml aquades. Gula yang digunakan dalam penelitian ini adalah galaktosa, sukrosa, fruktosa, glukosa dan laktosa. Sedangkan untuk membuat 100 ml *Andrade's indicator* dibutuhkan NaOH (1 N solution) 16 ml dan *acid fuchsin* 0,1 gram yang dilarutkan dalam aquades.

Media fermentasi karbohidrat dihomogenkan hingga media berubah warna menjadi merah dan dimasak sampai mendidih. Media dicampurkan dengan *carbohydrat solution* sampai homogen. Setelah media tercampur dengan sempurna, dimasukkan 10 ml pada masing- masing tabung reaksi yang telah diletakkan tabung durham didalamnya. Tabung durham dipastikan masuk memenuhi media

fermentasi dengan cara mengocok tabung reaksi perlahan. Selanjutnya tabung reaksi yang berisi media ditutup dan dilakukan sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media didiamkan hingga dingin kemudian dimasukkan 0,5 ml *carbohidrat solution* steril pada setiap tabung.

3.4.3 Prosedur Isolasi Khamir

Isolasi khamir dilakukan pada daging buah salak pondoh varietas pondo (*Salacca edulis*). Isolasi dilakukan dengan mempersiapkan sampel buah salak pondoh secara steril dengan cara membersihkan bagian daging buah dengan menggunakan pisau yang telah dibersihkan dengan alkohol untuk memotong. Kegiatan penelitian ini dilakukan di dalam LAF. Sampel buah salak pondoh yang telah disiapkan, dipisahkan terlebih dahulu dari kulitnya dan ditimbang di neraca analitik sebanyak 15 gram. Selanjutnya diinkubasi pada media cair YMB 50 ml dan ditutup hingga rapat dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 27°C (Watanabe, 2016). Proses fermentasi ditandai dengan adanya gelembung udara, volume yang meningkat dan aroma fermentasi yang dijadikan sebagai acuan tumbuhnya khamir (Kurtzman dan Fell, 1998).

Khamir yang diidentifikasi tumbuh pada media YMB selanjutnya dilakukan proses pengenceran. Teknik pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 ml larutan sampel yang ditumbuhkan pada media YMB kemudian dimasukkan ke tabung reaksi yang sudah terdapat 9 ml larutan aquades steril. Menurut Rashid (2013), pengenceran dilakukan sampai 10^{-3} dan pada pengenceran¹⁰⁻³ tersebut dituangkan sebanyak 200 µl ke dalam cawan petri yang berisi media YMEA dan diratakan dengan metode *spread plate* (sebanyak 3 kali ulangan) kemudian diinkubasi pada suhu 27°C selama 72 jam.

3.4.4 Purifikasi

Isolat khamir yang sudah tumbuh pada media YMEA selanjutnya diambil 1 koloni menggunakan ose dan diinokulasikan pada 3 ml YMB. Isolat di shaker pada suhu ruang selama 48 jam. Pertumbuhan khamir diamati dan dilakukan subkultur untuk mendapatkan khamir yang murni. Pemurnian khamir dari hasil isolasi merupakan purifikasi. Purifikasi menurut Widiastutik (2014), bertujuan untuk

mendapatkan isolat murni khamir dengan cara memilih koloni yang tumbuh secara dominan dan memiliki karakteristik berbeda dengan koloni lainnya. Isolat diambil 20 µl yang diinokulasikan pada media YMEA dengan teknik *spread plate* diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 27°C. Dilakukan kultur pada YMEA dengan *streak kuadran plate* pada media YMEA pada suhu 27°C selama 48 jam. Koloni dipilih berdasarkan koloni yang terpisah (Kanti, 2004), mendapatkan kultur murni dilakukan identifikasi.

3.4.5 Pengamatan Morfologi Mikroskopik dan Makroskopik Khamir

Teknik pengamatan secara mikroskopis mengikuti jurnal Ma'aruf *et al.*, (2011), yaitu isolat khamir hasil purifikasi 72 jam diletakan pada *deck glass* diteteskan aquades steril. Apusan yang sudah kering ditambahkan pewarna *methylene blue* dan dikeringkan lagi. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan awal perbesaran 4x10 sampai 100x10 dengan melihat ukuran, *budding* dan bentuk sel (Suryaningsih, 2018). Identifikasi makroskopik dilakukan pada isolat hasil purifikasi berumur 72 jam. Teknik identifikasi secara makroskopis pada buku *The Yeast: A Taxonomy Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Hasil yang diamati pada media YMEA, meliputi: warna, permukaan, tekstur, elevasi, dan margin atau tepi koloni khamir (Suryaningsih, 2018).

3.4.6 Uji Screening Biokimia

3.4.6.1 Kemampuan Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat adalah yang menggunakan karbohidrat tertentu sehingga dapat difermentasi menjadi sejumlah produk akhir yang berbeda tergantung pada isolat khamir yang terlibat. Karbohidrat yang digunakan penelitian ini terdiri dari fruktosa, galaktosa, glukosa, laktosa dan sukrosa. Menurut Karki *et al.*, (2017), bahwa khamir yang digunakan pada uji pengembang roti tidak mampu melakukan fermentasi pada laktosa. Uji ini menggunakan isolat khamir diambil dari media YMB berusia 48 jam sebanyak 100 µl dimasukkan ke dalam 10 ml larutan fermentasi karbohidrat dengan konsentration gula 10% (m/v). Indikator pH dalam larutan fermentasi karbohidrat yaitu *Andrade's indicator*. Pengamatan uji ini dilakukan selama 7 hari kemudian diukur pH pada masing- masing tabung reaksi

menggunakan kertas pH yang dimasukkan ke dalam larutan uji fermentasi karbohidrat.

Uji fermentasi karbohidrat bertujuan untuk mengidentifikasi adanya fermentasi karbohidrat menjadi etanol jika media berwarna merah dan disertai adanya gelembung dan apabila terjadi perubahan warna merah menjadi merah muda mengidentifikasi khamir telah menghasilkan asam karena terjadi fermentasi gula (Atlas, 2005). Gelembung gas yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat dideteksi dengan menggunakan tabung kecil terbalik, yang disebut sebuah tabung durham. (Harley dan Prescott, 2002). Tabung durham berfungsi menangkap gelembung yang mengidentifikasikan adanya karbon dioksida yang merupakan hasil dari proses fermentasi (Ma'aruf *et al.*, 2011).

3.4.6.2 Uji Toleransi YPG Broth Konsentrasi Gula 50%

Uji toleransi pada media YPG konsentrasi glukosa 50% dengan menumbuhkan khamir ke dalam media YPG dengan kadar konsentrasi glukosa 50% (m/v) dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam (Ali dan Khan, 2014). Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat khamir bertahan hidup pada media dengan glukosa yang tinggi. Nilai kerapatan khamir dihitung menggunakan Spektrofotometer UV-vis dengan panjang gelombang 600 nm selama 24 jam sekali dan media pertumbuhan sebagai blank (Natsir, *et al* 2017). Herrera, *et al* (2009), menambahkan bahwa hanya sekitar 20%- 50% khamir yang dapat hidup pada lingkungan dari kadar tinggi. Khamir yang mampu hidup dalam glukosa tinggi dapat membantu proses fermentasi dan sebagai indikator dapat dimanfaatkan sebagai pengembang roti (Thais, 2006).

3.4.6.3 Uji Toleransi Etanol

Uji toleransi etanol dilakukan dengan mengikuti Olowonibi (2017), yaitu menumbuhkan isolat khamir pada tabung reaksi berisi media YPG broth. Setiap tabung yang berisi media YPG broth ditambahkan ethanol dengan 3 konsentrasi yang berbeda yakni 10%, 13%, dan 15% (b/v) kemudian diinkubasi dengan suhu 30°C selama 72 jam. Natsir *et al.*, (2017), menambahkan bahwa kepadatan sel khamir dihitung sebelum dan sesudah diinkubasi menggunakan spektrofotometer

UV-vis dengan media pertumbuhan sebagai blank dan panjang gelombang 600 nm. Parameter yang diamati adalah ada tidaknya khamir yang tumbuh pada media YPG broth (Thais *et al.*, 2006). Menurut Cho *et al.*, (2010), khamir yang dapat melakukan fermentasi menjadi etanol pada roti akan menyebabkan aroma yang harum.

3.4.6.4 Uji Toleransi Suhu

Uji toleransi suhu dilakukan dengan mengikuti Olowonibi (2017), yaitu menumbuhkan isolat khamir pada cawan petri berisi media YPG agar sebagai data kualitatif dan 10 ml tabung reaksi berisi media YPG broth sebagai data kuantitatif. Isolat khamir diinkubasi dalam inkubator dengan 3 suhu berbeda, yakni 30°C, 37°C, dan 45°C selama 72 jam. Nasir, *et al.*, (2017), menambahkan bahwa kepadatan sel khamir dihitung sebelum dan sesudah diinkubasi menggunakan spektrofotometer UV-vis dengan media pertumbuhan sebagai blank dan panjang gelombang 600 nm. Kemampuan ragi untuk tumbuh pada suhu yang lebih tinggi adalah diversifikasi dengan melapisi isolat ragi ke *Yeast Peptone Glucose* (YPG) (Thais *et al.*, 2006). Parameter yang diamati adalah setelah inkubasi, mengetahui kemampuan isolat khamir yang bertahan pada suhu tinggi. Dawson (1994), khamir yang memiliki toleransi dengan suhu tinggi tersebut dapat digunakan dalam pengembang roti karena dapat mempengaruhi proses fermentasi khamir.

3.4.6.5 Uji Hidrogen Sulfida (H₂S)

Uji kemampuan produksi Hidrogen sulfida mengikuti Karki, *et al.*, (2017), yaitu khamir diinokulasi pada media miring *lead acetate* dengan metode *streak plate* di permukaan kemudian ditusuk sampai dasar bagian media. Diinkubasi suhu 30°C selama 7 hari. Tsegaye *et al.*, (2018), isolat khamir yang tidak mampu memproduksi H₂S memiliki karakteristik koloni berwarna putih, sedangkan khamir yang mampu memproduksi H₂S akan membentuk koloni berwarna coklat hingga hitam pada media tergantung pada intensitas H₂S yang dihasilkan. Parameter yang diamati yaitu ada tidaknya perubahan koloni khamir pada media *lead acetate*. Isolat khamir yang memproduksi H₂S dengan jumlah besar adalah tidak diinginkan, karena H₂S memberikan bau dan rasa yang busuk sehingga dapat mengurangi kualitas roti (Stratford, 1992).

3.4.6.6 Uji Flokulasi

Uji ini dilakukan dengan mengikuti jurnal Karki *et al.*, (2017), yaitu khamir diinokulasi pada 10 ml YPG broth kemudian diinkubasi suhu 30°C selama 3 hari. Menurut Soares (2011), sel khamir yang memiliki kemampuan untuk flokulasi disebabkan oleh proses adhesi sel yang merupakan karakteristik yang dibutuhkan untuk pembuatan roti karena lebih mudah dipisahkan dari media tanpa ada proses sentrifugasi dan filtrasi. Parameter yang diamati adalah ada tidaknya endapan yang menandakan terbentuknya flok.

3.4.7 Uji Pengembang Roti

Metode kultivasi isolat khamir mengacu pada penelitian Ma'aruf *et al.*, (2011), yang dimodifikasi. Isolat khamir yang berbeda diinokulasikan secara terpisah pada media cair *Yeast Peptone Glucose Broth* (YPG broth). YPG broth sebanyak 10 ml dituangkan ke dalam 10 tabung *falcon* ukuran 15 ml kemudian disentrifugasi untuk tiap isolat secara aseptis. Isolat khamir diinokulasikan ke dalam 7 tabung yang berisi media tersebut. Selanjutnya dihomogenisasi dan diinkubasi pada suhu ruang 30 ±2°C menggunakan *shaker* selama 72 jam.

Sel khamir didapatkan setelah tahapan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Tahapan sentrifugasi dilakukan setelah pengamatan dan masa inkubasi 72 jam. Berdasarkan Ma'aruf *et al.*, (2011), hasil sentrifugasi akan menghasilkan pellet khamir untuk kemudian diambil sebanyak 2,2 gram. Khamir sebanyak 2,2 gram diinokulasikan ke dalam larutan gula 6% dalam 30 ml air hangat untuk mengaktifkan sel –sel khamir tersebut. Larutan khamir atau ragi tersebut dituangkan dan dicampurkan bersama 50 gram tepung dan 1% gram hingga kalis.

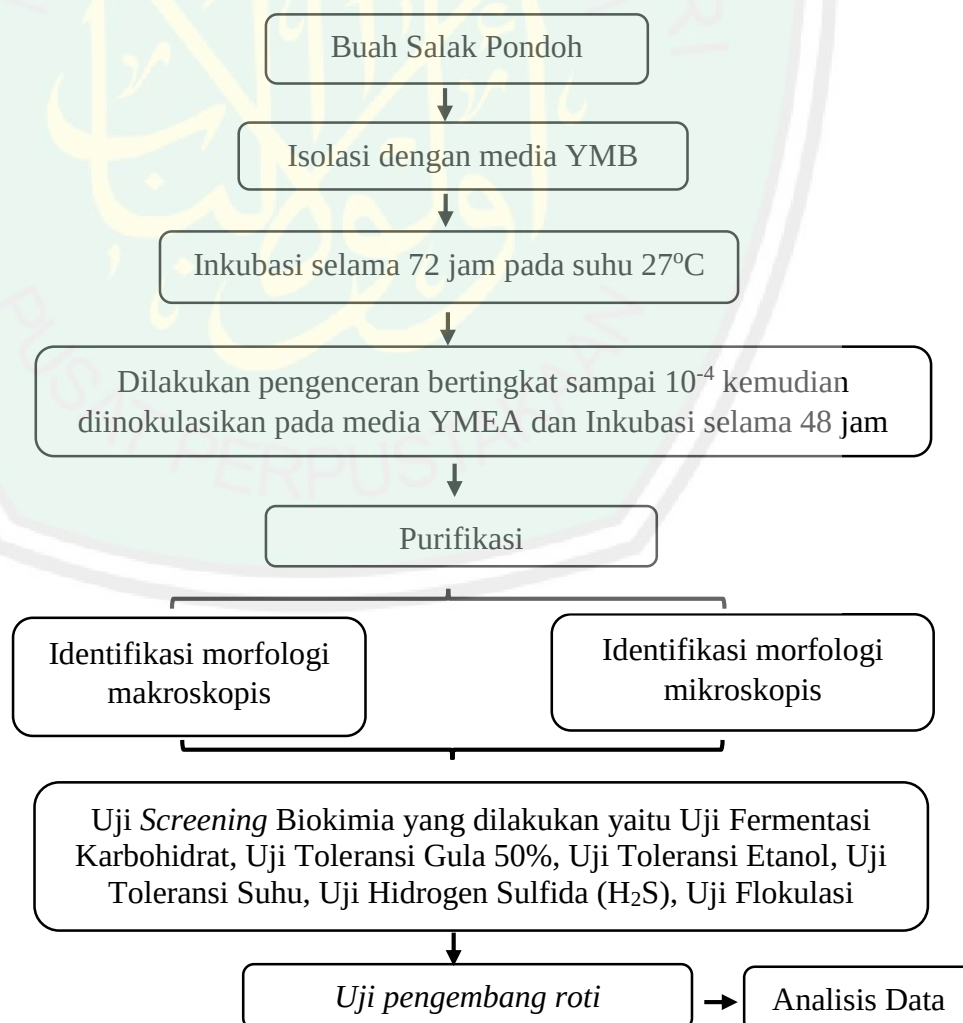
K1 merupakan strain ragi komersial jenis saf-instant yang digunakan sebagai *control* positif ditambahkan ke dalam adonan, sedangkan adonan lain tanpa ditambahkan ragi maupun sel khamir apapun berperan sebagai *control* negatif. Proses pengembangan adonan dapat diamati setelah didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang 30°C dalam keadaan adonan tertutup oleh *plastic wrap*. Pemangangan adonan roti dilakukan pada suhu 180°C selama 20 menit bertujuan untuk pengamatan warna permukaan roti, tekstur *crumb*, dan aroma roti. Selain itu, dilakukan pengamatan laju pengembangan adonan. Metodenya dilakukan dengan

mengambil 10 gram dari adonan yang telah dibuat sebelumnya untuk diletakkan dalam labu ukur dalam keadaan tertutup. Adanya penambahan volume untuk masing- masing sampel adonan diamati dan dicatat setiap 30 menit selama 2 jam (Karki, *et al.* 2017).

3.5 Analisis Data

Analisis data diolah menggunakan *Microsoft Excel* dalam perhitungan kepadatan sel khamir dan secara deskriptif yaitu identifikasi mikroskopik, makroskopik, *screening* biokimia dan uji pengembang roti. Analisa data yang digunakan untuk identifikasi morfologi secara mikroskopis, makroskopis, dan *screening* biokimia menggunakan panduan buku *The Yeast: A Taxonomy Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Uji pengembang roti menggunakan acuan dari Watanabe *et al.*, (2016), selanjutnya integrasi berdasarkan Al-Qur'an atau Hadits.

3.6 Desain Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakterisasi Morfologi Khamir dari Isolasi Buah Salak Pondoh

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh delapan jenis isolat khamir yang berhasil diisolasi dari buah salak kultivar pondoh (*Salacca edulis*). Khamir- khamir yang berhasil ditemukan tersebut, diberikan kode isolat sebagai berikut, yaitu: YIS-1, YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6, YIS-7, dan YIS-8. Isolat khamir yang telah ditemukan, dipilih berdasarkan dua kali pemisahan koloni yang mengacu pada penelitian (Diana dan Lasmini, 2016), sehingga diperoleh kemurnian yang tinggi. Karakterisasi dengan mengidentifikasi isolat khamir tersebut menggunakan buku acuan “*The Yeast: A Taxonomy Study*”, berdasarkan karakter morfologi baik secara mikroskopis dan makroskopis oleh Kurtzman dan Fell (1998). Hasil identifikasi morfologi secara mikroskopis dapat dilihat pada tabel 4.1 dan secara makroskopis dapat dilihat pada tabel 4.2. Delapan isolat khamir tersebut memiliki perbedaan karakter morfologi.

Pengamatan morfologi karakter khamir secara mikroskopis dilakukan dengan perbesaran 100 x 10 μm . Identifikasi khamir disesuaikan dengan acuan oleh Kurtzman dan Fell (1998), dalam bukunya yg berjudul *The Yeast: A Taxonomy Study* bahwa morfologi karakteristik khamir secara mikroskopis dapat diamati melalui bentuk sel, *budding*, ukuran sel dan reproduksi vegetatif dengan pertunasan atau pembelahan.

Tabel 4.1 Morfologi Mikroskopis Khamir

Kode isolat	Bentuk Sel	Morfologi sel		
		Reproduksi Vegetatif	Pseudohifa /Hifa Sejati	Ukuran sel (μm)
YIS-1	Bulat - elips	Monopolar	-	[(4,05 – 6,88) x (5,14 – 9,10)]
YIS-2	Bulat	Multilateral	-	[(5,35 – 7,70) x (6,77 – 7,20)]
YIS-3	Bulat	Multilateral	-	[(5,81 – 7,92) x (4,92 – 7,61)]
YIS-4	Oval	Multilateral	-	[(6,17 – 7,87) x (6,46 – 8,05)]
YIS-5	Oval	Multilateral	-	[(5,06 – 7,02) x (4,72 – 6,83)]
YIS-6	Oval	Multilateral	-	[(4,30 – 5,14) x (4,26 – 6,79)]
YIS-7	Oval	Multilateral	Pseudohifa	[(5,72 – 8,63) x (4,59 – 9,39)]
YIS-8	Oval - memanjang	Multilateral	Pseudohifa	[(2,34 – 5,36) x (6,39 – 11,2)]

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan yang ada pada tabel 4.1 bahwa semua isolat khamir dari buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw) dapat membentuk askospora. Askospora dihasilkan secara reproduksi seksual dalam askus khamir. Hal ini sesuai dengan pernyataan Widiastutik (2014), bahwa khamir dalam kelompok *Ascomycetes* dapat menghasilkan askospora. Kelas *Ascomycetes* terdiri dari tiga sub kelas yaitu *Archiascomycetes*, *Euascomycetes*, dan *Hemiascomycetes* (Kutzman dan Sugiana, 2001).

Isolat khamir YIS-1 secara pengamatan mikroskopis pada reproduksi aseksual yaitu dengan pertunasan monopolar (*monopolar budding*), sedangkan isolat YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6, YIS-7 dan YIS-8 reproduksi aseksual dengan pertunasan multilateral (*multilateral budding*) (Tabel 4.1). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tersebut, bahwa delapan isolat khamir yang telah ditemukan dari buah salak pondoh termasuk dalam sub kelas *Hemiascomycetes* karena reproduksi aseksual dengan pertunasan (*budding*). Hal ini sesuai dengan pernyataan oleh Hammamoto dan Nakase (2000), bahwa sub kelas *Hemiascomycetes* reproduksi aseksual dengan pembentukan tunas (*budding*).

Pengamatan morfologi karakteristik khamir secara makroskopis pada isolat khamir meliputi tepi, elevasi, warna, permukaan, tekstur dan bentuk. Isolat khamir yang diamati yaitu koloni yang tidak berlendir, tumbuh terpisah, dan berwarna (Simbolon, 2018). Pelczar (1998), menyatakan ciri khamir lainnya yaitu terdapat spora, tidak mengkilat, dan berwarna putih kekuningan atau putih susu. Simbolon (2018), menambahkan bahwa khamir dapat diamati berdasarkan bau yang dihasilkan isolat tersebut seperti tape (alkohol).

Tabel 4.2 Morfologi Makroskopis Khamir

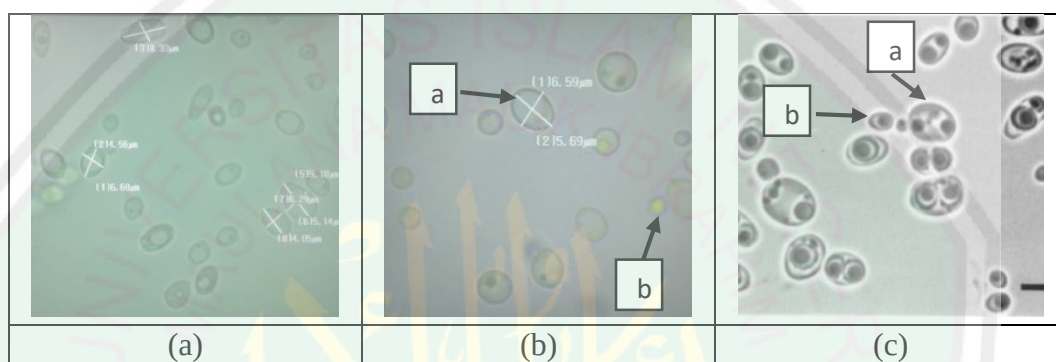
Kode Isolat	Morfologi Koloni					
	Bentuk	Tekstur	Warna	Permukaan	Elevasi	Tepi
YIS-1	Circular tepi timbul	Kental mentega	Putih Krem	Halus dan kusam	timbul	Rata
YIS-2	Circular tepi serabut	Kental mentega	Putih krem	tidak halus dan kusam	timbul	Filamen
YIS-3	Circular tepi timbul	Kental mentega	Putih krem	Halus dan kusam	timbul	Rata
YIS-4	Circular tepi serabut	Kental mentega	Putih bening	tidak halus dan kusam	timbul	Filamen
YIS-5	Circular tepi timbul	Kental mentega	Putih bening	Halus dan kusam	timbul	Rata
YIS-6	Circular tepi timbul	Kental mentega	Krem	Halus dan kilau	Umbronat	Tidak rata
YIS-7	Circular tepi serabut	Kental mentega	Krem	tidak halus dan kusam	timbul	Filamen
YIS-8	Circular tepi serabut	Kental mentega	Krem	tidak halus dan kusam	timbul	Filamen

Berdasarkan data yang diperoleh, pada tabel 4.2 dapat diamati bahwa semua isolat khamir memiliki warna dominan yaitu yaitu krem dan putih. Webster dan Weber (2007), menyatakan bahwa kelompok khamir *Basidiomycetes* mengandung karotenoid sehingga memiliki pigmen warna merah, orange, kuning dan merah muda, sedangkan *Ascomycetes* memiliki warna dominan putih dan krem karena tidak adanya pigmen warna. Hal ini didukung oleh Spencer (1997), hampir 90% khamir mempunyai penampakan morfologi putih kekuningan. Berdasarkan pernyataan tersebut, menguatkan bahwa delapan isolat khamir yang ditemukan dari buah salak pondoh termasuk ke dalam kelas *Ascomycetes*.

4.1.1 Isolat Khamir Kode YIS-1

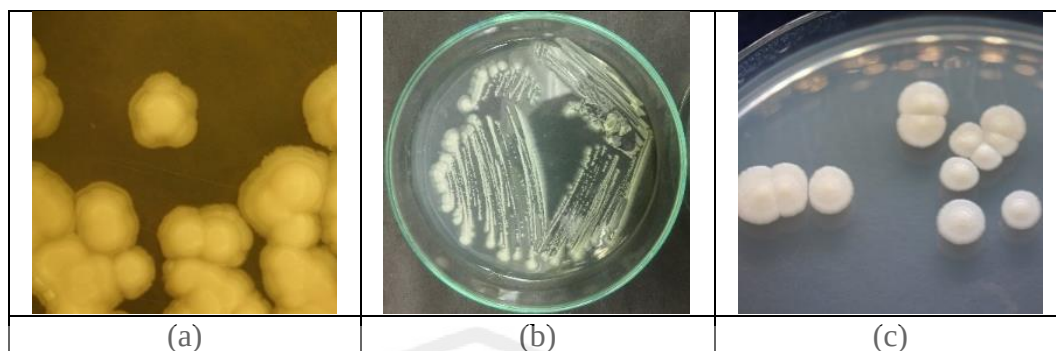
Hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YIS-1 (gambar 4.1 a) memiliki ukuran [(4,05– 6,88) x (5,14 – 9,10)] dan bentuk bulat, elips. Reproduksi vegetatif dengan cara pertunasan monopolar dan reproduksi seksualnya secara askospora dan tidak memiliki pseudohifa maupun hifa sejati (gambar 4.1 b). Berdasarkan hasil tersebut, isolat YIS-1 secara identifikasi mikroskopik memiliki kemiripan yang sama dengan Genus *Pichia* dalam Subkelas *Hemiascomycetes* kelas *Ascomycetes* dengan pertunasan monopolar (gambar 4.1 c).

Hal ini sesuai dengan penelitian Ashlila (2014), Genus *Pichia* memiliki bentuk sel elips, bulat dengan askospora berbentuk *spheroidal*, atau *hemispheroidal*, *hat-shaped*. Reproduksi seksual yaitu membentuk askospora (1 - 4 askus). Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetatif khamir dengan *budding cell* termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*. Alfian (2019), menambahkan juga bahwa Genus *Pichia* tidak memiliki pseudohifa maupun hifa sejati dan pertunasan monopolar (hanya ada pada satu kutub sel induk).



Gambar 4.1 a) Sel isolat YIS-1 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan monopolar), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan monopolar *Pichia fluxuum*) (Kurtzman dan Fell, 1998).

Hasil pengamatan morfologi makroskopis khamir YIS-1 (gambar 4.2. a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi timbul, tekstur kental seperti mentega, permukaan halus. Koloni dengan elevasi timbul warna putih krem, tepi rata dan kenampakan kusam (gambar 4.2 b). Berdasarkan hasil tersebut, isolat YIS-1 secara makroskopik memiliki kemiripan yang sama dengan genus *Pichia* dalam kelompok *Ascomycetes* (4.2 c). Hal ini sesuai dengan Kurtzman (1998), bahwa kelas *Ascomycetes* memiliki warna dominan krem dan putih. Tsegaye (2016), juga menambahkan bahwa genus *Pichia* memiliki pigmentasi warna putih, dengan elevasi yaitu timbul (*timbul*), bentuk *circular* tekstur halus.

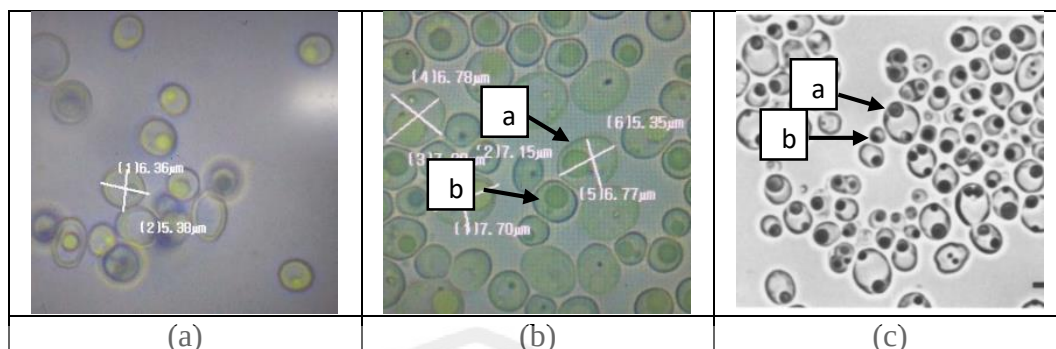


Gambar 4.2 a) Koloni isolat YIS-1 perbesaran 11x, b) koloni isolat YIS-1, c) *Pichia fluxuum* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.1.2 Isolat Khamir Kode Y1S-2

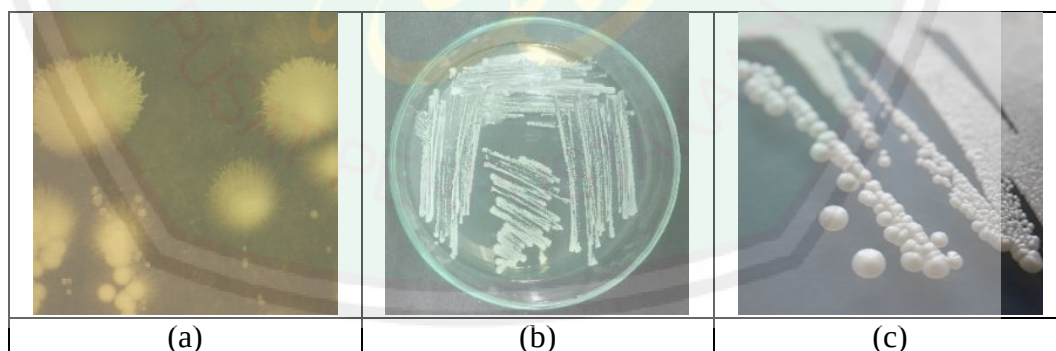
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YIS-2 (gambar 4.3 a) memiliki ukuran $[(5,35 - 7,70) \times (6,77 - 7,20)]$ dan bentuk bulat. Reproduksi vegetatif dengan cara pertunasan multilateral dan reproduksi seksualnya secara askospora dan tidak memiliki pseudohifa maupun hifa sejati (gambar 4.3 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-2 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Saccharomyces* dalam subkelas *Hemiascomycetes* kelas *Ascomycetes* dengan pertunasan multilateral (gambar 4.3 c).

Hal ini sesuai dengan penelitian Ashlila (2014), bahwa Genus *Saccharomyces* memiliki tipe reproduksi vegetative dengan *multilateral budding*, sel berbentuk bulat. Simbolon (2018), menyatakan bahwa khamir Genus *Saccharomyces* tidak memiliki hifa. Nurhariyati, *et al.* (2004), dalam penelitiannya menambahkan bahwa *Saccharomyces* memiliki karakteristik sel yaitu berbentuk bulat, *multilateral budding*, tidak ada hifa sejati maupun pseudohifa, dan memiliki variasi ukuran sel yaitu $[(2,5-5) \times (3,5-5) - (3-6) \times (5-7,5)] \mu\text{m}$. *Saccharomyces* memiliki ciri seperti bentuk asci tidak mudah pecah, tidak memiliki ballistopora dan memiliki askospora dengan bentuk bulat-oval (Jumiyati, *et al.*, 2012). Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetatif khamir dengan *budding cell* termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*.



Gambar 4.3 a) Sel isolat YIS-2 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral *Saccharomyces disporus*) (Kurtzman dan Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat khamir YIS-2 (gambar 4.4 a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi serabut, tekstur kental seperti mentega, warna putih krem, permukaan tidak halus. *Saccharomyces* memiliki elevasi timbul, tepi filamen dan kenampakan kusam (gambar 4.4 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-2 secara makroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Saccharomyces* class *Ascomycetes* (gambar 4.4 c). Hal ini sesuai dengan penelitian Ashlila (2014), menyatakan bahwa koloni genus *Saccharomyces* memiliki tekstur kental, tidak berpigmen karotenoid, bentuk bundar dengan elevasi cembung atau timbul. De Oca Montes, *et al.*, (2016), menambahkan bahwa karakteristik *Saccharomyces* yaitu warna putih krem, kusam, permukaan lembab dan tekstur halus.



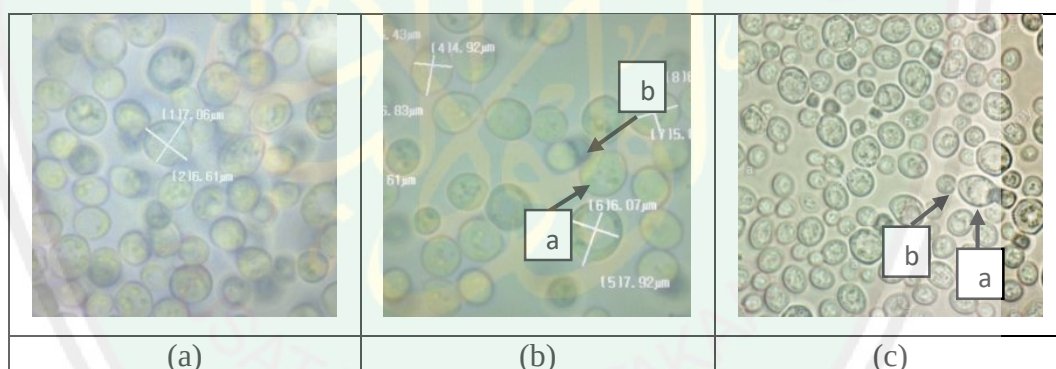
Gambar 4.4 a) Koloni isolat YIS-2 perbesaran 11 x, b) koloni isolat YIS-2, c) *Saccharomyces disporus* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.1.3 Isolat Khamir Kode YIS-3

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YIS-3 (gambar 4.5 a) memiliki ukuran [(5,81– 7,92) x (4,92 – 7,61)] dan bentuk bulat.

Reproduksi vegetatif dengan cara pertunasan multilateral dan reproduksi seksualnya secara askospora dan tidak memiliki pseudohifa maupun hifa sejati (gambar 4.5 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-3 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir *Saccharomyces* dalam subkelas *Hemiascomycetes* kelas *Ascomycetes* pertunasan multilateral (gambar 4.5 c).

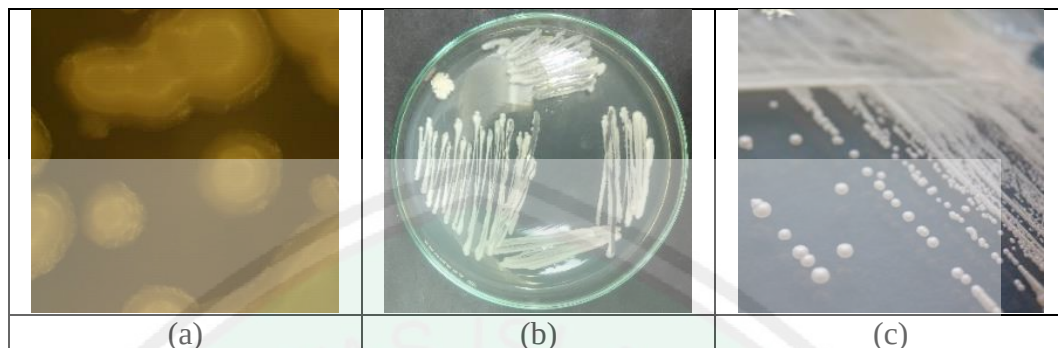
Hal ini sesuai dengan penelitian Ashlila (2014), bahwa Genus *Saccharomyces* memiliki tipe reproduksi vegetatif dengan *multilateral budding*. Nurhariyati, *et al.* (2004), menyatakan bahwa *Saccharomyces* memiliki karakteristik sel yaitu berbentuk bulat, tidak ada hifa sejati maupun pseduohifa, dan memiliki variasi ukuran sel yaitu $[(2,5-5) \times (3,5-5) - (3-6) \times (5-7,5)] \mu\text{m}$. Jumiyati, *et al.* (2012), menambahkan bahwa *Saccharomyces* memiliki bentuk asci tidak mudah pecah, tidak memiliki ballistopora dan memiliki askospora dengan bentuk bulat-oval. Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetatif khamir dengan *budding cell* termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*.



Gambar 4.5 a) Sel isolat YIS-3 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral *Saccharomyces cerevisiae*) (Photo Researchers, 2020.)

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat khamir YIS-3 (gambar 4.6 a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi timbul, tekstur kental seperti mentega, warna putih krem, permukaan halus. Elevasi koloni *timbul*, tepi rata dan kenampakan kusam (gambar 4.6 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-2 secara makroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Saccharomyces class Ascomycetes* (gambar 4.6 c). Hal ini sesuai dengan penelitian de Oca Montes, *et al* (2016), menyatakan bahwa karakteristik *Saccharomyces* yaitu warna putih krem,

kusam, permukaan lembab dan tekstur halus. Ashlila (2014), menambahkan bahwa koloni genus *Saccharomyces* memiliki tekstur kental, tidak berpigmen karotenoid, bentuk bundar dengan elevasi cembung atau timbul.

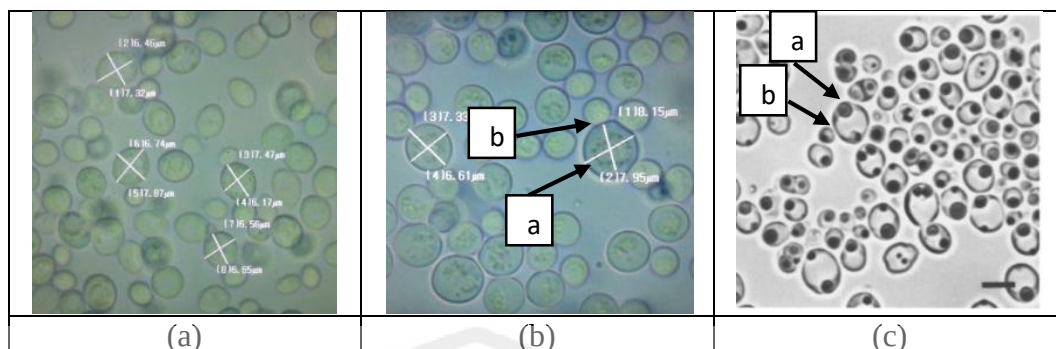


Gambar 4.6 a) Koloni isolat YIS-3 perbesaran 11 x, b) koloni isolat YIS-3, c) *Saccharomyces cerevisiae* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.1.4 Isolat Khamir Kode YIS-4

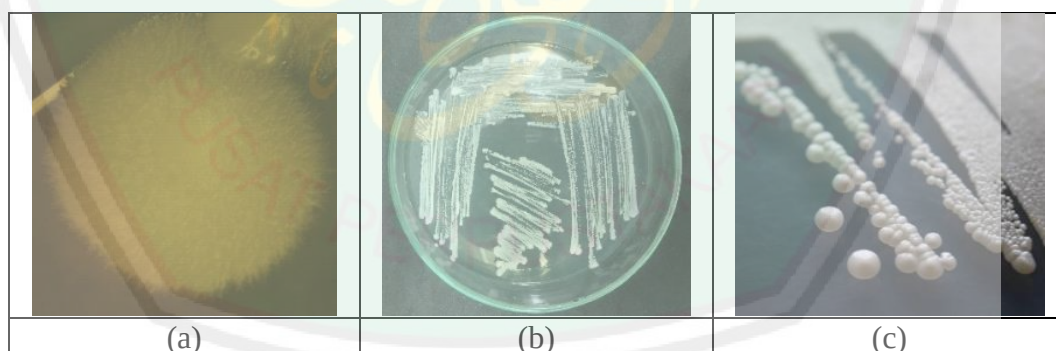
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YIS-1 (gambar 4.7 a) memiliki ukuran $[(6,17 - 7,87) \times (6,46 - 8,05)]$ dan bentuk oval. Reproduksi vegetatif dengan cara pertunasan multilateral dan reproduksi seksualnya secara askospora dan tidak memiliki pseudohifa maupun hifa sejati (gambar 4.7 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-2 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir *Saccharomyces* subkelas *Hemiascomycetes* kelas *Ascomycetes* dengan pertunasan multilateral (gambar 4.7 c).

Hal ini sesuai dengan penelitian Ashlila (2014), bahwa sel khamir Genus *Saccharomyces* berbentuk oval. Simbolon (2018), menyatakan bahwa khamir Genus *Saccharomyces* tidak memiliki hifa. Nurhariyati, *et al.*, (2004), dalam penelitiannya menambahkan bahwa reproduksi vegetatif *Saccharomyces* yaitu *multilateral budding*, dan memiliki variasi ukuran sel yaitu $[(2,5-5) \times (3,5-5) - (3-6) \times (5-7,5)] \mu\text{m}$. *Saccharomyces* memiliki ciri seperti bentuk asci tidak mudah pecah, memiliki askospora dengan bentuk bulat-oval (Jumiyati, *et al.*, 2012). Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetatif khamir dengan *budding cell* termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*.



Gambar 4.7 a) Sel isolat YIS-4 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral *Saccharomyces disporus*) (Kurtzman dan Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat khamir YIS-4 (gambar 4.8 a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi serabut, tekstur kental seperti mentega, putih bening, permukaan *dull* (tidak halus). Koloni elevasi *timbul* (timbul), tepi filamen dan kenampakan kusam (gambar 4.8 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-2 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Saccharomyces* kelas *Ascomycetes* (gambar 4.8 c). Hal ini sesuai dengan penelitian de Oca Montes, *et al* (2016), menyatakan bahwa karakteristik *Saccharomyces* yaitu warna putih krem, kusam, permukaan lembab dan tekstur halus. Ashlila (2014), menambahkan bahwa koloni genus *Saccharomyces* memiliki tekstur kental, tidak berpigmen karotenoid, bentuk bundar dengan elevasi cembung atau timbul.



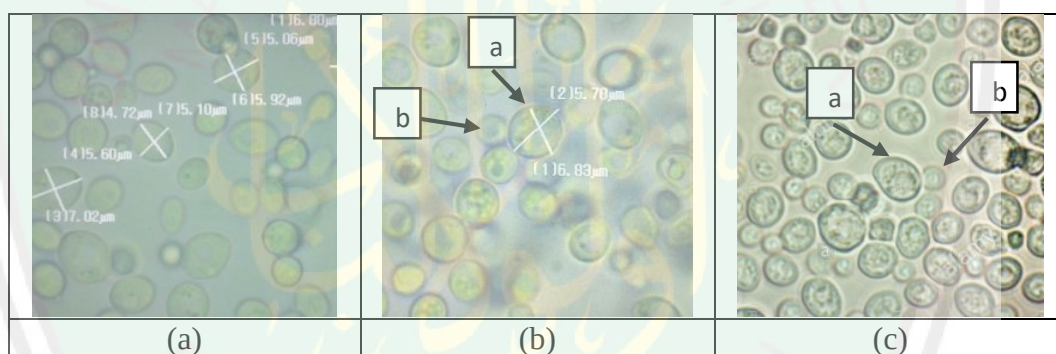
Gambar 4.8 a) Koloni isolat YIS-4 perbesaran 11 x, b) koloni isolat YIS-4, c). *Saccharomyces disporus* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.1.5 Isolat Khamir Kode YIS-5

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YIS-5 (gambar 4.9 a) memiliki ukuran [(5,06– 7,02) x (4,72 – 6,83)] dan bentuk oval. Reproduksi vegetatif dengan pertunasan multilateral dan reproduksi seksualnya

secara askospora dan tidak memiliki pseudohifa maupun hifa sejati (4.9 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-5 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Saccharomyces* subkelas *Hemiascomycetes* kelas *Ascomycetes* dengan pertunasan multilateral (4.9 c).

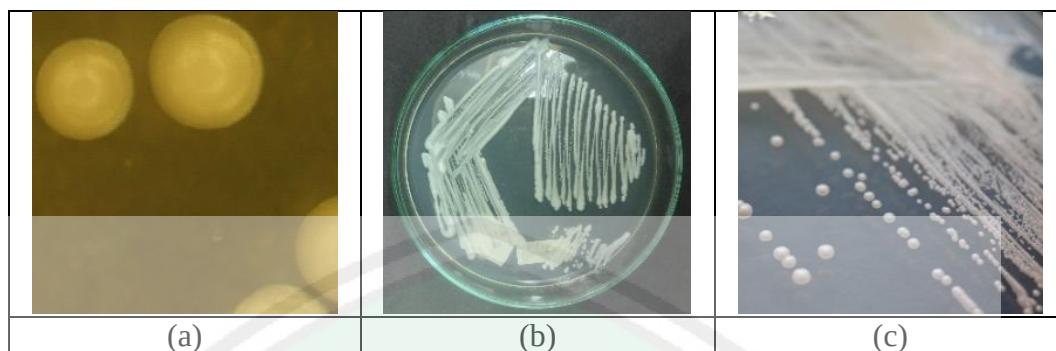
Hal ini sesuai dengan penelitian Nurhariyati, *et al.* (2004), *Saccharomyces* memiliki karakteristik sel yaitu berbentuk oval pendek, tidak ada hifa sejati maupun pseudohifa, dan memiliki variasi ukuran sel yaitu [(2,5-5)x(3,5-5)–(3-6)x(5-7,5)] μm . Ashlila (2014), menyatakan bahwa Genus *Saccharomyces* tipe reproduksi vegetatif dengan *multilateral budding*. Jumiyyati, *et al.* (2012), menambahkan bahwa *Saccharomyces* memiliki bentuk asci tidak mudah pecah, dan memiliki askospora dengan bentuk bulat-oval. Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetative dengan *budding cell* termasuk subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*.



Gambar 4.9 a) Sel isolat YIS-5 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral *Saccharomyces cerevisiae*) (Kurtzman dan Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat khamir YIS-5 (gambar 4.10 a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi timbul, tekstur kental seperti mentega, warna putih bening, permukaan halus. Elevasi khamir ini yaitu timbul, tepi rata dan kenampakan kusam (gambar 4.10 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-5 secara makroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Saccharomyces* class *Ascomycetes* (gambar 4.10 c). Hal ini sesuai de Oca Montes, *et al* (2016), bahwa karakteristik *Saccharomyces* berwarna putih krem, kusam, permukaan lembab dan tekstur halus. Ashlila (2014), menambahkan bahwa *Saccharomyces*

tekstur kental, tidak berpigmen karotenoid, bentuk bundar dengan elevasi cembung atau timbul.

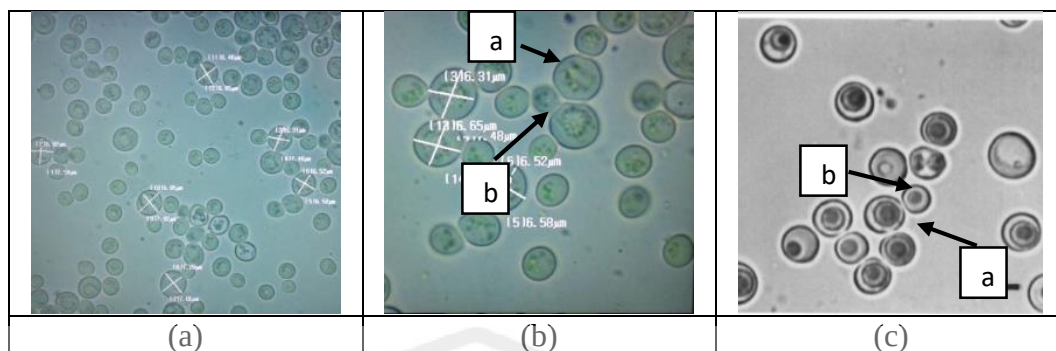


Gambar 4.10 a) Koloni isolat YIS-5 perbesaran 11 x, b) koloni isolat YIS-5, c) *Saccharomyces cerevisiae* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.1.6 Isolat Khamir Kode YIS-6

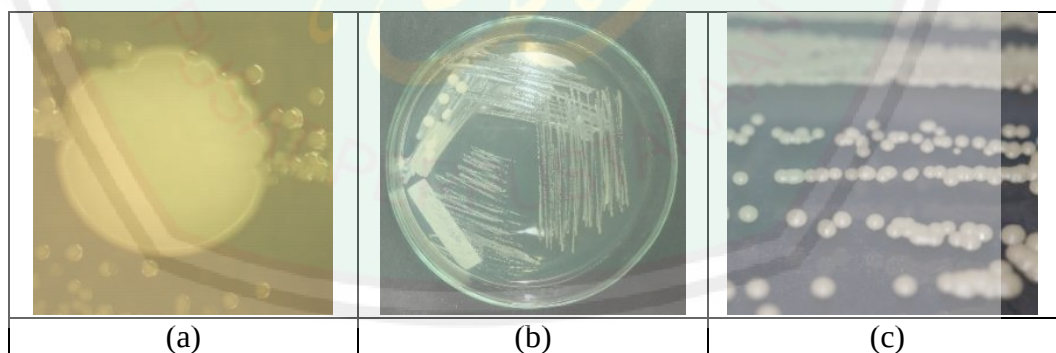
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YIS-6 (gambar 4.11 a) memiliki ukuran $[(4,30 - 5,14) \times (4,26 - 6,79)]$ dan bentuk oval. Reproduksi vegetatif dengan pertunasan multilateral dan reproduksi seksualnya secara askospora dan tidak memiliki pseudohifa (gambar 4.11 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-6 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Candida* subkelas *Hemiascomycetes* kelas *Ascomycetes* dengan pertunasan multilateral (4.11 c).

Hal ini sesuai dengan Kurtzman dan Fell (1998), yaitu *Candida* memiliki sel berbentuk globose, ellipsoida atau cylindroidal. Rafiqah (2010), menyatakan bahwa *Candida* memiliki bentuk yaitu oval, bulat. Nurhariyati (2004), menambahkan bahwa koloni memiliki ukuran bervariasi yaitu antara $(2-5) \times (2,5-10) \mu\text{m}$. Khamir *Candida* ada yang juga memiliki pseudohifa dan membentuk miselium pada beberapa spesies (Barnett, 1990). Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetatif khamir dengan *budding cell* termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*.



Gambar 4.11 a) Sel isolat YYS-6 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral *Candida globosa*). (Kurtzman dan Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat khamir YYS-6 (gambar 4.12 a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi timbul, tekstur kental seperti mentega, krem, permukaan halus. Elevasi khamir ini yaitu *umbronat/* cembung, tepi tidak rata dan kenampakan kilau (gambar 4.12 b). Berdasarkan kemiripan isolat YYS-6 secara makroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Candida class Ascomycetes* (gambar 4.12 c). Hal ini sesuai dengan penelitian Talaro (2012), bahwa Genus *Candida* memiliki *budding*, berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus dan licin pada medium padat. Hal tersebut didukung oleh penelitian Suryaningsih (2018), yang menyatakan bahwa koloni memiliki ciri berwarna putih agak krem, bentuk seperti menonjol, *circular*, dan permukaan halus mengkilap.



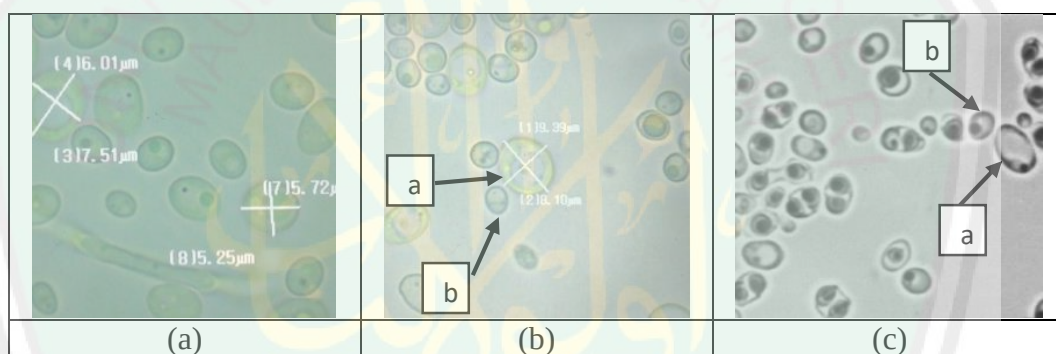
Gambar 4.12 a) Koloni isolat YYS-6 perbesaran 11 x, b) koloni isolat YYS-6, c) *Candida globosa* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.1.7 Isolat Khamir Kode YYS-7

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YYS-7 (gambar 4.13 a) memiliki ukuran [(5,72 – 8,63) x (4,59 – 9,39)] dan bentuk oval.

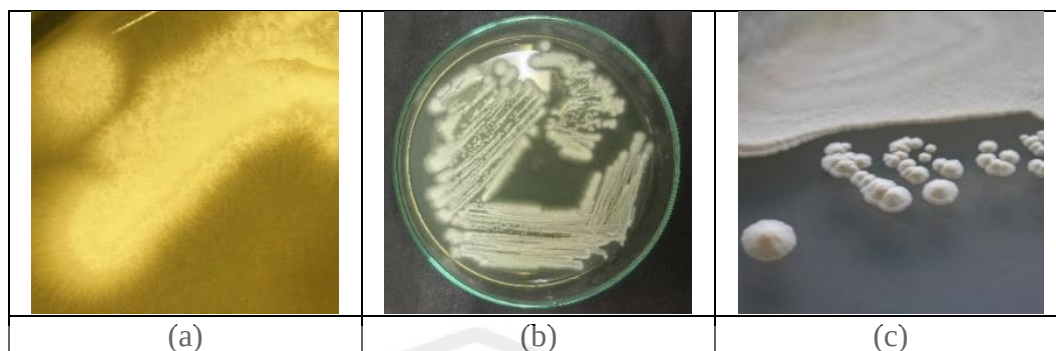
Reproduksi vegetatif dengan cara pertunasan multilateral, reproduksi seksualnya askospora dan memiliki pseudohifa (gambar 4.13 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-7 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir *Pichia* dalam subkelas *Hemiascomycetes* kelas *Ascomycetes* dan pertunasan multilateral (4.13 c).

Menurut Ashlila (2014), dalam penelitiannya bahwa Genus *Pichia* memiliki bentuk sel elips atau oval, bulat, memanjang, dan membentuk hifa sejati. Genus *Pichia* memiliki askospora berbentuk spheroidal, atau hemispheroidal, hat-shaped. Reproduksi seksual dengan membentuk askospora (1-4 askus), memiliki askus yang kuat, namun terdapat spora tanpa askus dan aseksual dengan membentuk pertunasan multilateral. Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetatif khamir dengan *budding cell* termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*.



Gambar 4.13 a) Sel isolat YIS-7 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral *Pichia sargentensis*) (Kurtzman dan Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat khamir YIS-7 (gambar 4.14 a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi serabut, tekstur kental seperti mentega, warna krem, permukaan tidak halus. Koloni khamir ini memiliki elevasi timbul, tepi filamen dan kenampakan kusam (gambar 4.14 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-6 secara makroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Pichia* class *Ascomycetes* (gambar 4.14 c). Hal ini sesuai dengan Kurtzman (1998), bahwa kelas *Ascomycetes* memiliki warna dominan krem dan putih. Tsegaye (2016), juga menambahkan bahwa genus *Pichia* memiliki pigmentasi warna putih, dengan elevasi yaitu timbul (*timbul*), bentuk *circular* tekstur halus.

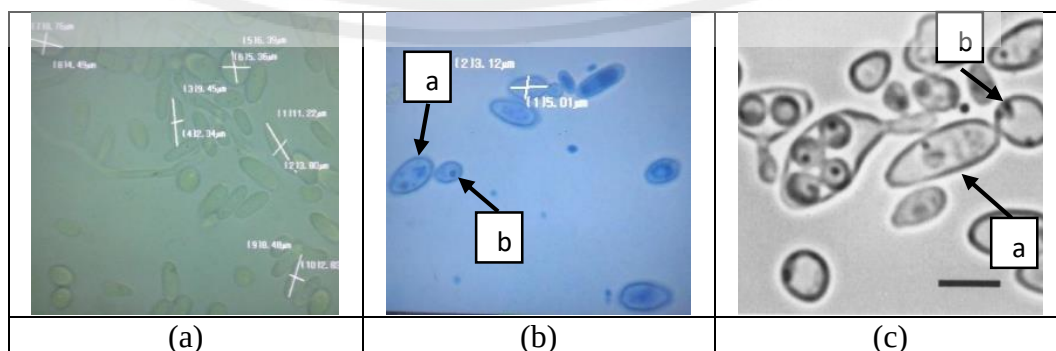


Gambar 4.14 a) Koloni isolat YIS-7 perbesaran 11 x, b) koloni isolat YIS-7, c) *Pichia sargentensis* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.1.8 Isolat Khamir Kode YIS-8

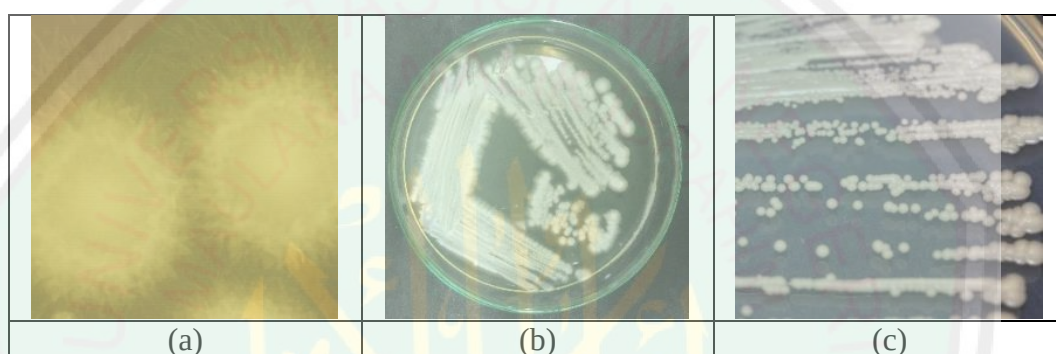
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat khamir YIS-8 (gambar 4.15 a) memiliki ukuran $[(2,34 - 5,36) \times (6,39 - 11)]$ dan bentuk oval-memanjang. Reproduksi vegetatif dengan cara pertunasan multilateral dan reproduksi seksualnya secara askospora dan memiliki pseudohifa (gambar 4.15 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-8 secara mikroskopik, diduga termasuk dalam khamir *Debaryomyces* dalam subkelas *Hemiascomycetes* dan kelas *Ascomycetes* dengan pertunasan multilateral (4.15 c).

Menurut Rafiqah (2010), dalam penelitiannya bahwa Genus *Debaryomyces* memiliki ciri sel berbentuk bulat, oval memanjang menghasilkan askospora berbentuk oval atau bulat dengan dinding spora bergerigi dan biasanya berjumlah 1-3 per askus dan tidak mudah dilepaskan, beberapa spesies dapat menghasilkan 4 spora per askus, memiliki pseudohifa. Hammamoto dan Nakase (2000), menyatakan bahwa reproduksi vegetatif khamir dengan *budding cell* termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa subkelas *Hemiascomycetes* termasuk dalam kelas *Ascomycetes*.



Gambar 4.15 a) Sel isolat YIS-8 perbesaran 1000x, b) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral), c) a. sel induk, b. sel anak (pertunasan multilateral *Debaryomyces franciscae*) (Kurtzman dan Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat khamir YIS-8 (gambar 4.16 a) memiliki ciri koloni yaitu *circular* tepi serabut, tekstur kental seperti mentega, warna krem, permukaan tidak halus. Elevasi khamir ini yaitu timbul, tepi filamen dan kenampakan kusam (gambar 4.16 b). Berdasarkan kemiripan isolat YIS-8 secara makroskopik, diduga termasuk dalam khamir genus *Debaryomyces* dalam class *Ascomycetes* (4.16 c). Hal ini sesuai dengan Kurtzman (1998), bahwa kelas *Ascomycetes* memiliki warna dominan krem dan putih.



Gambar 4.16 a) Koloni isolat YIS-8 perbesaran 11 x, b) koloni isolat YIS-8, c) *Debaryomyces franciscae* JCM 21985 (RIKEN BioResource Research Center, 2020).

4.2 Kemampuan Khamir Berdasarkan Karakterisasi Biokimiawi

4.2.1 Fermentasi Karbohidrat (Glukosa, Fruktosa, Sukrosa, Laktosa dan Galaktosa).

Identifikasi aktivitas fisiologi khamir dapat diketahui dengan melakukan uji fermentasi karbohidrat. Uji yang sering dilakukan untuk tujuan identifikasi diantaranya adalah fermentasi karbohidrat dan pertumbuhan pada gula dengan konsentrasi tinggi (Kurtzman dan Fell, 1998). Sumber karbohidrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa dan galaktosa. Pemilihan jenis gula- gula ini berdasarkan jenis gula monosakarida. Gula monosakarida merupakan gula sederhana yang mudah diuraikan oleh khamir. Menurut Atlas (2005), pengujian fermentasi karbohidrat dapat menggunakan jenis gula glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, dan laktosa. Asyikeen, *et al.*, (2013), menambahkan bahwa sumber karbohidrat yang telah dilakukan pada uji

pengembang roti yaitu glukosa, laktosa, fruktosa, dan sukrosa, galaktosa. Menurut Suryaningsih (2018), bahwa khamir memanfaatkan gula sederhana untuk mendapatkan energi dengan cepat. Wisnu (1990), menyatakan dalam bukunya yakni pemilihan gula didasarkan pada jenis gula yang terkandung dalam suatu buah. Hasil uji fermentasi karbohidrat pada isolat khamir dari buah salak pondoh (*Salacca edulis*) dapat disajikan pada tabel 4.3, dan lampiran 2 sebagai berikut.

Tabel 4.3 Uji Fermentasi Karbohidrat Setelah Masa Inkubasi 7 hari.

No	Kode Isolat	Uji Fermentasi Karbohidrat				
		Glukosa	Fruktosa	Galaktosa	Sukrosa	Laktosa
1	YIS-1	++	+	+++	-	-
2	YIS-2	+	+	++	+	-
3	YIS-3	+	+	++	+	-
4	YIS-4	++	+	+	+	-
5	YIS-5	+	+	+	+	-
6	YIS-6	+	+	+	++	-
7	YIS-7	++	+	++	++	-
8	YIS-8	-	+	+	+	-
9	Kontrol negatif	-	-	-	-	-

Keterangan: + = sedikit, ++ =cukup, +++=banyak
 - = tidak terdapat gelembung (Kurtzman dan Fell, 1998)

Berdasarkan data yang diperoleh, pada tabel 4.3 dapat diamati bahwa isolat khamir memiliki kemampuan yang beragam dalam memfermentasi karbohidrat. Delapan isolat khamir tidak dapat memfermentasi laktosa, isolat YIS-8 tidak dapat memfermentasi glukosa dan isolat YIS-1 tidak dapat memfermentasi sukrosa. Isolat YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6 dan YIS-7 dapat memfermentasi glukosa, sukrosa, fruktosa dan galaktosa karena terdapat gelembung gas pada tabung durham dan terjadi perubahan media fermentasi menjadi keruh. Kontrol negatif tidak terjadi pembentukan gelembung gas pada tabung durham di lima jenis gula. Menurut Bhowmik (2011), munculnya gelembung pada tabung durham karena adanya fermentasi gula sederhana yang terjadi. Girl dan Kindo (2015), menyatakan dalam

penelitiannya bahwa gelembung yang terdapat dalam tabung durham menandakan hasil positif dalam fermentasi karbohidrat.

Kurtzman dan Fell (1998), menambahkan bahwa munculnya gelembung pada tabung durham dengan umur biakan lebih dari 7 hari termasuk reaksi *weakly positive* namun apabila gelembung muncul pada umur biakan 7 hari termasuk reaksi yang *strongly positive*. Parameter keberhasilan khamir yang dapat dilihat dari kemampuan dalam memfermentasi karbohidrat yaitu adanya gelembung gas yang terperangkap dalam tabung durham dan warna media selektif. Warna media selektif pada penelitian ini menunjukkan warna merah menjadi keruh yang menandakan bahwa khamir berhasil memfermentasi gula.

Hasil uji indikator pH perubahan asam pada hasil fermentasi karbohidrat pada isolat khamir dari buah salak pondoh (*Salacca edulis*) dapat disajikan pada tabel 4.4, dan lampiran 3 sebagai berikut.

Tabel 4.4 Indikator Perubahan Asam Pada Hasil Fermentasi Karbohidrat

Kode Isolat	Uji Fermentasi Karbohidrat									
	Glukosa		Fruktosa		Galaktosa		Sukrosa		Laktosa	
	W	pH	W	pH	W	pH	W	pH	W	pH
YIS-1	+	6	-	7	+	6	+	5	+	9
YIS-2	+	5	+	5	+	5	-	7	+	6
YIS-3	+	6	+	6	+	6	+	5	-	7
YIS-4	+	6	+	6	+	6	+	5	-	7
YIS-5	+	6	-	7	+	6	+	5	-	7
YIS-6	+	5	+	6	+	5	+	6	+	9
YIS-7	+	6	+	6	+	6	+	6	+	9
YIS-8	+	5	+	5	+	5	+	5	-	7
Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: W = warna

+ = adanya perubahan produksi asam atau basa ditandai perubahan warna pada indikator pH

- = tidak ada perubahan (warna netral, pH=7)

Berdasarkan tabel 4.4 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan hasil pengukuran pH pada masing – masing isolat khamir. Pengukuran nilai pH menjadi sangat penting untuk mengetahui produk akhir berupa asam asetat atau etanol. Isolat khamir YIS-1 terjadi perubahan pH pada semua uji karbohidrat kecuali pada fruktosa dan produk akhir pada laktosa berupa etanol, sedangkan produk akhir pada glukosa, galaktosa dan sukrosa berupa asam asetat. Isolat khamir YIS-2 terjadi perubahan pH pada semua uji karbohidrat kecuali pada sukrosa dan produk akhir pada glukosa, fruktosa, galaktosa dan laktosa berupa asam asetat. Isolat khamir YIS-3 dan YIS-4 terjadi perubahan pH pada sukrosa dan produk akhir pada glukosa, fruktosa, galaktosa dan laktosa berupa asam asetat. Isolat khamir YIS-5 terjadi perubahan pH kecuali fruktosa dan laktosa dan produk akhir pada glukosa, galaktosa, sukrosa berupa asam asetat. Isolat khamir YIS-6 dan YIS-7 terjadi perubahan pH pada semua gula dan produk akhir dari glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa berupa asam asetat, sedangkan produk akhir pada laktosa berupa etanol. Isolat khamir YIS-8 terjadi perubahan pH kecuali laktosa dan produk akhir pada glukosa, galaktosa, sukrosa dan fruktosa berupa asam asetat.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terjadi mekanisme fermentasi karbohidrat yang menunjukkan hasil akhir berbeda ada nilai pH. Adanya peningkatan dan penurunan nilai pH ini terjadi karena produk akhir yang dihasilkan berbeda tergantung jenis isolat khamir yang terlibat. Hal ini sesuai dengan Harley dan Prescott (2002), bahwa isolat mikroba yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung karbohidrat dapat menghasilkan sejumlah produk akhir yang berbeda tergantung pada mikroba yang terlibat. Khamir yang menghasilkan asam asetat ditandai dengan menurunnya pH (>7) dan khamir yang menghasilkan etanol ditandai dengan peningkatan pH (<7). Okafor (2007), dalam penelitiannya menyatakan fermentasi gula yang dilakukan khamir ditandai produk samping berupa CO_2 dan hasil akhir berupa asam asetat dan etanol. Proses fermentasi diawali dari metabolisme karbohidrat melalui jalur *Embden Meyerhof* sehingga menghasilkan piruvat. Piruvat melalui fermentasi yang dilakukan menghasilkan CO_2 , asam asetat dan etanol. Girl dan Kindo (2015), jika hanya terjadi perubahan pH menjadi asam menunjukkan hasil asimilasi karbohidrat.

Uji fermentasi karbohidrat menggunakan indikator pH untuk mengetahui adanya produksi asam, basa atau netral dan mengetahui adanya gelembung gas sebagai hasil yang dilepaskan oleh isolat khamir pada proses fermentasi. Semua isolat khamir dari isolasi buah salak pondoh menghasilkan gelembung gas pada glukosa, sukrosa, galaktosa dan fruktosa, kecuali pada isolat YIS-1 dan YIS-8. Menurut Asyiken (2013), khamir memiliki kemampuan berbeda dalam memfermentasikan gula menjadi CO₂ yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat khamir yang memanfaatkan masing-masing gula juga menghasilkan karbon dioksida. El-Nemr (2001), menyatakan bahwa sel khamir yang tidak dapat memfermentasi laktosa sebenarnya disebabkan oleh kurangnya enzim laktase atau sistem β -galaktosidae. Karki *et al.*, (2017), menambahkan bahwa isolat khamir yang memproduksi gas yang tinggi dapat dipilih sebagai pengembang roti. Karbon dioksida yang dilepaskan selama proses fermentasi adonan roti menjadi karakteristik utama sebagai khamir agen pengembang roti (Thais *et al.*, 2006), pematangan dan penambahan rasa (Potter dan Hotchkiss, 2012).

4.2.2 Kemampuan Khamir Berdasarkan Toleransi *Yeast Peptone Glucose Broth* (YPG Broth) Konsentrasi 50%

Setelah uji kemampuan isolat khamir dalam fermentasi karbohidrat (glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa dan galaktosa), selanjutnya tahap pengujian isolat khamir pada media dengan konsentrasi gula tinggi. Hal tersebut karena banyak spesies khamir dapat tumbuh dengan baik pada konsentrasi glukosa hingga 40%, sebaliknya beberapa spesies dapat tumbuh dengan konsentrasi gula antara 50 dan 70%. Uji pertumbuhan isolat khamir pada media *Yeast Peptone Glucose* (YPG Broth) dilakukan dengan 2 kali ulangan pada setiap isolat. Pengamatan pertumbuhan isolat khamir dilakukan selama 24 hingga 48 jam. Menurut Kurtzman dan Fell (1998), dalam bukunya yakni kemampuan untuk tumbuh dengan konsentrasi gula tinggi umumnya diuji dengan menumbuhkan pada media agar yang mengandung 50% dan atau 60% (w/w) glukosa. Nilai OD yang digunakan yaitu 600 nm sesuai dengan penelitian Ali dan Mohammed (2014), laju pertumbuhan sel khamir dapat diukur menggunakan kerapatan optik dengan panjang gelombang 600 nm.

Tabel 4.5 Pertumbuhan pada uji YPG Broth Gula 50%

Nama Isolat	Nilai OD pada 600 nm		Pertumbuhan Setelah 48 jam
	24 jam	48 jam	
YIS-1	0,491	0,433	+
YIS-2	0,738	1,766	+++
YIS-3	0,305	0,146	++
YIS-4	0,029	1,391	+++
YIS-5	0,851	0,262	+
YIS-6	0,352	0,393	++
YIS-7	0,188	0,099	++
YIS-8	0,230	0,628	++
Kontrol negatif	0,000	0,000	-

Keterangan: + = sedikit, ++ = cukup, +++ = banyak (adanya perubahan menjadi keruh)

Berdasarkan tabel 4.5, dapat diketahui bahwa pertumbuhan khamir pada uji YPG Broth dengan gula 50% memiliki hasil yang berbeda pada nilai *Optical Density* dan kekeruhan warna yang terjadi pada pertumbuhan setelah 48 jam. Isolat khamir YIS-2, YIS-4, YIS-6 dan YIS-8 terjadi peningkatan nilai OD yang signifikan dari pertumbuhan 24 jam ke 48 jam. Sedangkan isolat khamir YIS-1, YIS-3, YIS-5 dan YIS-7 terjadi penurunan nilai OD. Isolat khamir YIS-2 menunjukkan tingkat toleransi gula 50% yang terbaik dibandingkan isolat khamir lainnya. Peningkatan nilai kerapatan optik (OD) pada sel khamir menunjukkan adanya pertumbuhan sel khamir pada medium dengan konsentrasi gula 50% (Lampiran 4).

Karki, *et al* (2017), menyebutkan bahwa terdapat penurunan signifikan dari semua strain khamir dalam konsentrasi glukosa 50%. Hasil pengamatan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa isolat khamir YIS-2, YIS-4, YIS-6 dan YIS-8 dari *Salacca edulis* lebih baik dari penelitian sebelumnya karena memiliki toleransi terhadap tekanan osmotik pada gula 50%. Menurut Herrera (2009), hanya sedikit spesies dari khamir yang dapat hidup pada lingkungan dengan kadar gula tinggi, yaitu 20%- 50%. Gandjar dan Sjamsuridzal (2006), menambahkan bahwa khamir yang memiliki kemampuan untuk hidup pada lingkungan dengan kadar gula tinggi disebut khamir osmotoleran. (Asyikeen *et al.*, 2013), pada hasil penelitiannya bahwa isolat khamir dengan uji kualitatif mampu tumbuh dengan baik pada konsentrasi glukosa 20% (m/v) yang digunakan sebagai pengembang roti.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, khamir dari buah salak pondoh termasuk kedalam khamir osmotoleran karena masih mampu hidup pada konsentration gula 50% sehingga memiliki potensi yang baik sebagai pengembang roti. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pfannebecker, *et al* (2016), khamir osmotoleran dapat hidup pada lingkungan dengan kadar gula tinggi yaitu 50% - 70%. Djiken dan Alexander (1986), menyatakan bahwa khamir osmotoleran merupakan khamir khusus yang digunakan sebagai fermipan. Okafor (2007), menambahkan bahwa khamir yang dapat dijadikan sebagai pengembang roti yaitu yang memiliki kemampuan toleransi terhadap tekanan osmotik garam dan gula pada adonan.

4.2.3 Kemampuan Khamir Berdasarkan Toleransi Terhadap Etanol

Setelah uji pertumbuhan isolat khamir pada media YPG Broth selanjutnya uji toleransi khamir terhadap etanol untuk menyeleksi khamir yang berpotensi sebagai *baker yeast*. Menurut Olowonibi (2017), dalam *stress exclusion test*, koloni khamir diuji secara berurutan untuk mendapatkan strain khamir yang mampu beradaptasi dalam kondisi pembuatan roti. Penggunaan strain khamir yang tidak mampu beradaptasi secara efektif dapat menyebabkan fermentasi yang gagal. Asyikeen (2013), menyatakan bahwa kelangsungan hidup strain khamir pada *baker yeast* di berbagai kondisi stress dapat memberikan informasi berguna terkait kemampuannya untuk tumbuh dan dapat melakukan fermentasi sebagai gangguan khamir (*impaired yeast*). Querol, *et.al* (2003), menambahkan yakni gangguan pertumbuhan khamir selama proses fermentasi biasanya tidak dapat tumbuh secara terus menerus dalam kondisi optimal, terutama ketika terpapar beberapa tekanan seperti stress osmotik dan stress etanol. Hasil pengamatan khamir terhadap toleransi etanol dilakukan pada konsentration etanol 10%, 13% dan 15% yang disajikan pada tabel 4.6 dan tabel 4.7.

Tabel 4.6 Toleransi Etanol Pada Isolat Khamir Nilai OD 600 nm

Nama Isolat	10%		13%		15%	
	OD sebelum/ 24 jam	OD setelah/ 72 jam	OD sebelum/ 24 jam	OD setelah/ 72 jam	OD sebelum/ 24 jam	OD setelah/ 72 jam
YIS-1	0,362	0,917	0,196	0,236	0,238	0,391
YIS-2	0,108	0,292	0,872	0,986	0,262	0,268
YIS-3	0,335	0,714	1,553	0,656	0,466	0,077
YIS-4	0,459	1,252	0,462	0,179	1,37	0,579
YIS-5	0,361	0,882	0,428	0,130	1,543	0,941
YIS-6	0,701	1,656	0,496	0,889	0,52	0,983
YIS-7	0,08	1,023	0,4595	0,512	0,404	0,892
YIS-8	0,841	0,918	0,143	0,133	0,817	1,139

Tabel 4.7 Pertumbuhan Isolat Khamir pada Toleransi Etanol Media YPG Broth

Nama Isolat	10%	13%	15%
YIS-1	+	+	+
YIS-2	++	+	+
YIS-3	++	+	+
YIS-4	+++	++	+
YIS-5	++	++	+
YIS-6	++	+	+
YIS-7	+++	+	+
YIS-8	+	+	+

Keterangan: + = sedikit, ++ =cukup, +++=banyak (adanya perubahan menjadi keruh)
 - = tidak ada perubahan (tetap)

Berdasarkan tabel 4.6, dapat diketahui bahwa semua isolat khamir mampu tumbuh pada media dengan konsentersasi etanol 10%, 13% dan 15% yang dihitung secara kuantatif menggunakan nilai OD 600 nm. Hasil pengamatan yang telah dilakukan terjadi adanya peningkatan dan penurunan masing- masing isolat khamir terhadap konsentersasi etanol yang digunakan. Pada semua isolat khamir dengan konsentersasi 10% terjadi peningkatan sel khamir dari masa inkubasi 24 jam hingga 72 jam. Hasil pengamatan dengan konsentersasi 13% terjadi peningkatan sel khamir yaitu pada isolat YIS-1, YIS-2, YIS-6 dan YIS-7 dan terjadi penurunan sel khamir yaitu pada isolat YIS-3, YIS-4, YIS-5 dan YIS-8. Hasil pengamatan dengan konsentersasi 15% terjadi peningkatan sel khamir yaitu pada isolat YIS-1, YIS-2, YIS-6, YIS-7, YIS-8 dan terjadi penurunan sel khamir yaitu pada isolat YIS-3, YIS-4 dan YIS-5. Hal ini menunjukkan bahwa isolat khamir yang memiliki kemampuan

hidup toleransi terhadap etanol dan mengalami peningkatan sel khamir yaitu isolat YIS-1, YIS-2, YIS-6 dan YIS-7.

Berdasarkan tabel 4.7 dapat diketahui bahwa semua isolat khamir mampu hidup pada toleransi etanol dengan konsentersasi 10%, 13% dan 15%. Pada konsentersasi etanol 10%, isolat khamir yang mengalami tingkat kekeruhan paling tinggi yaitu pada YIS-4 dan YIS-7 dan isolat khamir yang mengalami tingkat kekeruhan paling sedikit yaitu pada YIS-1 dan YIS-8. Pada konsentersasi etanol 13%, tidak ada yang mengalami kekeruhan paling tinggi tetapi yang mengalami tingkat kekeruhan sedang yaitu pada YIS-4 dan YIS-5. Pada konsentersasi etanol 15%, semua isolat khamir mengalami kekeruhan tingkat kekeruhan paling sedikit sehingga menunjukkan pertumbuhan yang semakin lambat (Lampiran 5).

Seperti pada hasil penelitian yang telah dilakukan, bahwa hasil pengamatan ini sesuai dengan penelitian oleh Maryam (2017), bahwa semua spesies khamir mampu tumbuh di medium yang mengandung etanol 10% dan 13% serta menunjukkan pertumbuhan lambat pada konsentersasi etanol 15%, sementara khamir lain gagal tumbuh pada konsentrasi tersebut. Karki (2017), juga menyatakan bahwa beberapa tingkat pertumbuhan terlihat pada konsentrasi alkohol 15%, tetapi produksi biomassa secara signifikan lebih rendah daripada 13%. Jadi strain ini menunjukkan beberapa tingkat toleransi alkohol pada 15% dan toleran terhadap 13%. Stanley (2010), menambahkan bahwa konsentrasi alkohol yang tinggi dilaporkan dapat menjadi racun bagi khamir dengan menghambat pertumbuhan sel karena kerusakan membran sel. Ini bisa saja menjadi penyebab pertumbuhan lambat dari sebagian besar isolat khamir pada konsentersasi 15% yang terdapat dalam hasil penelitian ini

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat khamir dari buah salak yang diperoleh memiliki kemampuan yang lebih baik dari penelitian Asyikeen *et. al.*, (2013), bahwa strain khamir hanya mampu tumbuh pada konsentersasi etanol tertinggi yakni 13%. Negara (2017), menyatakan bahwa isolat khamir komersial pada konsentrasi etanol 10% nilai OD dibawah 0.1 sehingga isolat YIS-1 nilai OD 0,917, YIS-2 nilai OD 0,292, YIS-3 nilai OD 0,714, YIS-4 nilai OD 1,252, YIS-5 nilai OD 0,882, YIS-6 nilai OD 1,656, YIS-7 nilai OD 1,023 dan YIS-8 nilai OD 0,918 memiliki nilai OD yang lebih baik dari penelitian tersebut. Sedangkan untuk konsentrasi 15% nilai OD khamir komersial dibawah 0.05, sehingga isolat YIS-1, YIS-2, YIS-3,

YIS-4, YIS-5, YIS-6, YIS-7 dan YIS-8 juga memiliki OD yang lebih baik dari penelitian tersebut. Berdasarkan hal tersebut, semua isolat khamir dari buah salak dapat dimanfaatkan sebagai pengembang roti.

Menurut Olowonibi (2017), khamir dapat menghasilkan CO₂ dan etanol sebagai produk sampingan. Etanol yang dihasilkan tersebut dapat menjadi sumber energi. Asyikeen (2013), menyatakan bahwa sel-sel khamir dalam pembuatan roti menghasilkan etanol sebagai metabolit sekunder. Konsentrasi alkohol yang sesuai diperlukan dalam pembuatan roti untuk mencapai rasa yang diinginkan. Strain khamir yang tumbuh dalam konsentrasi sama diharapkan dapat menghasilkan kualitas roti yang sama dengan menggunakan strain *yeast* komersial. Sifat toleran pada konsenterasi etanol dibutuhkan dalam pembuatan roti. Hal tersebut dikarenakan etanol merupakan zat metabolit sekunder yang dihasilkan selama proses fermentasi. Karkie, *et al* (2017), menambahkan bahwa etanol dapat memberikan cita rasa atau flavor pada roti. Khamir yang digunakan untuk uji fermentasi, toleran terhadap kadar alkohol tinggi yakni mencapai 14-15% (Thais, *et al.*, 2006).

Menurut Sumerta (2017), jenis strain khamir yang dapat memproduksi etanol diantaranya, yaitu *C. glabrata*, *K. ohmeri*, *P. kudriavzevii*, *T. globosa* dan *T. delbrueckii*. Strain- strain khamir tersebut tidak dapat menghasilkan etanol dalam presentase yang tinggi, tetapi dapat mendukung proses fermentasi dalam organoleptik suatu produk. Fleet (2011), menambahkan dari hasil penelitiannya, yakni *T. globosa* memiliki kemampuan dapat bertahan pada produksi alkohol yang tinggi. Produksi alkohol menurut Azzolini, *et al.* (2012), dapat memberikan aroma pada makanan fermentasi. *C. glabrata* merupakan khamir yang selama proses fermentasi toleran terhadap laktat dan dapat menghasilkan alkohol dalam kondisi anaerob (Watanabe, *et al.*, 2016).

4.2.4 Kemampuan Khamir Berdasarkan Toleransi Terhadap Suhu

Setelah uji toleransi etanol, selanjutnya tahap pengujian toleransi suhu untuk menyeleksi khamir yang berpotensi sebagai *baker yeast*. Menurut Olowonibi (2017), uji toleransi suhu dilakukan dengan menumbuhkan khamir dalam cawan petri yang berisi media YPG Agar. Strain khamir tersebut diinkubasi pada berbagai

suhu berbeda, yakni 25°C, 30°C, 37°C dan 45°C selama 72 jam. Berdasarkan literatur diatas, hasil pengamatan khamir terhadap toleransi suhu pada penelitian ini dilakukan pada suhu 30°C, 37°C dan 45°C selama 72 jam yang disajikan pada tabel 4.8, tabel 4.9 dan 4.10.

Tabel 4.8 Toleransi Suhu Pada Isolat Khamir Nilai OD 600 nm

Nama Isolat	30°C		37°C		45°C	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
YIS-1	0,154	3,005	0,4155	2,998	0,198	0,00
YIS-2	0,535	3,2415	0,5955	2,496	0,312	0,0575
YIS-3	0,1715	3,2525	0,416	2,6305	0,62	0,00
YIS-4	0,2395	3,2525	0,342	2,4575	0,22	0,096
YIS-5	0,3365	3,3825	0,335	2,471	0,272	0,00
YIS-6	0,3195	2,656	0,5525	2,3665	0,2955	0,1025
YIS-7	0,558	3,0235	0,3995	2,528	0,2045	0,013
YIS-8	0,222	3,2145	0,6295	2,653	0,2095	0,0495

Tabel 4.9 Pertumbuhan Isolat Khamir pada Toleransi Suhu Media YPG Broth

Nama Isolat	30°C	37°C	45°C
YIS-1	+++	+++	-
YIS-2	+++	+++	-
YIS-3	++	+	-
YIS-4	+++	++	-
YIS-5	++	+	-
YIS-6	+++	+	-
YIS-7	+++	+++	-
YIS-8	+++	+++	-

Keterangan: + = sedikit, ++ =cukup, +++=banyak (adanya perubahan menjadi keruh)
- = tidak ada perubahan (tetap)

Tabel 4.10 Pertumbuhan Isolat Khamir pada Toleransi Suhu media YPG Agar

Nama Isolat	30°C	37°C	45°C
YIS-1	+	+	-
YIS-2	+	+	-
YIS-3	+	+	-
YIS-4	+	+	-
YIS-5	+	+	-
YIS-6	+	+	-
YIS-7	+	+	-
YIS-8	+	+	-

Keterangan: + = ada pertumbuhan yeast pada YPG agar
- = tidak ada pertumbuhan yeast pada YPG agar

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui pada tabel 4.8, 4.9 dan 4.10 bahwa semua isolat khamir mengalami peningkatan pertumbuhan pada suhu 30° C sedangkan pada suhu 37°C mengalami penurunan tingkat pertumbuhan sel khamir dan pada suhu 45 °C gagal tumbuh pada waktu 72 jam. Hasil pengamatan isolat khamir juga dapat diamati pada tabel 4.9, bahwa tingkat kekeruhan paling banyak yang terjadi pada suhu 30° C yaitu khamir dengan kode isolat YIS-1, YIS-2, YIS-4, YIS-6, YIS-7 dan YIS-8. Sedangkan tingkat kekeruhan paling banyak yang terjadi pada suhu 37° C yaitu khamir dengan kode isolat YIS-1, YIS-2, YIS-7, YIS-8. Pada suhu 45° C tidak adanya kekeruhan yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan khamir. Hasil pengamatan isolat khamir pada tabel 4.10, menunjukkan bahwa khamir mampu tumbuh pada suhu 30° C dan 37 °C Pada suhu 45° C tidak menunjukkan adanya pertumbuhan khamir (Lampiran 6).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut terdapat adanya respon intensif pada pertumbuhan suhu 30°C, sedangkan terdapat adanya respon sedang hingga intensif pada suhu 37°C. Tidak adanya respon atau hanya sedikit respon pada pertumbuhan suhu 45°C. Sebagian strain- strain khamir dapat mentolerir suhu hingga 37°C. Menurut Nasir *et al.*, (2010), khamir memiliki masa inkubasi pada suhu 28 °C sampai dengan 30°C. Thais *et al.*, (2006), menyatakan bahwa parameter yang diamati pada uji toleransi suhu adalah setelah inkubasi yaitu strain khamir mampu bertahan pada suhu tinggi. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan bahwa delapan isolat khamir dari buah salak dapat digunakan sebagai pengembang roti. Hal ini sesuai dengan penelitian Karki (2017), bahwa khamir komersial yang sudah dimanfaatkan sebagai pengembang roti dan kebanyakan khamir hanya mampu tumbuh pada suhu 37 °C dan pada suhu 45°C strain khamir komersial gagal untuk tumbuh.

Menurut Asyikeen (2013), strain khamir dengan kode SNI yang diisolasi dari buah nanas, strain khamir dengan kode SKS2 yang diisolasi dari buah kelapa sawit dan strain khamir dengan kode SK14 yang diisolasi dari buah kakao menunjukkan pertumbuhan yang lebih tinggi pada suhu 45°C. Tsegay (2016), menyatakan bahwa strain khamir (*Pichia holistii*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Kluyveromyces*

delphensis, *Zygosaccharomyces fermentatii*, *Issatchenkia orientalis*, *Candida sorboxylosa*, *Candida apicola*, *Saccharomyces boulardii* dan *Saccharomyces cerevisiae*) dapat mentolerir suhu hingga 37°C, tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu 45°C. Limtong, *et al.*, (2007), menambahkan yakni strain khamir yang mampu bertahan hidup pada suhu 37°C adalah kandidat yang potensial dalam pembuatan roti.

Menurut Lasmini (2016), kemampuan khamir yang dapat bertahan hidup pada suhu ruang menandakan bahwa khamir tersebut termasuk kelompok khamir mesofilik. Ma'aruf (2011), menyatakan bahwa, strain khamir yang mampu bertahan hidup pada suhu tinggi menunjukkan bahwa strain khamir tersebut dapat digunakan dalam pembuatan roti melalui proses pembentukan rasa dan aroma sehingga dapat ditingkatkan. Tsegaye *et al.*, (2016), menambahkan bahwa kemampuan khamir yang dapat toleransi pada suhu yang tinggi dapat dimanfaatkan untuk proses fermentasi pada berbagai kondisi suhu. Isolat khamir ini juga dapat digunakan dalam pembuatan roti untuk mempercepat proses pemanggangan, dan meningkatkan produksi karbon dioksida.

4.2.5 Kemampuan Khamir Berdasarkan Produksi Hidrogen Sulfida

Setelah uji toleransi suhu, selanjutnya tahap pengujian berdasarkan produksi hidrogen sulfida untuk menyeleksi khamir yang berpotensi sebagai *baker yeast*. Menurut Stratford (1992), strain khamir yang memproduksi H₂S dengan jumlah besar tidak disarankan, karena H₂S memberikan aroma dan rasa yang busuk sehingga dapat mengganggu kualitas roti. Lozano (2007), menyatakan bahwa H₂S adalah senyawa yang tidak disarankan terkait dengan rasa yang tidak enak dan rasa tidak menyenangkan yang umumnya ada dalam pengolahan makanan. Maryam (2017), menambahkan bahwa strain khamir yang tidak memproduksi H₂S dapat direkomendasikan sebagai kandidat khamir terbaik dalam pembuatan roti. Hasil pengamatan kemampuan khamir berdasarkan produksi hidrogen sulfida dapat disajikan pada tabel 4.11.

Tabel 4.11 Pertumbuhan Isolat Khamir Pada Media Miring Hidrogen Sulfida

Kode isolat	Hasil	Bau	Warna
YIS-1	-	Harum	Putih
YIS-2	+++	Harum	Hitam
YIS-3	++	Harum	Kecoklatan
YIS-4	+++	Harum	Hitam
YIS-5	++	Harum	Kecoklatan
YIS-6	-	Harum	Putih
YIS-7	+	Harum	Krem
YIS-8	+++	Harum	Hitam

Keterangan: + = sedikit, ++ =cukup, +++=banyak
 - = tidak ada perubahan (tetap)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui pada tabel 4.12 bahwa khamir yang tidak dapat memproduksi hidrogen sulfida yaitu isolat YIS-1 dan YIS-6, yang sedikit memproduksi hidrogen sulfida yaitu isolat YIS-7, yang dapat memproduksi hidrogen sulfida dengan tingkatan sedang yaitu isolat YIS-3 dan YIS-5. Sedangkan khamir yang paling banyak memproduksi hidrogen sulfida yaitu YIS-2, YIS-4 dan YIS-8. Karakteristik lainnya yang dapat diamati yaitu adanya bau harum dari isolat khamir tersebut, tetapi yang tidak memproduksi hidrogen sulfida ditandai dengan munculnya warna putih. Sedangkan khamir yang dapat memproduksi hidrogen sulfida ditandai warna dengan warna krem dan hitam (Lampiran 7).

Tsegaye (2018), Strain khamir yang tidak menghasilkan H_2S memiliki ciri koloni berwarna putih, sedangkan strain khamir yang menghasilkan H_2S memiliki ciri warna koloni dari coklat muda hingga hitam tergantung pada intensitas produksi H_2S yang dihasilkan. Strain khamir yang menghasilkan H_2S yaitu *Zygosaccharomyce bisporus*, *Candida apicola*, *Issatechenkia orientalis*, *Zygosaccharomyces fermentatii* dan *Saccharomyces cerevisiae*, sedangkan strain khamir yang tidak menghasilkan H_2S yaitu *Candida sorboxylosa* dan *Saccharomyces blourdeous*. Rashid (2013), menambahkan juga bahwa *baker yeast* bertindak sebagai khamir alami atau zat pengikat dari roti panggang dengan memproduksi gas CO_2 selama proses inkubasi adonan.

Berdasarkan hasil penelitian, isolat khamir YIS-1 dan YIS-7 tidak menghasilkan H_2S sehingga potensial sebagai *baker yeast*. Khamir yang

direkomendasikan sebagai agen pengembang roti adalah yang tidak memproduksi hidrogen sulfida, tetapi khamir yang memproduksi hidrogen sulfida dalam kadar yang sedikit juga memiliki potensi sebagai pengembang roti. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, bahwa isolat khamir YIS-1 dan YIS-7 dari buah salak memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan penelitian telah dilakukan oleh Asyikeen (2013), bahwa semua strain khamir menghasilkan H₂S termasuk strain khamir komersial.

4.2.6 Kemampuan Khamir Dalam Membentuk Flokulan

Setelah uji produksi hidrogen sulfida, selanjutnya tahap pengujian kemampuan khamir yang berpotensi sebagai *baker yeast* berdasarkan flokulasi. Tujuan flokulasi ini adalah untuk mengetahui isolat khamir yang mampu membentuk sedimentasi pada media. Menurut Karki (2017), strain khamir yang menunjukkan kemampuan flokulasi yang baik menguntungkan secara komersial karena lebih mudah dipisahkan dari media tanpa langkah filtrasi dan sentrifugasi tambahan selama produksi massal pada skala industri. Vestrepen *et al.*, (2003), menyatakan bahwa flokulasi terjadi pada akhir fermentasi dengan adanya pembentukan sedimentasi pada bagian bawah media. Soares (2011), menambahkan bahwa sel khamir yang memiliki kemampuan untuk flokulasi disebabkan oleh proses adhesi sel yang membentuk flok, dimana merupakan karakteristik yang menarik dalam pembuatan roti. Hasil pengamatan kemampuan khamir dalam membentuk flokulan dapat disajikan pada tabel 4.12.

Tabel 4.12 Kemampuan isolat khamir dalam membentuk flokulan

Kode isolat	Hasil
YIS-1	+
YIS-2	+
YIS-3	+
YIS-4	+
YIS-5	+
YIS-6	+
YIS-7	+
YIS-8	+

Keterangan: + = kemampuan khamir dalam membentuk flokulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui pada tabel 4.12 bahwa khamir dapat membentuk flokulan yang ditandai dengan adanya endapan,

sehingga menunjukkan khamir dapat memiliki kemampuan dalam membentuk flokulan. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Asyikeen (2013), menyatakan bahwa hanya strain khamir dengan kode SMK92 (hasil isolasi buah longan) dan strain khamir dengan kode SDB10 (hasil isolasi buah sirsak) memiliki kemampuan khamir dalam membentuk flokulan. Karakteristik flokulasi ditentukan oleh sel-sel khamir yang awalnya saling menempel kemudian dapat secara mudah melakukan pemisahan di medium *broth*. Fenomena tersebut memberikan keuntungan dari segi ekonomi pada produksi biomassa khamir karena dapat mengurangi biaya energi biomassa sentrifugal. Kevin (2005), menambahkan yakni sifat flokulasi khamir juga dapat mengonfirmasi adanya kepadatan sel yang tinggi, volume sel yang besar, dan mampu meningkatkan produktivitas etanol dalam proses fermentasi (Lampiran 8).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa semua isolat khamir dari buah salak dapat melakukan khamir dalam flokulan, hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Karki (2017), bahwa semua strain khamir menunjukkan kemampuan khamir dalam membentuk flokulan, kecuali strain khamir dengan kode JAK3 dan FAPW. Vertsrepen (2003), menyatakan bahwa strain khamir yang dapat menunjukkan kemampuan flokulasi dengan baik dapat menguntungkan secara komersial, karena sel-sel khamir lebih mudah terpisah dari media tanpa melalui langkah-langkah penyaringan dan sentrifugasi untuk produksi besar pada skala industri. Olowonibi (2017), menambahkan yakni inisiasi terkait kemampuan flokulasi strain khamir *Saccharomyces cerevisiae* dapat diamati ketika sel-sel khamir berhenti melakukan pembelahan karena nitrogen yang terbatas. Perubahan konsentration dari keterbatasan nutrisi menghasilkan pembelahan yang sesuai dalam pembelahan sel dan inisiasi flokulan.

Menurut Prianka (2014), strain khamir menunjukkan produksi biomassa lebih tinggi dalam kondisi *shaking* dibandingkan kondisi *non-shaking*. Cocolin (2013), menyatakan bahwa *shaking* atau agitasi dapat menciptakan kondisi aerob dalam media *broth*, sehingga dapat meningkatkan laju produksi biomassa dari isolat khamir tersebut. Maryam (2017), menambahkan yakni *shaking*/ agitasi menyebabkan adanya peningkatan produksi biomassa yang dihasilkan oleh sel-sel khamir.

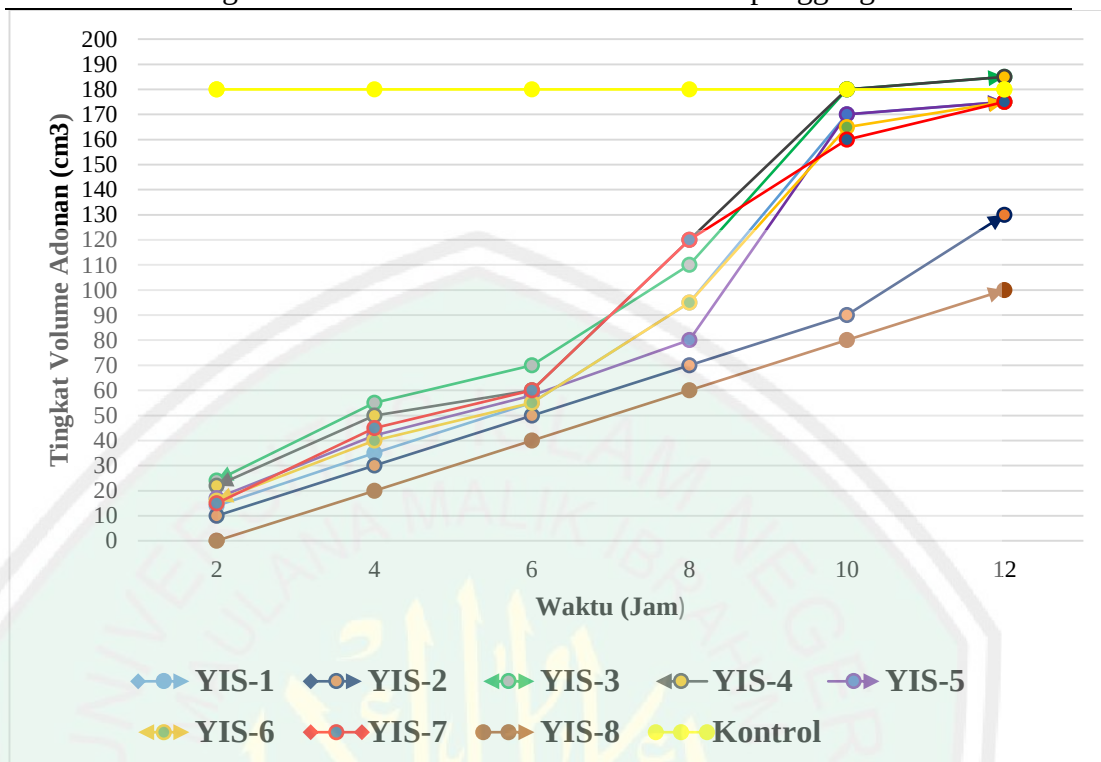
4.3 Kemampuan Khamir Berdasarkan Uji pengembang roti

Setelah uji flokulasi, selanjutnya tahap pengujian kemampuan khamir yang berdasarkan uji pengembang roti. Proses pengembangan roti diawali dengan mendapatkan pelet khamir yang digunakan untuk pengembangan roti. Pelet khamir yang dihasilkan dari pertumbuhan sel khamir pada media (YPG) *Yeast Peptone Glucose* dengan 10 ulangan yaitu sebanyak 2 gram. Tahapan selanjutnya yaitu aktivasi sel khamir. Aktivasi sel khamir dengan menumbuhkan pada larutan gula dengan air hangat selama dua jam dengan suhu 30 °C pada inkubator. Aktivasi sel khamir menggunakan larutan gula bertujuan untuk mengaktifkan sel (Karki *et al.*, 2017).

Pada proses aktivasi sel khamir yang paling cepat dalam mengembangkan adonan roti yaitu fermipan sebagai kontrol positif karena fermipan mengandung bahan tambahan dengan elmusi selain khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang memiliki kemampuan dalam mengembangkan adonan roti (Lampiran 9). Larutan gula selain menambah rasa dalam adonan juga digunakan sebagai sumber nutrisi bagi khamir untuk pengembang adonan roti. Menurut Okafor (2007), gula ditambahkan dalam adonan pengembangan roti dapat memberi nutrisi karbon bagi isolat khamir. Larutan gula yang dicampur dengan isolat khamir memiliki fungsi sebagai bahan yang dipecah dalam proses fermentasi alkohol yang hasil akhirnya yaitu melepaskan CO₂ (Paramithiotis *et al.*, 2000).

Selanjutnya larutan gula yang sudah tercampur dengan isolat khamir dicampurkan dalam bahan adonan roti yaitu garam dan tepung. Proses pengembang adonan roti membutuhkan waktu 12 jam untuk isolat khamir buah salak pondoh untuk mampu menyamakan dengan ragi komersial. Hal ini mengacu pada penelitian Tsegaye *et al.*, (2018), bahwa perlakuan yang dilakukan untuk adonan roti yaitu diinkubasi dengan suhu ruang selama 12 jam. Hasil pengamatan kemampuan khamir berdasarkan peningkatan volume adonan roti sebelum dipanggang dapat disajikan pada grafik 4.1. Hasil pengamatan kemampuan khamir berdasarkan *uji pengembang roti* dapat disajikan pada tabel 4.13. Hasil pengamatan gambar adonan roti setelah dipanggang dapat disajikan pada gambar 4.17.

Grafik 4.1 Peningkatan Volume Adonan Roti Sebelum Dipanggang



Berdasarkan grafik 4.1 dapat diketahui bahwa terdapat peningkatan hasil volume yang berbeda terhadap adonan roti yang telah ditambahkan isolat khamir. Proses yang terlihat adalah adonan roti yang dapat membentuk gluten. Queroll dan Fleet (2006) menyatakan bahwa dalam pembuatan roti, khamir dapat mempengaruhi perkembangan struktur gluten pada adonan yang disebabkan oleh pemuaihan adonan karena produksi CO_2 . Kemampuan ragi komersial sebagai kontrol positif untuk dapat mengembangkan volume adonan roti hanya membutuhkan lama inkubasi 30 menit. Isolat khamir yang memiliki kemampuan terbaik yaitu YIS-3, dan YIS-4 karena dapat menumbuhkan volume adonan roti lebih besar yaitu 185 cm^3 dibandingkan dengan ukuran volume adonan roti dari ragi komersial yang digunakan yaitu 180 cm^3 pada interval waktu 10 jam dari 12 jam yang digunakan. Isolat khamir YIS-1, YIS-5 YIS-6 dan YIS-7 dapat menumbuhkan volume adonan roti yaitu 175 cm^3 . Sedangkan isolat khamir YIS-2 yaitu dapat menumbuhkan volume adonan roti sebesar 130 cm^3 dan isolat khamir YIS-8 dapat menumbuhkan volume adonan roti sebesar 100 cm^3 (Lampiran 10).

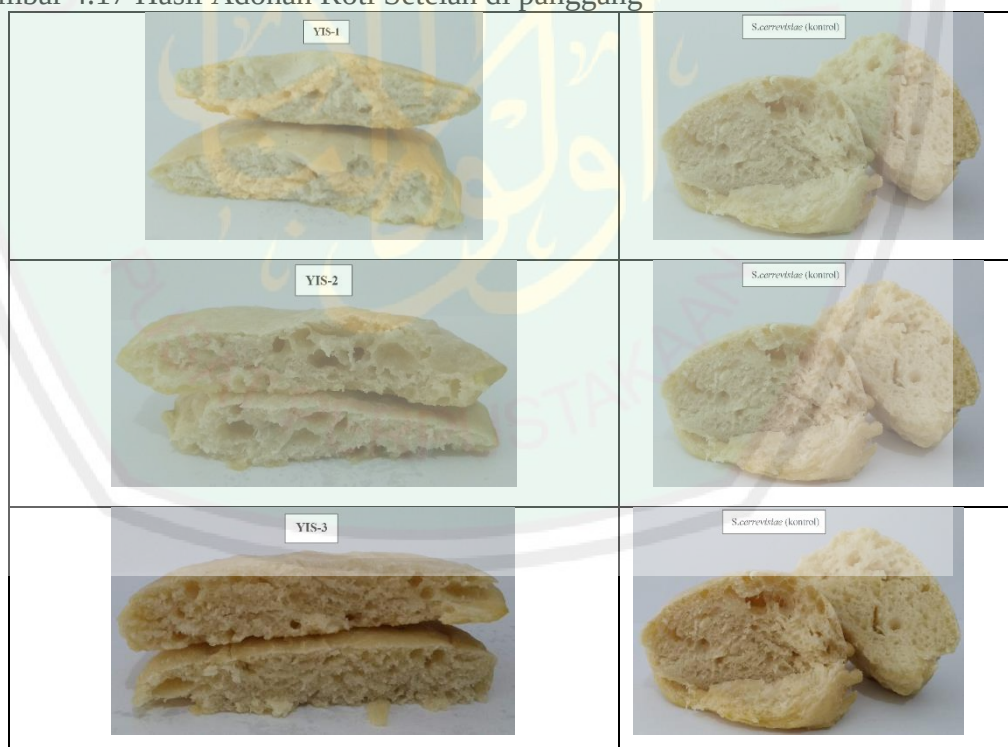
Setelah pembuatan adonan roti, tahap selanjutnya yaitu pemanggangan dengan suhu 180° C selama 20 menit. Hasil dari pemanggangan adonan roti tersebut dilakukan pengamatan pada warna permukaan, tekstur remahan, aroma dan volume roti yang telah disajikan pada tabel 4.13 dan gambar pada tabel 4.14.

Tabel 4.13 Kemampuan Khamir Berdasarkan Uji Pengembang Roti
Adonan Roti Setelah Dipanggang

No	Nama Isolat	Warna Permukaan	Tekstur Remahan	Aroma	Volume Roti
1	YIS-1	Coklat Muda	Lembut	+++	++
2	YIS-2	Coklat Muda	Lembut	++	++
3	YIS-3	Coklat Muda	Lembut	+++	++
4	YIS-4	Coklat Muda	Lembut	+++	+++
5	YIS-5	Coklat Muda	Lembut	+++	++
6	YIS-6	Coklat Muda	Lembut	+++	++
7	YIS-7	Coklat Muda	Lembut	+++	+++
8	YIS-8	Coklat Muda	Lembut	+	+
9	Kontrol +	Coklat Muda	Lembut	+++	+++

Keterangan: + = sedikit, ++ =cukup, +++=banyak

Gambar 4.17 Hasil Adonan Roti Setelah di panggang





Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, dapat diketahui pada tabel 4.13 dan tabel 4.14 bahwa semua isolat khamir memiliki kemampuan untuk mengembangkan adonan roti dengan karakteristik warna permukaan adonan yaitu coklat muda. Pemeriksaan adonan dari semua khamir juga menunjukkan sifat tekstur remah yang serupa yaitu lembut. Aroma yang dihasilkan paling banyak yaitu pada isolat YIS-1, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6, YIS-7, dan YIS kontrol. Aroma yang dihasilkan dengan ukuran sedang yaitu pada YIS-2 dan paling sedikit yaitu pada YIS-8. Aroma yang dihasilkan dari roti disebabkan oleh pembentukan hasil akhir fermentasi alkohol. Menurut Birch *et. al.*, (2013), aroma dalam

pembuatan roti dipengaruhi oleh perbedaan senyawa yang dihasilkan khamir pada saat laju fermentasi. De Vuyst *et. al.*, (2016), menambahkan bahwa senyawa ini dibentuk oleh reaksi fermentasi sekunder.

Berdasarkan tabel 4.14 dapat diketahui bahwa semua isolat khamir menunjukkan adanya kemampuan untuk mengembangkan adonan roti yang ditandai oleh permukaan adonan seperti spons dengan lubang- lubang yang ada. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat khamir yang menunjukkan adanya ukuran yang sama dalam mengembangkan adonan roti yaitu pada isolat khamir YIS-4 dan YIS-7. Sifat-sifat adonan panggang dari dua khamir YIS-4 dan YIS-7 ditemukan mirip dengan adonan yang difermentasi oleh strain khamir komersial (kontrol). Volume roti yang dihasilkan sedang yaitu isolat khamir YIS-1, YIS-2, YIS-3, YIS-5 dan YIS-6. Volume roti yang dihasilkan paling sedikit yaitu isolat khamir YIS-8. Hal ini dapat terjadi karena dipengaruhi oleh khamir yang membantu proses adonan roti. Volume adonan roti ini disebabkan oleh adanya produksi CO₂ yang tinggi.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Olowonibi (2017), bahwa sel-sel khamir menghasilkan etanol dan CO₂. Etanol dan CO₂ diproduksi oleh khamir selama fermentasi (CO₂ adalah yang membuat roti berkhamir lebih enak). Produksi CO₂ dapat menjadi tolak ukur untuk mempelajari efek dari berbagai variabel pada fermentasi khamir. Dengan demikian, strain khamir dengan tingkat produksi CO₂ yang tinggi dapat digunakan untuk tujuan komersial seperti pengembang roti. Semua isolat khamir pada daging buah salak pondoh dapat membentuk warna dan tekstur yang memiliki hasil yang sesuai dengan penelitian Karki *et al.*, (2017), bahwa sifat-sifat adonan panggang dari strain khamir yang telah ditemukan mirip dengan adonan yang difermentasi oleh strain khamir komersial. Okafor (2007), menjelaskan bahwa khamir sangat membantu proses pengembangan roti karena dapat dimanfaatkan sebagai penambah aroma dan peningkatan nutrisi.

4.3.1 Dialog Penelitian Khamir Sebagai Agen Pengembang Roti Dalam Perspektif Islam

Pemanfaatan khamir hasil isolasi buah salak pondoh (*Salacca edulis*) sebagai agen potensial dalam pengembang roti, merupakan salah satu cara mensyukuri

nikmat Allah SWT dengan mengeksplorasi dan mengambil manfaatnya sesuai apa yang telah Allah SWT perintahkan dalam Al-Qur'an. Perintah Allah SWT tidak lain yaitu untuk kemaslahatan umat manusia yang berkaitan dengan penelitian ini. Penelitian ini menunjukkan bahwa buah salak pondoh (*Salacca edulis*) yang merupakan tanaman lokal khas di Indonesia mengandung beranekaragam khamir berpotensi menjadi produk pangan yaitu pengembang roti, jika dapat memanfaatkannya dengan baik. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Al-Qur'an surat Shaad (38):27, yaitu:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ذَلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ^{٢٧}

Artinya: “Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya **dengan sia-sia**. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.”(Q.S Shaad [38]:27).

Menurut Tafsir Jalalain (2010), kata (بَاطِلًا) dalam ayat tersebut memiliki makna “sia-sia”. Berdasarkan penafsiran tersebut, Allah SWT tidak menjadikan segala sesuatu di bumi ini dengan sia-sia tanpa maksud dan tujuan dibalik penciptaannya serta manfaat seperti halnya khamir dari buah salak pondoh. Khamir termasuk mikroorganisme yang jenisnya cukup banyak dan sejauh ini masih belum optimal untuk dieksplorasi sebagai produk bernilai tambah, terutama dari isolasi buah-buahan lokal Indonesia. Buah salak pondoh merupakan salah satu buah khas Indonesia menjadi media hidup alami khamir yang mengandung karbohidrat cukup melimpah, sehingga sangat memungkinkan untuk dikaji dan dimanfaatkan sebagai pengembang roti.

Berdasarkan penelitian, pemanfaatan buah salak pondok sebagai pengembang roti menunjukkan deferensiasi kemanfaatan buah- buahan. Melengkapi dari ayat tersebut, sebagaimana Allah SWT menjelaskan dalam Q.S Yunus [10]:61, yaitu:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْءَانٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ۝

Artinya: “Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar v di bumi ataupun di langit. Tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (*Lauh Mahfuzh*)” (Q.S Yunus [10]:61).

Menurut Tafsir Jalalain (2010), menjelaskan makna “dzarrah” merupakan binatang terkecil yang disebutkan dalam Al-Qur’an. Dalam konteks biologi kata “dzarrah” bisa diterjemahkan sebagai mikroorganisme yaitu khamir, yang mana dalam penelitian ini khamir sebagai kandidat pengembang roti untuk melakukan proses fermentasi.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Khamir yang berhasil ditemukan dari buah salak pondoh diberi kode isolat yaitu YIS-1, YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6, YIS-7 dan YIS-8 berdasarkan pengamatan morfologi memiliki kemiripan dengan sub kelas *Hemiascomycetes* dalam kelas *Ascomycetes*. Isolat YIS-1 dan YIS-7 memiliki kemiripan dengan genus *Pichia*, isolat YIS-2, YIS-3, YIS-4 dan YIS-5 memiliki kemiripan dengan genus *Saccharomyces*, isolat YIS-6 memiliki kemiripan dengan genus *Candida*, YIS-8 memiliki kemiripan dengan genus *Debaryomyces*.
2. Isolat khamir YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5, YIS-6 dan YIS-7 memiliki kemampuan dalam memfermentasi semua jenis gula kecuali laktosa. Isolat khamir YIS-2, YIS-4, YIS-6, YIS-8 memiliki kemampuan hidup tumbuh dalam media glukosa 50%. Semua isolat khamir memiliki kemampuan hidup tumbuh dalam media konsentration etanol 10%, 13% dan 15%. Semua isolat khamir memiliki kemampuan hidup untuk tumbuh pada suhu 30°C dan 37°C. Isolat khamir YIS-1 dan YIS-6 tidak dapat memproduksi hidrogen sulfida. Semua isolat khamir memiliki kemampuan flokulasi.
3. Semua isolat khamir memiliki kemampuan dalam mengembangkan adonan roti. Isolat khamir yang memiliki kemampuan terbaik dalam menumbuhkan adonan roti yaitu YIS-3 dan YIS-4 dengan ukuran volume yaitu 185 cm³ lebih besar dari ragi komersial yaitu 180 cm³, sedangkan setelah pemanggangan isolat khamir terbaik yaitu YIS-4 dan YIS-7 karena memiliki kriteria yang sama dengan ragi komersial.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah setelah diketahui kemampuan khamir sebagai pengembang roti perlu ditindak lanjuti dalam hal identifikasi khamir tersebut secara molekuler dan aplikasinya menjadi ragi komersial pengganti fermipan

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, D.R. bin Muhammad bin Abdurrahman bin Ishaq Al-Sheikh. 1994. Tafsir Ibnu Katsir. Jilid 1. Mu-assasah Daar al-Hilaal Kairo. Kairo.
- Ali, M. N., dan M. Khan M. 2014. Screening, Identification And Characterization Of Alcohol Tolerant Potential Bioethanol Producing Yeasts. *Current Research In Microbiology And Biotechnology*. 2(1), 316-324.
- Alfian. Achmad Rifky. 2019. *Skripsi*. Isolasi dan Identifikasi Khamir Yang Berasosiasi Dengan Bunga Apel (*Malus sylvestris* Mill) Dan Potensinya Dalam Fermentasi Karbohidrat.. UIN Malang.
- Andaka, Ganjar, and Arumsari Sentani. 2016. "Pengambilan Minyak Kelapa Dengan Metode Fermentasi Menggunakan Ragi Roti." *Jurnal Teknik Kimia* 10(2): 65–70.
- Ashlila, Isna Nur dan Nur Hidayatul Alami. 2014. Karakterisasi Khamir Dari Pulau Poteran Madura. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 3(2), hal: 2337-3520.
- Asyikeen, Noroul Z., Ma'aruf, A.G., Sahilah, Mohd. Khan, A. dan Wan Aida, W.M. 2013. A New Source of *Saccharomyces cerevisiae* as a Leavening Agent in Bread Making. *International Food Research Journal*. 20(2), hal: 967-973.
- Atlas, R. M. 2005. Media for Environmental Microbiology Second Edition. Boca Ranton. CRC Press.
- Azzolini, M., B. Fedrizzi, E. Tosi, F. Finato, P. Vagnoli, C. Scrinzi, dan G. Zapparoli. 2012. Effects of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* Mixed Cultures on Fermentation and Aroma of Amarone Wine. *European Food Research and Technology*. 235(1), hal: 303–313.
- BAPPENAS. 2000. Sistim Informasi Manajemen Pembangunan Di Perdesaan. Jakarta: BAPPENAS.
- Barnett, J.A, Payne, R.W. dan Yarrow, D. 1990. *Yeast: Characteristics dan Identification* 2nd Ed. Cambridge University Press.
- Bhatia, S.C. 2016. *Food Biotechnology*. New Delhi: Woodhead Publishing India Ltd.
- Bhowmik. G. 2011. *Ana Techniqs in Biotechnology*. New Delhi: Tata McGraw Hill Education Private Ltd.
- Birch, A. N., Van Den Berg, F. W. J., dan Hansen, Å. S. 2013. Expansion Profiles Of Wheat Doughs Fermented By Seven Commercial Baker's Yeasts. *Journal Of Cereal Science*, 58, 318–323.
- Carlile, M. J., Watkinson, S. C., and Gooday, G. W. (2001). *The Fungi*. Gulf Professional Publishing.
- Cho, I. H., dan Peterson, D. G. 2010. Chemistry of bread aroma: A review. *Food Science and Biotechnology*. 19(3), 575-582

- Cocolin, L., Alessandria, V., Dolci, P., Gorra, R., and Rantsiou, K. 2013. Culture Independent Methods to Assess the Diversity and Dynamics of Microbiota during Food Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 167(1), hal: 29-43.
- Dawson. 1994. Classification of Industrial Strain of *Saccharomyces cerevisiae* Based on Physiological Characteristic. Master of Applied Sciences in Food Microbiology. Thesis. Sydney: University of New South Wales
- De Oliva-Neto, P., C. Dorta, AFA. Carvalho, VMG. De Lima dan DF. Da Silva. 2013. The Brazilian Technology of Fuel Ethanol Fermentation-Yeast Inhibition Factors and New Perspectives to Improve the Technology. Dalam: A. Méndez-Vilas, Ed. Materials and Processes for Energy: Communicating Current Research and Technological Developments. Formatex. 371-379.
- De Oca Montes, R. Pérez, L.S. Salem, A.Z.M. Kholif, A.E. Monroy, H., Zamora, J.L. and, Gutiérrez, A. 2016. Yeast: Description And Structure. *ResearchGate*
- De Becze, G. I. 1956. Yeasts: I. Morphology. *Applied microbiology*, 4(1), 1.
- De Vuyst, L., Harth, H., Van Kerrebroeck, S., dan Leroy, F. (2016). Yeast Diversity Of Sourdoughs And Associated Metabolic Properties And Functionalities. *International Journal Of Food Microbiology*, 239, 26–34.
- Diana, Lady, and Titi Lasmini. 2016. “Isolasi Dan Identifikasi Khamir Selulolitik Dar Tanah Rizosfer Anggrek Puser Bumi (*Pecteilis Susannae* L.) Di Hutan Wonosadi Gunung Kidul DIY.” *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi* 4(1): 21–28.
- Dijken, Van J. P. dan Scheffers, W. A. 1986. Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts. *FEMS Microbiology reviews*. 1(3-4): 199-224.
- Dzialis, Maria C. et al. 2017. “Physiology, Ecology and Industrial Applications of Aroma Formation in Yeast.” *FEMS Microbiology Reviews* 41(June): S95–128.
- El-Nemr, T. M. 2001. Immobilization Of Recombinant Strains Of *Saccharomyces cerevisiae* For The Hydrolysis Of Lactose In Salted Domiati Cheese Whey. *European Food Research And Technology*, 212(2), 225-227.
- Fatimah, 2013. Kinetika Reaksi Fermentasi Alkohol Dari Buah Salak.” *Jurnal Teknik Kimia USU* 2(2): 16–20.
- Fardiaz, D. S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. Jakarta: PT Gramedia.
- Fell, J.W., Boekhout, T., Fonseca, A., Scorzetti, G., dan Statzell Tallman, A. 2000. Biodiversity and Systematics and Basidiomycetes Yeasts As Determined by Large-Subunit Rdna d1/d2 Domain Sequence Analysis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50 (3), hal: 1351-1371.
- Fleet, GH. 2011. Yeast Spoilage of Foods and Beverages. Dalam: Kurtzman, CP, Fell, JW, Boekhout, T. *The Yeast: A Taxonomic Study* 5th Edition. USA: Elsevier, hal: 53-64.

- Fleury, C. Pampin, M. Tarze, A. dan Mignotte, B. 2002. Yeast as a model to study apoptosis. *Bioscience reports*. 22(1): 59-79.
- Fugelsang, K.C., and Edwards, C.G. 2007. Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures, Second Edition. Springer Science.
- Gandjar, I. dan Sjamsuridzal, W. 2006. Mikologi: Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Girl, S., dan Kindo, M. J. 2015. Evaluation of Five Phenotypic Test In The Identification Of Candida Species. *Nat J Lab Med*. 4, hal 13-18.
- Hamamoto, M., and Nakase, T. 2000. Phylogenetic Relationships Among Fungi Inferred From Small Subunit Ribosomal RNA Gene Sequences.
- Han, S. M., Hyun, S. H., Lee, H.B., Lee, H. W., Kim, H. K., dan Lee, J. S. 2015. Isolation and Identification of Yeasts From Wild Flowers Collected Around Jangseong Lake in Jeollanam-do, Republic of Korea, and Characterization of The Unrecorded Yeast *Bullera coprosmaensis*. *Mycobiology*. 43(3), hal 266-271.
- Harley, J. P. dan L. M. Prescott. 2002. Laboratory Exercise in Microbiology 5th edition. New York: McGraw-Hill Education.
- Henschke, P. A. and Lee, T. H. 1994. Application of Biotechnology to the Improvement of Wine Yeast. *Office International De La Vinge et du vin Periodicals*. 1(1), hal: 1-11.
- Herrera, C. M. de Vega, C. Canto, A. dan Pozo, M. I. 2009. Yeasts in Floral Nectar: A Quantitative Survey. *Annals of Botany*. 103(9), hal: 1415-1423.
- Herlianty, Shinta, and Kania Dewi. 2013. "Potensi Gangguan Bau Gas Hidrogen Sulfida (H₂S) Di Lingkungan Kerja Pt Pertamina (Persero) Ru Iv Cilacap." *Jurnal Teknik Lingkungan* 19(2): 196–204.
- Higham, J. G. 1970. Studies in the Genus *Sporidiobolus*. Thesis. University of British Columbia.
- Ingram, L. O. and Buttke, T. M. 1984. Effects of Alcohols on Microorganisms. *Advances in Microbial Physiology*. 25(1), hal: 253–300.
- Ismail, Hari. 2019. Skripsi. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Dari Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Kultivar Binjai Serta Potensinya Dalam Fermentasi Karbohidrat.
- Jalaludin, I. 2010. Tafsir Jalalain Edisi Indonesia. Surabaya: Pustaka Elba.
- Jimenez, J., Benitez, T., 1986. Characterization of Wine Yeasts for Ethanol Production. *Appl. Microbiol Biotechnology*. 25(1), hal: 150-154.
- Jumiyati, Siti Harnina Bintari dan Ibnu Mubarak. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Secara Morfologi Di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Biosantifika*. 4(1).

- Kanti, Atit. 2005. Identifikasi Jenis Khamir yang Diisolasi dari Tanah Gambut Taman Nasional Bukit Duabelas, Jambi. *BIO SMART*. ISSN: 1411-321X. 6(1), hal: 10-14.
- Karkie, Tika B., Parash Mani Timilsina, Archana Yadav, Gyanu Raj Pandey, Yogesh Joshi, Sahansila Bhujel, Rojina Adhikari, dan Katyayane Neupanel. 2017. Selection and Characterization of Potential Baker's Yeast from Indigenous Resources of Nepal. *Biotechnology Research International*. 1(1).
- Kevin, K. 2005. *Fungi: Biology and Applications*, p. 257. England: John Wiley and Sons, Ltd.
- 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.
- Kreger-van Rij, N.J.W. (ed.) 1984. *The Yeast: A Taxonomic Study*. Amsterdam: Elsevier Scientific.
- Kurtzman, C. P. dan Fell, J. W. 1998. *The Yeast A Taxonomic Study*. New York: Elsevier.
- Kurtzman C.P. dan Fell, J.W. 2006. *Yeast Systematics and Phylogeny-Implication of Molecular Identification Methods For Studies in Ecology, Biodiversity and Ecophysiology of Yeast*. Berlin: Springer-verlag.
- Kurtzman, C. P., dan Piskur, J. 2006. Taxonomy And Phylogenetic Diversity Among The Yeasts. In *Comparative Genomics* (pp. 29-46). Berlin: Springer, Heidelberg.
- Kuswardhani, N. dan Lindriati, T. 2015. Analisis Kelayakan Pengembangan Agroindustri Abon Jantung Pisang (*Musa balbisiana* Colla.) Dengan Penambahan Keluwih (*Artocarpus camansi*).
- Kurtzman, C. P. dan Sugiyama, J. 2001. Ascomycetous yeasts and yeastlike taxa. *Systematics and Evolution* (pp. 179-200). Springer. Berlin. Heidelberg.
- Lasmini. 2016. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Penghasil Asam Indol Asetat Dari Rhizosfer Anggrek Tanah *Pecteilis susannae* (L.) Rafin. *Jurnal Ipteks Terapan Research of Applied Science and Education*. 9(4), hal: 261-268.
- Limtong, S., Sringiew, C., Yongmanitchai, W., 2007. Production of Fuel Ethanol at High Temperature from Sugarcane Juice by A Newly Isolated *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresour Technology*. 98(1), hal: 3367-3374.
- Lozano, Del Castillo M. L., Tache R., Bonnarme P., dan Landaud S. 2007. Evaluation of a Quantitative Screening Method for Hydrogen Sulfide Production by Cheese-Ripening Microorganisms: The First Step towards L-Cysteine Catabolism. *Journal of Microbiological Methods*. 69(1), hal: 70-77.
- Ma'aruf, A.G., Z. Noroul Asyikeen, A.M. Sahilah dan A. Mohd. Khan. 2011. Leavening Ability of Yeast Isolated From Different Local Fruits In Bakery Product. *Sains Malaysiana*. 40(12), hal: 1413–1419.

- Maryam, Balarabe Musa, Sani Sambo Datsugwai Mohammed dan Orukotan Abimbola Ayodeji. 2017. Screening of Fermentative Potency of Yeast Isolates from Indigenous Sources for Dough Leavening. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2(1), hal: 12-17.
- Merico, A., P. Sulo, J. Piskur dan C. Compagno. 2007. Fermentative Lifestyle in Yeasts Belonging to the *Saccharomyces* Complex. *Febs Journal*. 274(1), hal: 976–989.
- Miki, B. L., Poon, N. H., dan Seligy, V. L. 1982. Repression and Induction of Flocculation Interactions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*, 150(2), 890-899.
- Muhammad, Jalaluddin dan Jalaluddin Abdirrahman. 2010. Tafsir Jalalain Edisi Indonesia. Diterjemahkan Oleh: Najib Junaidi, Lc. Fithrah. Surabaya.
- Nasir, A., Rahman, S. S., Hossain, M. M., dan 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.
- Nurhariyati T, Ni'matuzahroh dan Surtiningsih T. 2004. Keanekaragaman Khamir Pendegradasi Minyak Hasil Isolasi Dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. *Berkala Penelitian Hayati*. 9(1), hal: 87-91.
- Nwachukwu, I., Ibekwe, V., Nwabueze, R., Anyanwu, B., 2006. Characterisation of Palm Wine Yeast Isolates for Industrial Utilization. *Afr. J. Biotechnol*. 5(9), hal: 1725-1728.
- Olowonibi, Olabisi Oloruntoba. 2017. Isolation and Characterization of Palm Wine Strains of *Saccharomyces cerevisiae* Potentially Useful as Bakery Yeasts. *European Journal of Experimental Biology*. 7(2).
- Okafor, N. 2007. Modern Industrial Microbiology and Biotechnology. America: Science Publishers.
- Ong, S.P dan Law, C.L. 2009. *Mathematical Modelling of Thin Layer Drying of Snakefruit*, Journal of Applied Sciences Vol. 9 Edisi 17 Hal. 3048-3054.
- Pelczar, M. J., dan E. S. C. Chan. 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: UI-Press.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2013. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, M.J., E.C.S. Chan, and Noel R.Krieg 2008. Microbiology Fifth Edition. New Delhi: McGraw-Hill Publishing company Limited.
- Photo Researchers. 2019. LM of *Saccharomyces Cerevisiae*. <https://www.alamy.com/stock-photo-lm-of-saccharomyces-cerevisiae-134943517.html>. 8 Januari 2019.
- Prianka, B. T. 2014. Isolation of Potential Baker's Yeasts (*Saccharomyces cerevisiae* M.) From Different Indigenous Sources. *Journal of Food Engineering*. 1(1), hal: 46-47.

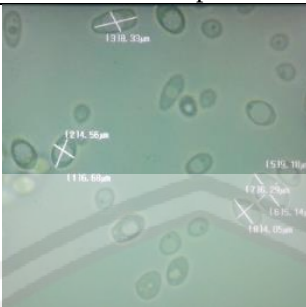
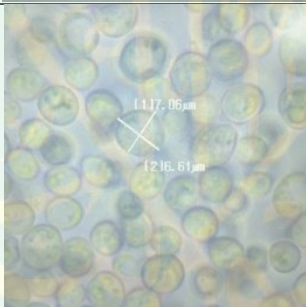
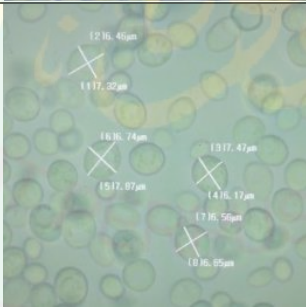
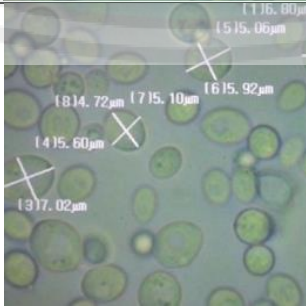
- Purwitasari, E. Pangastuti, A. dan Setyaningsih, R. 2004. Pengaruh Media Tumbuh Terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* Dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Bioteknologi*. 1(2): 37-42.
- Querol, A., Fernandez E. M. T., Olmo M. dan Barrio E. 2003. Adaptive Evolution of Wine Yeast. *International Journal of Food Microbiology*. 86(1), hal: 3-10.
- Querol, A., dan Fleet, G. H. 2006. Yeast and Food Beverages. Germany: Springer Verlag Heidelberg.
- Rashid, A. N. M. Mamun-Or, Biplab Kumar Dash, Md. Nurul Abadin Chowdhury, Momtaz Fatima Waheed dan Md. Kamruzzaman Pramanik. 2013. Exploration of Potential Baker's Yeast from Sugarcane Juice: Optimization and Evaluation. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 16(13), hal: 617-623.
- Rafiqah N. 2010. Studi Viabilitas Khamir Pada Fermentasi Tauco Dalam Larutan Garam. *Tesis*. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Rai, I. N., C. G.A. Semarajaya, I. W. Wiraatmaja, and K. Alit Astiari. 2016. "Relationship between IAA, Sugar Content and Fruit-Set in Snake Fruit (Zalacca Salacca)." *Journal of Applied Horticulture* 18(3): 213–16.
- Rini, Anjas Wida Elistia. 2017. *Skripsi*. "Isolasi Dan Identifikasi Khamir Toleran Alkohol Dari Molases." Universitas Jember.
- RIKEN BioResource Research Center. 2019. JCM On-line Catalogue of Strains. http://jcm.brc.riken.jp/en/catalogue_e. 8 Januari 2019
- Saleh, Mohammed S.M. et al. 2018. "Salacca Zalacca: A Short Review of the Palm Botany, Pharmacological Uses and Phytochemistry." *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 11(12): 645–52.
- Sri, Ni Ketut. 2010. *Pemanfaatan Biosolid*. Klaten: Humaniora.
- Satyanaraya, T. dan Kunze, G. 2009. Yeast Biotechnology: Diversity and Applications. New Delhi: Springer Science.
- Schneiter, R. 2004. Genetics, Molecular, and Cell Biology Yeast. Universite de Freiburg Suisse Switzerland.
- Simbolon, Nebay Cronika, I Made Mahaputra Wijaya dan Ida Bagus Wayan Gunam. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Khamir Potensial Penghasil Bioetanol dari Industri Arak Di Karangasem Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 6(4), hal: 316-326.
- Silva, A. P. F. B., Nascimento, J. R. O. D., Lajolo, F. M., dan Cordenunsi, B. R. 2008. Starch Mobilization and Sucrose Accumulation In The Pulp Of Keitt Mangoes During Postharvest Ripening. *Journal Of Food Biochemistry*, 32(3), 384-395.
- Spencer, J.F.T. dan D.M. Spencer. 1997. Yeasts in Natural and Artificial Habitats. Berlin: Springer-Verlag, Heidelberg. ISBN-10: 3540568204.

- Slaughter, J. C., Priest F. G. dan Campbel I. 2003. *Brewing Microbiology*. New York: Springer Science
- Stanley P. Cauvain, and Linda S. Young. 2007. *Technology of Breadmaking*. Springer
- Sumerta, I Nyoman dan Atit Kanti. 2017. Keragaman Jenis Khamir Penghasil Etanol yang Diisolasi dari Makanan Fermentasi di Kepulauan Riau. *Jurnal Biologi Indonesia*. 13(1), hal: 61-69.
- Suryaningsih, Vivi, Rejeki Siti Ferniah dan Endang Kusdiyantini. 2018. Karakteristik Morfologi, Biokimia, dan Molekuler Isolat Khamir Ik-2 Hasil Isolasi Dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Biologi*. 7(1), hal: 18-25.
- Sutoyo, S. 2010. Keanekaragaman Hayati Indonesia Suatu Tinjauan: Masalah dan Pemecahannya. *BUANA SAINS*. 10(2): 101-106.
- Soares, E. V. 2011. Flocculation in *Saccharomyces cerevisiae*: a Review. *Journal of Applied Microbiology*. 110 (1), hal: 1-18.
- Soetomo. 2001. *Teknik Bertanam Salak*. Bandung: Sinar Baru Algesindo.
- Stratford. 1992. Lectin-Mediated Aggregation of Yeasts – Yeast Flocculation. *Biotechnology dan Genetic Engineering Reviews*. 10(1), hal: 283–341.
- Tarigan, J. 1988. Pengantar Mikrobiologi. Depdikbud Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Jakarta: Lembaga Pendidikan.
- Talaro, K. P dan Chess, B. 2012. *Foundation in Microbiology*, Eight Edition. McGraw-Hill.
- Tarek, M. E-N. 2001. Immobilization Of Recombinant Strains Of *Saccharomyces cerevisiae* For The Hydrolysis Of Lactose In Salted Domiati Cheese Whey. *European Food Research And Technology* 212: 225-227.
- Tsegaye, Zerihun 2016. Isolation, Identification and Characterization of Ethanol Tolerant Yeast Species from Fruits for Production of Bio-ethanol. *International Journal of Current Trends in Pharmacobiology and Medical Sciences*. 1(2), hal: 52-59.
- Thais, M., T. M. Guimar~aes, D. G. Moriel, I. P. Machado, C. M. T. F. Picheth, dan T. M. B. Bonfim. 2006. Isolation and Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* Strains of Winery Interest. *Brazilian Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 42(1), hal: 119–126.
- Tim Karya Mandiri. 2010. *Pedoman Budidaya Buah Salak*. Bandung: CV Nuansa Aulia.
- Triyono, K. 2013. Keanekaragaman Hayati Dalam Menunjang Ketahanan Pangan. *Jurnal Inovasi Pertanian*. 11(1):12-22.
- Tsegaye, Z., Tefera G., Gizaw B., Abatenh E. 2018. Characterization of Yeast Species Isolated from Local Fruits Used for Bakery Industrial Application. *Journal of Applied Microbiological Research*. 1(1), hal: 21-26.
- Trubus. 1989. *Salak Pondoh ada Empat Macam*. Tahun XX, No. 233: Jakarta

- United States Department of Agriculture (USDA). tt. Clasification of Rambutan (Online). <https://plants.usda.gov/classification.html>. 29 Maret 2018.
- Van Dijken, J. P. dan Scheffers, W. A. 1986. Redox Balances in the Metabolism of Sugars by Yeasts. *FEMS Microbiology Reviews*. 1(3-4), hal: 199-224.
- Vadkertiová, R., Molnárová, J., Vránová, D., dan Sláviková, E. (2012). Yeasts And Yeast-Like Organisms Associated With Fruits And Blossoms Of Different Fruit Trees. *Canadian Journal Of Microbiology*, 58(12), 1344-1352.
- Verstrepen, K.J., G. Derdelinckx dan H. Verachtert. 2003. Yeast Flocculation: What Brewers should know. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 61(3), hal: 197-205.
- Walker, G. M. 1998. Yeast Physiology And Biotechnology. John Wiley dan Sons.
- Watanabe, M. Uchida, N. Fujita, K. Yoshino, T. dan Sakaguchi, T. 2016. Breadand Effervescent Beverage Productions with Local Microbes for the Local Revitalization. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*. 6(3):381-384.
- Waluyo, L. 2008. Teknik Metode Dasar Mikrobiologi. Universitas Muhamadiyah Malang Press. Malang. 356 hal.
- Webster and Weber. 2007. *Introduction to Fungi*. England: Cambridge University Press.
- Wickerman, L.J. 1951. Taxonomy Of Yeasts Technical Bulletin No. 1029. Washington, D.C.: U.S. Department Of Agriculture.
- Widaningsih, Neni , M. Ilmi Hidayat, Muhammad Musair. 2013. “Analisis Pendapatan Tani Salak Bali (*Salacca edulis* REINW) Di Desa Batu Nindan Kecamatan Basarang.” *Ziraa'ah* 38(3): 1-7.
- Widiastutik, Naning Dan Nur Hidayatul Alami. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Yeast Dari Rhizosfer *Rhizophora mucronata* Wonorejo. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 3(1).
- Wisnu, Broto. 1990. Kajian Sifat- Sifat Mutu Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* Lin) Varietas Binjai Pada Saat Panen. *Thesis*. Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yarrow, 1998. Methods for The Isolation, Maintenance and Identification of Yeasr. Dalam: Kurtzman, C.P dan Fell, J.W. 1998. *The Yeastss: A Taxonomic Study*. 4 rd. Amsterdam: Elsevier Science.
- Yasin, 2013. Etanol Dari Buah Salak (*Salacca Zalacca*) Yang Tidak Layak Konsumsi.” *J. Akad. Kim*. 2(1): 5-10.
- Zubaidah, Elok et al. 2017. “The Effectiveness of Various Salacca Vinegars as Therapeutic Agent for Management of Hyperglycemia and Dyslipidemia on Diabetic Rats.” *International Journal of Food Science* 2017.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Khamir Hasil Isolasi dari Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis*)

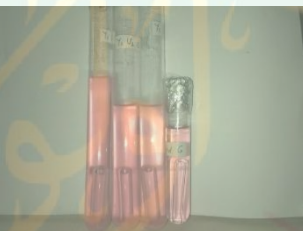
No	Isolat	Mikroskopis	Makroskopis
1	YIS-1		
2	YIS-2		
3	YIS-3		
4	YIS-4		
5	YIS-5		

Lampiran 2. Hasil Fermentasi Karbohidrat Hari Ke 7

Keterangan: (-): tidak ada gelembung udara, (+): terdapat gelembung udara

1. Hasil Fermentasi Glukosa

Isolat Khami r	Ulangan																							
	Hari ke-1			Hari ke-2			Hari ke-3			Hari ke-4			Hari ke-5			Hari ke-6			Hari ke-7					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
YIS-1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

No	Isolat	Gambar
1	YIS-1	
2	YIS-2	
3	YIS-3	

4	YIS-4			
5	YIS-5			
6	YIS-6			
7	YIS-7			
8	YIS-8			

2. Hasil Fermentasi Laktosa

Isolat Kha mir	Ulangan																				
	Hari ke-1			Hari ke-2			Hari ke-3			Hari ke-4			Hari ke-5			Hari ke-6			Hari ke-7		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
YIS-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
YIS-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
YIS-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
YIS-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
YIS-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
YIS-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

YIS-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
YIS-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

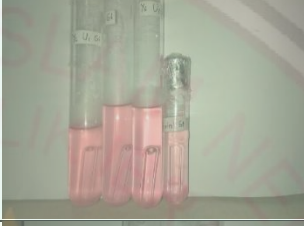
No	Isolat	Gambar	
1	YIS-1		
2	YIS-2		
3	YIS-3		
4	YIS-4		
5	YIS-5		
6	YIS-6		

7	YIS-7			
8	YIS-8			

3. Hasil Fermentasi Galaktosa

Isolat Khamir	Ulangan																				
	Hari ke-1			Hari ke-2			Hari ke-3			Hari ke-4			Hari ke-5			Hari ke-6			Hari ke-7		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
YIS-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-3	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-7	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-8	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+

No	Isolat	Gambar
1	YIS-1	
2	YIS-2	
3	YIS-3	

4	YIS-4			
5	YIS-5			
6	YIS-6			
7	YIS-7			
8	YIS-8			

4. Hasil Fermentasi Sukrosa

Isolat Khamir	Ulangan																				
	Hari ke-1			Hari ke-2			Hari ke-3			Hari ke-4			Hari ke-5			Hari ke-6			Hari ke-7		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
YIS-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
YIS-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
YIS-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-4	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
YIS-7	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+

No	Kode Isolat	Gambar	
1	YIS-1		
2	YIS-2		
3	YIS-3		
4	YIS-4		
5	YIS-5		
6	YIS-6		
7	YIS-7		

8	YIS-8			
---	-------	--	--	--

5. Hasil Fermentasi Fruktosa

Isolat Khamir	Ulangan																				
	Hari ke-1			Hari ke-2			Hari ke-3			Hari ke-4			Hari ke-5			Hari ke-6			Hari ke-7		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
YIS-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
YIS-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+
YIS-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
YIS-5	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-6	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
YIS-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+

No	Kode Isolat	Gambar	
1	YIS-1		
2	YIS-2		
3	YIS-3		
4	YIS-4		

5	YIS-5			
6	YIS-6			
7	YIS-7			
8	YIS-8			

Lampiran 3. Hasil Fermentasi Karbohidrat dan Uji PH Hari Ke 8

Keterangan: (-):tidak ada gelembung udara,(+):terdapat gelembung udara

1. Hasil Fermentasi Glukosa (hari ke-8) dan uji PH

Isolat Khamir	Hasil Fermentasi Karbohidrat			Hasil Uji PH			
	Hari ke-8			Hari ke-8			
	1	2	3	1	2	3	Kontrol
YIS-1	+	+	+	6	6	6	7
YIS-2	+	+	+	5	5	5	7
YIS-3	+	+	+	6	6	6	7
YIS-4	+	+	+	6	6	6	7
YIS-5	+	+	+	6	6	6	7
YIS-6	+	+	+	5	5	5	7
YIS-7	+	+	+	6	6	6	7
YIS-8	+	-	+	5	5	5	7

2. Hasil Fermentasi Laktosa (hari ke-8) dan uji PH

Isolat Khamir	Hasil Fermentasi Karbohidrat			Hasil Uji PH			
	Hari ke-8			Hari ke-8			
	1	2	3	1	2	3	Kontrol
YIS-1	-	-	-	9	9	9	7
YIS-2	-	-	-	6	6	6	7
YIS-3	-	-	-	7	7	7	7
YIS-4	-	-	-	7	7	7	7
YIS-5	-	-	-	7	7	7	7
YIS-6	-	-	-	9	9	9	7
YIS-7	-	-	-	9	9	9	7
YIS-8	-	-	-	7	6	6	7

3. Hasil Fermentasi Galaktosa (hari ke-8) dan uji PH

Isolat Khamir	Hasil Fermentasi Karbohidrat			Hasil Uji PH			
	Hari ke-8			Hari ke-8			
	1	2	3	1	2	3	Kontrol
YIS-1	+	+	+	6	6	6	7
YIS-2	+	+	+	5	5	5	7
YIS-3	+	+	+	6	6	6	7
YIS-4	+	+	+	6	6	6	7
YIS-5	+	+	+	6	6	6	7
YIS-6	+	+	+	5	5	5	7

YIS-7	+	+	+	6	6	6	7
YIS-8	+	-	+	5	5	5	7

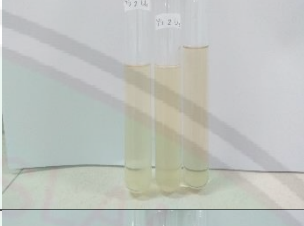
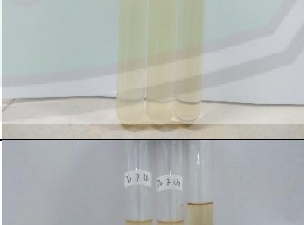
4. Hasil Fermentasi Sukrosa (hari ke-8) dan uji PH

Isolat Khamir	Hasil Fermentasi Karbohidrat			Hasil Uji PH			
	Hari ke-8			Hari ke-8			
	1	2	3	1	2	3	Kontrol
YIS-1	-	-	-	5	5	5	7
YIS-2	-	+	-	7	7	7	7
YIS-3	+	+	+	5	5	5	7
YIS-4	+	+	+	5	5	5	7
YIS-5	+	+	+	5	5	5	7
YIS-6	+	+	+	6	6	6	7
YIS-7	+	+	+	6	6	6	7
YIS-8	+	-	+	5	5	5	7

5. Hasil Fermentasi Fruktosa (hari ke-8) dan uji PH

Isolat Khamir	Hasil Fermentasi Karbohidrat			Hasil Uji PH			
	Hari ke-8			Hari ke-8			
	1	2	3	1	2	3	Kontrol
YIS-1	+	+	+	7	7	7	7
YIS-2	-	-	+	5	5	5	7
YIS-3	+	+	+	6	6	6	7
YIS-4	-	+	-	6	6	6	7
YIS-5	+	+	+	7	7	7	7
YIS-6	+	+	+	6	6	6	7
YIS-7	+	+	+	6	6	6	7
YIS-8	-	-	+	5	5	5	7

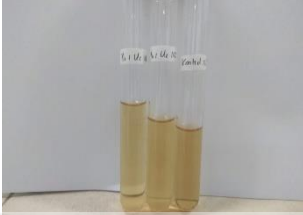
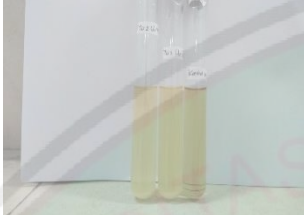
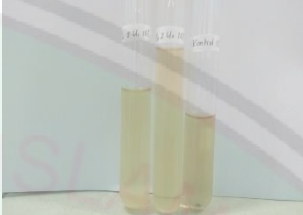
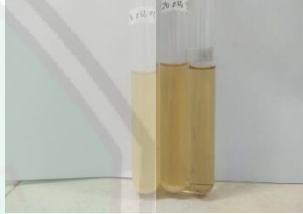
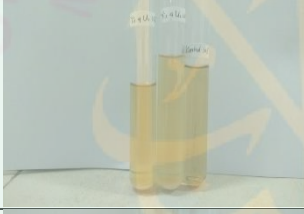
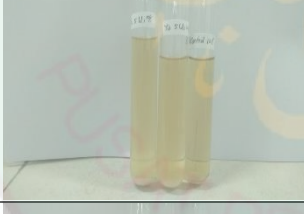
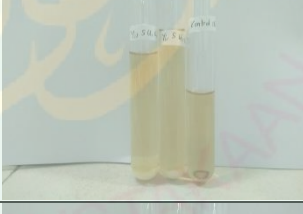
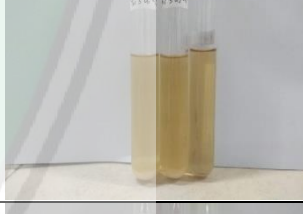
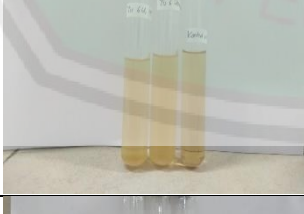
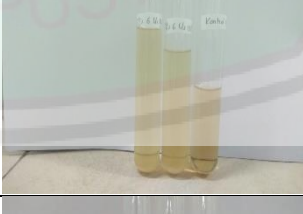
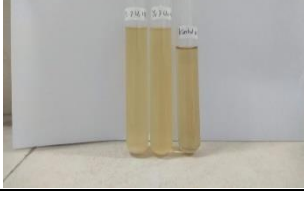
Lampiran 4. Hasil Pengamatan Toleransi Terhadap Gula YPG Broth 50%

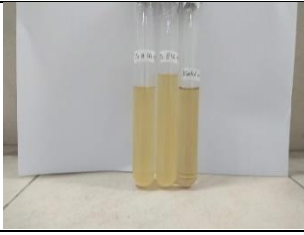
No	Isolat	Gambar	
1	YIS-1		
2	YIS-2		
3	YIS-3		
4	YIS-4		
5	YIS-5		
6	YIS-6		
7	YIS-7		

8	YIS-8			
---	-------	--	--	--



Lampiran 5. Hasil Pengamatan Toleransi Terhadap Etanol

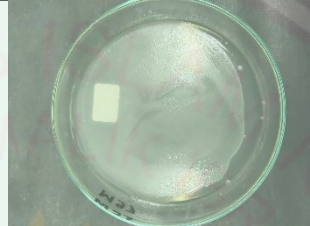
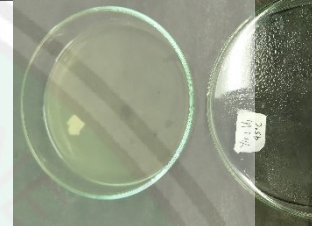
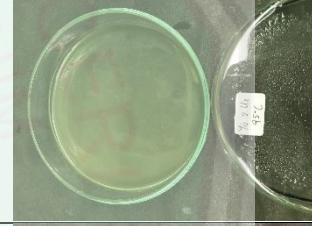
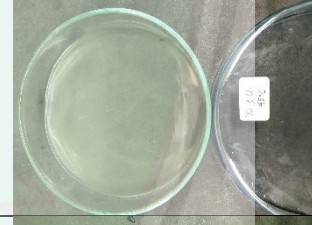
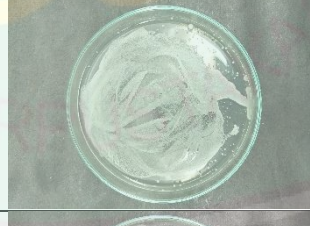
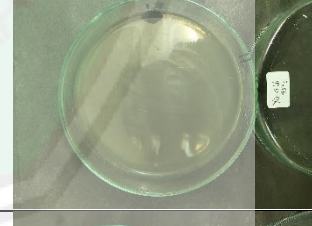
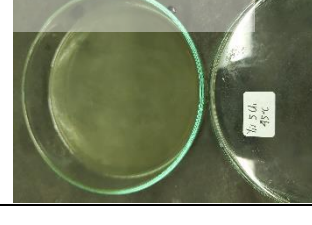
Isolat	10%	13%	15%
YI S-1			
YI S-2			
YI S-3			
YI S-4			
YI S-5			
YI S-6			
YI S-7			

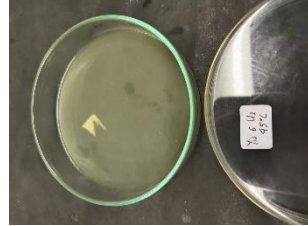
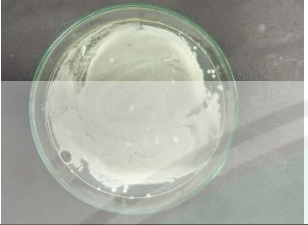
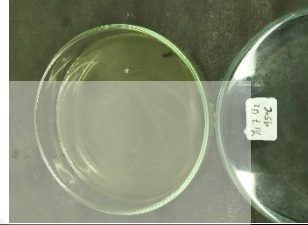
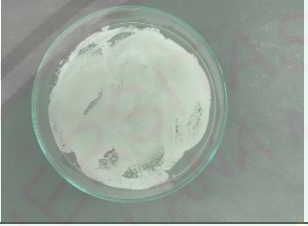
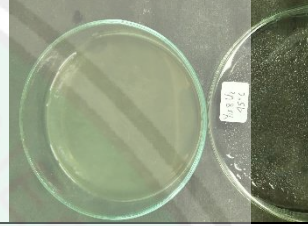
YI S-8			
-----------	---	--	---



Lampiran 6. Hasil Pengamatan Toleransi Terhadap Suhu

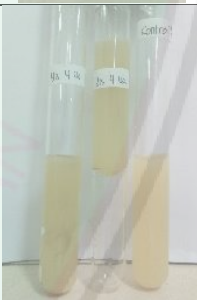
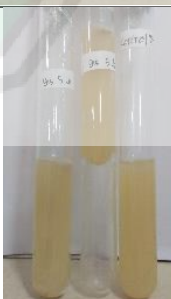
Isolat	30°C	37°C	45°C
YIS-1	+	+	-
YIS-2	+	+	-
YIS-3	+	+	-
YIS-4	+	+	-
YIS-5	+	+	-
YIS-6	+	+	-
YIS-7	+	+	-
YIS-8	+	+	-

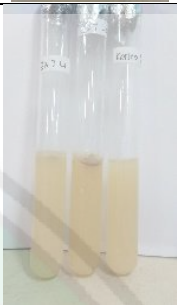
Isolat	30°C	37°C	45°C
YIS-1			
YIS-2			
YIS-3			
YIS-4			
YIS-5			

YIS-6			
YIS-7			
YIS-8			

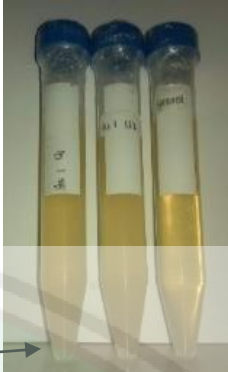


Lampiran 7. Hasil Pengamatan Terhadap Produksi Hidrogen Sulfida

No	Isolat	Hasil Uji Hidrogen Sulfida Hari Ke 7	
1	YIS-1		
2	YIS-2		
3	YIS-3		
4	YIS-4		
5	YIS-5		

6	YIS-6		
7	YIS-7		
8	YIS-8		

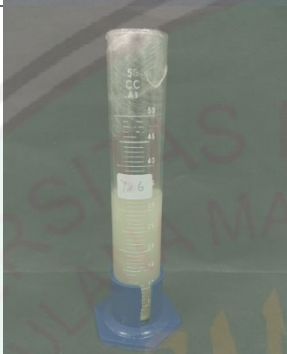
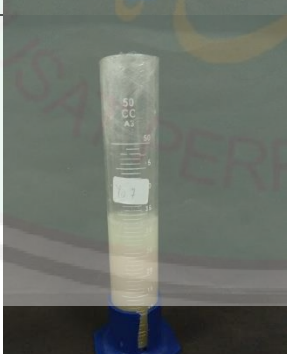
Lampiran 8. Hasil Pengamatan Khamir Terhadap Flokulasi

No	Isolat	Hasil Uji Flokulasi
1	YIS-1	
2	YIS-2	
3	YIS-3	
4	YIS-4	

5	YIS-5	
6	YIS-6	
7	YIS-7	
8	YIS-8	

Lampiran 9. Hasil Pengamatan Aktivasi Sel Khamir

Isolat	Hasil Aktivasi Sel Khamir		Kontrol Positif	
YIS-1				
YIS-2				
YIS-3				
YIS-4				

YIS-5						
YIS-6						
YIS-7						
YIS-8						

Lampiran 10. Hasil Pengamatan Adonan Roti Sebelum dan Setelah Dipanggang

Kode Isolat	Adonan Roti Sebelum Dipanggang (Kontrol + dan Isolat Khamir)	Adonan Roti Setelah Dipanggang (Kontrol + Isolat Khamir)
YIS-1		
YIS-2		
YIS-3		
YIS-4		

YIS-5		
YIS-6		
YIS-7		
YIS-8		



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Yekti Indriana Sari
 NIM : 15620034
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2020
 Pembimbing : Dr. Ulfah Utami, M.Si
 Judul Skripsi : Isolasi Dan Karakterisasi Khamir Pada Buah Salak Pondoh
 (*Salacca edulis* Reinw) Sebagai Kandidat Pengembang Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	8 Februari 2019	Konsultasi Judul Penelitian	1.
2.	16 Mei 2019	Konsultasi BAB I, II	2.
3.	16 Agustus 2019	Revisi BAB I, II	3.
4.	13 September 2019	Konsultasi BAB I, II, III	4.
5.	3 Oktober 2019	Revisi BAB I, II, III	5.
6.	8 November 2019	ACC BAB I, II, III	6.
7.	14 Agustus 2020	Konsultasi Hasil Pengamatan	7.
8.	09 November 2020	Konsultasi BAB I, II, III, IV dan V	8.
9.	09 November 2020	Simulasi Presentasi PPT	9.
10.	16 November 2020	ACC BAB I, II, III, IV dan V	10.
11.			11.
12.			12.
13.			13.

Pembimbing Skripsi,

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

Malang, 04 November 2020
 Ketua Prodi Biologi,

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



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Yekti Indriana Sari
 NIM : 15620034
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2020
 Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, M. A
 Judul Skripsi : Isolasi Dan Karakterisasi Khamir Pada Buah Salak Pondoh
 (*Salacca edulis* Reinw) Sebagai Kandidat Pengembang Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	1 November 2019	Konsultasi integrasi agama BAB I dan II	1.
2	8 November 2019	ACC integrasi agama BAB I dan II	2.
3	11 November 2020	Konsultasi integrasi agama BAB I, II dan IV	3.
4	17 November 2020		4.
5			5.
6			6.
7			7.
8			8.

Pembimbing Agama Skripsi,

Dr. Ahmad Barizi, M. A.
 NIP. 19731212 199803 1 008

Malang, 2020

Ketua Prodi Biologi,

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



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Yekti Indriana Sari

NIM : 15620034

Judul : ISOLASI DAN KARAKTERISASI KHAMIR PADA BUAH SALAK
 PONDOK (Salacca edulis REINW) SEBAGAI KANDIDAT
 PENGEMBANG ROTI

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc	19%	
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		

Mengetahui
 Ketua Program Studi
 Biologi

Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 197410182003122002