

**PENGARUH PENAMBAHAN SUMBER NITROGEN TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS ROTI HASIL FERMENTASI DARI
KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK (*Salacca edulis* Reinw.)**

SKRIPSI

**Oleh:
NUZULUL FUROIDA IMAROTU ZAHROH
NIM. 17620023**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH PENAMBAHAN SUMBER NITROGEN TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS ROTI HASIL FERMENTASI DARI
KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK (*Salacca edulis* Reinw.)**

SKRIPSI

**Oleh:
NUZULUL FUROIDA IMAROTU ZAHROH
NIM. 17620023**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH PENAMBAHAN SUMBER NITROGEN TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS ROTI HASIL FERMENTASI DARI
KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK (*Salacca edulis* Reinw.)**

SKRIPSI

Oleh:

Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh

NIM. 17620023

Telah disetujui oleh:

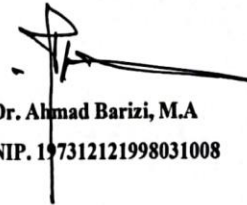
Dosen Pembimbing I



Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si

NIP. 19650509 199903 2 002

Dosen Pembimbing II



Dr. Ahmad Barizi, M.A

NIP. 197312121998031008

Tanggal, 27 Agustus 2021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evita Sandi Savitri, M.P

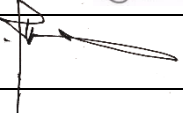
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH PENAMBAHAN SUMBER NITROGEN TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS ROTI HASIL FERMENTASI DARI
KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK (*Salacca edulis* Reinw.)**

SKRIPSI

**Oleh:
NUZULUL FUROIDA IMAROTU ZAHROH
NIM. 17620023**

**telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 28 September 2021**

Ketua Penguji	Ir. Liliek Harianie AR, M.P. NIP. 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji 1	Dr. Nur Kusmiyati, M.Si. NIP. 19890816 2016080 1 2061	
Anggota Penguji 2	Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si. NIP. 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji 3	Dr. Ahmad Barizi, M.A. NIP. 19731212 199803 1 008	

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang**



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah. Dengan rasa syukur kepada Allah SWT, skripsi ini dipersembahkan kepada semua orang yang telah mendoakan, memotivasi, serta mendukung penulis dalam menyelesaikannya, khususnya kepada:

1. Kedua Orang Tua saya, Bapak Irwahyudi dan Ibu Hidayatul Ilmi yang telah merawat, mendidik serta mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik
2. Adik laki-laki saya, M. Thoriq Aslam Azmil Akbar yang selalu memberi support kepada penulis.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi
4. Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik
5. Dr. Nur Kusmiyati, M.Si., selaku dosen yang selalu memberikan bimbingan dan arahan terkait metode dan pengolahan data
6. Dr. Ahmad Barizi, M.A., selaku dosen pembimbing agama yang telah sabar memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam
7. Retno Novitasari H. D., M.Sc., selaku laboran Mikrobiologi yang memberi arahan dan bimbingan selama penelitian
8. Muhammad Riefki Pratama yang selalu sabar dalam memotivasi, menemani, dan membantu penulis hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
9. Teman-teman proyek pengembang roti, Muhammad Riefki Pratama dan Yuanita Refa Kusuma yang senantiasa membantu dari awal hingga akhir penelitian.
10. Teman-teman seperjuangan Wolves Biologi 2017 dan ABIO 2017 khususnya Fikron, Zahro, Arum, dan Marisa, yang telah memberikan semangat dan senantiasa memotivasi penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik
11. Sahabat-sahabat penulis, Zahrotul Ayu Pangestu dan Moh. Irvan Abdillah yang selalu memberi support kepada penulis.

MOTTO

"فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ"

“Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya”

(Q.S ‘Abasa [80]:24).

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh
NIM : 17620023
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Penambahan Sumber Nitrogen terhadap
Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi dari
Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis*
Reinw.)

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

Malang, 28 September 2021
yang membuat pernyataan,



Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh
NIM. 17620023

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

**PENGARUH PENAMBAHAN SUMBER NITROGEN TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS ROTI HASIL FERMENTASI DARI
KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK PONDOH (*Salacca edulis* Reinw.)**

Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh, Ulfah Utami, Ahmad Barizi

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Khamir merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan fermentasi, sehingga khamir banyak dimanfaatkan di bidang industri, salah satunya biomassa khamir sebagai pengembang adonan roti. Untuk dapat memaksimalkan fermentasi, maka dibutuhkan perlakuan yang bertujuan untuk mengoptimalkan biomassa khamir, yaitu dengan cara penambahan nitrogen berupa urea pada media pertumbuhan khamir. Pada penelitian ini, digunakan isolat khamir YIS-3, YIS-4, dan YIS-7 yang merupakan isolat terbaik hasil isolasi dari buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan nitrogen terhadap parameter pertumbuhan yang dilihat dari biomassa dan jumlah sel, serta parameter kualitas roti yang dilihat dari volume, rasa, warna, tekstur, dan aroma roti. Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental. Hasil penelitian parameter pertumbuhan menunjukkan bahwa pemberian urea konsentrasi 0,05% menghasilkan biomassa dan jumlah sel yang lebih tinggi. Biomassa tertinggi dihasilkan oleh YIS-7. Sedangkan jumlah sel tertinggi dihasilkan oleh YIS-3. Hasil persentase pengembangan menunjukkan bahwa semua isolat khamir perlakuan urea 0,05% membutuhkan waktu yang lebih lambat untuk mencapai pengembangan tertinggi. Akan tetapi hasil roti setelah dipanggang menunjukkan volume yang lebih baik. Persentase pengembangan adonan dan volume roti terbaik dihasilkan oleh YIS-3 perlakuan urea 0,05%. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa $P < 5\%$, artinya semua perlakuan memiliki pengaruh nyata terhadap atribut rasa, aroma, warna, dan tekstur roti. Hasil uji lanjut Mann Whitney menunjukkan bahwa panelis lebih menyukai semua atribut pada YIS-3 perlakuan urea 0,05%.

Kata kunci: *fermentasi, khamir endofit buah salak pondoh (Salacca edulis), kualitas roti, nitrogen, pertumbuhan*

**THE EFFECT OF ADDITIONAL NITROGEN SOURCES ON GROWTH
AND QUALITY OF FERMENTED BREAD ENDOPHYTIC YEAST FROM
SALAK PONDOH (*Salacca edulis* Reinw.)**

Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh, Ulfah Utami, Ahmad Barizi

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, The State Islamic
University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Yeast is a microorganism that has the ability to ferment, so that yeast is widely used in the industrial sector, one of which is yeast biomass as a bread dough developer. In order to maximize fermentation, a treatment aimed at optimizing yeast biomass is needed, namely by adding nitrogen in the form of urea to the yeast growth media. In this study, YIS-3, YIS-4, and YIS-7 yeast isolates were used which were the best isolates isolated from salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.). The purpose of this study was to determine the effect of nitrogen addition on growth parameters seen from the biomass and number of cells, as well as bread quality parameters in terms of volume, taste, color, texture, and aroma of bread. This study uses an experimental approach. The results of the research on growth parameters showed that the administration of urea with a concentration of 0.05% resulted in higher biomass and cell counts. The highest biomass was produced by YIS-7. While the highest number of cells was produced by YIS-3. The percentage of development results showed that all yeast isolates treated with 0.05% urea needed a slow time to reach the highest development. However, the bread yield after baking with 0.05% urea treatment showed a better volume. The best percentage of dough expansion and bread volume was produced by YIS-3 0.05% urea treatment. The results of the organoleptic test showed that $P < 5\%$, meaning that all treatments had a significant effect on the attributes of taste, aroma, color, and texture of bread. Mann Whitney further test results showed that the panelists preferred all attributes on YIS-3 0.05% urea treatment.

Keywords: *bread quality, endophytic yeast of salak pondoh fruit (salacca edulis reinw.), fermentation, growth, nitrogen*

تأثير زيادة مصادر النيتروجين على نمو وجودة الخبز المخمر من خمير إندوفيت سالاك بوندوه (*Salacca edulis* Reinw.)

نزول الفوريدة إمارة زهرة، أولفه أوتامي، أحمد بارزي

مستخلص البحث

خمير هو كائن جزئي لديه القدرة على التخمر، بحيث يستخدم الخمير كثيراً في القطاع الصناعي، واحد منهم هو الكتلة الحيوية للخمير كمطور عجينة الخبز. وجود الكتلة الحيوية هو مؤشر على النمو. لأجل استكمال التخمر، فهناك يحتاج إلى علاج يهدف إلى تحسين نمو الخميرة، أي عن طريق زيادة النيتروجين في شكل اليوريا إلى وسيلة نمو الخمير. في هذا البحث تستخدم عزل الخمير *YIS-3* و *YIS-4* و *YIS-7* والتي كانت أفضل العزلات المعزولة من فاكهة سالاك بوندوه. كان غرض من هذا البحث هو لمعرفة تأثير زيادة النيتروجين على موجه النمو الملحوظ من الكتلة الحيوية وعدد الخلايا، وكذلك معرفة موجه جودة الخبز من حيث الحجم والطعم واللون والملمس ورائحة الخبز. يستخدم هذا البحث مدخلا تجريبيا. تظهر نتائج البحث على موجه النمو أن إعطاء اليوريا بتركيز 0.05% يحصل على زيادة الكتلة الحيوية وعدد الخلايا. أعلى الكتلة الحيوية تحصل من *YIS-7*. أما أكبر عدد الخلايا تحصل من *YIS-3*. الكتلة الحيوية التي تعرف عدد الخلايا ثم تستخدم كوكالة مطور الخبز. تقاس زيادة حجم العجين كل 30 دقيقة لمدة 10 ساعات. تظهر نتائج مئوية التطوير أن جميع عزلات الخمير المعطاة بمعالجة اليوريا 0.05% تحتاج إلى وقت بطيء قليلاً للوصول إلى أعلى معدل النمو. ولكن تظهر نتائج الخبز بعد الشواء بمعالجة اليوريا 0.05% حجمًا أفضل. مئوية أفضل تطوير العجين وحجم الخبز تحصل من *YIS-3* معالجة اليوريا 0.05%. تظهر نتائج الاختبار الحسي أن $P > 5\%$ ، يعني أن جميع المعالجات لها تأثير معنوي على صفات الطعم والرائحة واللون وملمس الخبز. تظهر نتائج الاختبار الإضافي *Mann Whitney* أن أعضاء اللجنة فضلوا جميع الصفات في *YIS-3* معالجة اليوريا 0.05%.

الكلمات الرئيسية: التخمر، خمير إندوفيت سالاك بوندوه (*Salacca edulis* Reinw.)، جودة الخبز، النيتروجين، النمو.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan anugerah serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Penambahan Sumber Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil fermentasi dari Khamir Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.)”** sebagai salah satu persyaratan kelulusan di Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Shalawat serta salam tetap tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, yang telah membawa kita ke jalan terang benderang yaitu agama Islam.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak atas bantuannya dalam penyusunan skripsi ini. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri M.P., selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Dr. Ahmad Barizi, M.A., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
6. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si. selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
7. Ir. Liliek Harianie A.R, M.P. dan Dr. Nur Kusmiyati, M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
8. Irwahyudi dan Hidayatul Ilmi, selaku orang tua yang selalu memberikan dukungan baik berupa doa maupun materil.
9. Teman-teman Wolves Biologi 2017 yang selalu memberi semangat kepada penulis dalam menyelesaikan studi ini.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan. Penulis berharap kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri maupun bagi pembaca.

Malang, September 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Deskripsi Khamir	8
2.2 Pertumbuhan Khamir	12
2.3 Unsur Nitrogen	15
2.4 Fermentasi.....	20
2.5 Prinsip Pembuatan Roti.....	25
2.6 Karakteristik Roti.....	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	30
3.2 Variabel Penelitian	30
3.2.1 Variabel Bebas	30
3.2.2 Variabel Terikat	31
3.3 Waktu dan Tempat.....	31
3.4 Alat dan Bahan	31
3.4.1 Alat Penelitian.....	31
3.4.2 Bahan Penelitian.....	32
3.5 Prosedur Penelitian	32
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	32
3.5.2 Pembuatan Media.....	32
3.5.2.1 Media <i>Yeast Extract Malt Broth</i> (YMB).....	32
3.5.2.2 Media <i>Yeast Malt Extract Agar</i> (YMEA)	33
3.5.3 Peremajaan Isolat Khamir	34
3.5.4 Penambahan Sumber Nitrogen	34
3.5.5 Pertumbuhan Khamir	34
3.5.5.1 Penentuan Biomassa Sel	34

	3.5.5.2 Penentuan Jumlah Sel.....	35
	3.5.6 Pembuatan Adonan Roti.....	36
	3.5.7 Pengujian Kualitas Roti.....	37
	3.5.7.1 Pengukuran Volume Adonan.....	37
	3.5.7.2 Aroma, Rasa, Warna, dan Tekstur Roti.....	38
	3.6 Analisis Data	38
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
	4.1 Pengaruh Penambahan Senyawa Urea terhadap Pertumbuhan Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw.)...	39
	4.2 Kualitas Roti Hasil Fermentasi Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw.).....	50
	4.2.1 Volume.....	52
	4.2.2 Organoleptik Roti.....	63
BAB V	PENUTUP	73
	5.1 Kesimpulan.....	73
	5.2 Saran.....	73
	DAFTAR PUSTAKA.....	75
	LAMPIRAN.....	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Macam-Macam Bentuk Sel Khamir	10
Gambar 2.2. Bagian-bagian alat Haemocytometer.....	13
Gambar 2.3. Kotak pada Haemocytometer	14
Gambar 2.4. Struktur Kimia 2D Urea	18
Gambar 2.5. Gambaran metabolisme nitrogen pusat (NCM)	19
Gambar 2.6. Gambaran represi katabolit nitrogen (NCR)	20
Gambar 2.7. Mekanisme Fermentasi Alkohol Melalui Jalur <i>Embden-Meyerhof-Parnas</i> (EMP)	23
 Gambar 3.1. Pola perhitungan metode <i>counting chamber</i>	 36
 Gambar 4.1. Biomassa yang diperoleh dari masing-masing perlakuan ...	 42
Gambar 4.2. Pengamatan sel khamir dengan pewarnaan <i>methylene blue</i> perbesaran 400x	45
Gambar 4.3. Jumlah sel pada masing-masing perlakuan	46
Gambar 4.4. Persentase pengembangan volume roti pada masing-masing perlakuan.....	53
Gambar 4.5. Volume roti setelah dipanggang pada semua perlakuan	60

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Desain Penelitian	30
Tabel 4.1. Hasil uji lanjut Mann-Whitney parameter warna	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Biomassa dari semua perlakuan.....	84
Lampiran 2. Gambar perolehan biomassa dari setiap perlakuan	86
Lampiran 3. Jumlah sel khamir dari masing-masing perlakuan.....	87
Lampiran 4. Pengembangan volume adonan roti pada semua perlakuan	91
Lampiran 5. Perhitungan volume adonan pada masing-masing perlakuan tiap 30 menit selama 10 jam.....	97
Lampiran 6. Volume roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan	99
Lampiran 7. Persentase pengembangan adonan pada semua perlakuan setiap 30 menit selama 10 jam	100
Lampiran 8. Warna permukaan roti setelah dipanggang pada masing- masing perlakuan.....	102
Lampiran 9. Tekstur roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan	103
Lampiran 10. Hasil uji Kruskal-Wallis.....	104
Lampiran 11. Hasil uji lanjut Mann-Whitney	105
Lampiran 12. Bukti Konsultasi Pembimbing 1	106
Lampiran 13. Bukti Konsultasi Pembimbing 2	107

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik bersel satu yang memiliki kemampuan fermentasi, sehingga khamir banyak dimanfaatkan dalam bidang industri. Menurut Sabahannur *et al.*, (2019), fermentasi adalah proses perubahan kimia pada substrat organik yang melibatkan mikroorganisme dengan bantuan aktivitas enzim. Allah berfirman dalam surah Al-Baqarah ayat 26, yang berbunyi:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka. Dan adapun mereka yang kafir mengatakan: ‘Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?’ dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.” (QS. Al-Baqarah [2]: 26).

Abdullah bin Muhammad Alu Syaikh dalam tafsirnya kitab tafsir Ibnu Katsir (2011), pada penggalan ayat فَمَا فَوْقَهَا (yang lebih rendah dari itu), terdapat dua pendapat. Pendapat pertama, memiliki arti “yang lebih kecil”. Pendapat kedua memiliki arti “yang lebih besar darinya” karena tidak ada yang lebih hina dan kecil dari pada perumpamaan nyamuk. Kedua pendapat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT kuasa untuk menciptakan segala sesuatu, baik dengan ukuran yang besar ataupun yang kecil. Allah SWT tidak pernah menganggap remeh atas segala sesuatu yang telah Dia ciptakan meskipun hal itu kecil bahkan tak terlihat dengan mata telanjang. Hanya orang-orang beriman yang mempercayai dan meyakini

bahwa setiap apapun yang di ciptakan oleh Allah SWT memiliki manfaat bagi kehidupan manusia (Al-Mubarak, 2006). Sebagaimana Allah SWT menciptakan mikroorganisme, meskipun ukurannya sangat kecil akan tetapi keberadaannya membawa manfaat yang besar bagi kehidupan manusia. Salah satunya yaitu khamir yang berperan dalam industri fermentasi sehingga banyak dimanfaatkan oleh manusia.

Industri modern seperti saat ini membutuhkan khamir untuk dapat memproduksi biomassa dalam jumlah besar yang digunakan untuk menghasilkan produk berkualitas tinggi dan untuk menjamin fermentasi yang cepat. Sekitar 0,4 juta ton biomassa dihasilkan setiap tahun di seluruh dunia. Proses skala pabrik yang menguntungkan dan efisien telah dioptimalkan untuk menghasilkan biomassa khamir. Pertama, prosesnya secara empiris dioptimalkan untuk mendapatkan hasil atau produk tertinggi dengan menurunkan biaya dan meningkatkan produksi biomassa (Perez *et al.*, 2015). Salah satu produk yang melibatkan biomassa khamir yaitu roti.

Menurut Halász & Lásztity, (2017), didalam biomassa terkandung organel-organel sel khamir dan juga hasil metabolisme khamir yang nantinya berperan dalam proses fermentasi. Ouedraogo *et al.*, (2017) menyatakan bahwa biomassa merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan pada sel mikroorganisme. Oleh karena itu, untuk memaksimalkan proses fermentasi adonan roti maka dibutuhkan suatu perlakuan yang bertujuan untuk mengoptimalkan pertumbuhan khamir. Hal tersebut dapat dilakukan dengan penambahan nutrisi pada media pertumbuhan khamir (Ouedraogo *et al.*, 2017).

Ada beberapa unsur makronutrien yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme, seperti C, H, O, dan N. Media pertumbuhan yang digunakan yaitu media YPG (*yeast extraxt, peptone, glucose*). Pada media tersebut terdapat kandungan nitrogen berupa pepton. Akan tetapi menurut Zohri *et al.*, (2017), sel khamir tersusun sekitar 50% dari senyawa nitrogen, sehingga sintesis biomassa khamir tergantung pada kandungan nitrogen di media pertumbuhan. Apabila dalam media pertumbuhan kandungan nitrogennya terbatas, maka dapat menghambat pertumbuhan khamir (Broach, 2012). Salah satu jenis sumber nitrogen yang dimanfaatkan dalam bidang industri dan yang dapat mendukung pertumbuhan khamir yaitu urea (Cueto-Rojas *et al.*, 2017). Menurut Putri *et al.*, (2016), urea merupakan senyawa anorganik yang mengandung nitrogen sebesar 46%. Penambahan urea sebagai sumber nitrogen dapat meningkatkan kinerja dari khamir dan dapat membantu biosintesis membran sel. Urea yang digunakan merupakan jenis urea *food grade*, artinya urea yang aman jika ditambahkan dalam makanan.

Pada penelitian ini digunakan urea dengan konsentrasi 0,05%. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Nwokoro *et al.*, (2010) penambahan urea pada media pertumbuhan khamir *Candida utilis* dengan konsentrasi 0,05 mampu memberikan hasil biomassa yang paling baik diantara konsentrasi yang lainnya (0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,10; 0,20; 0,30). Biomassa yang didapatkan sebanyak 45 mg/10 ml. Penggunaan urea sebagai nutrisi tambahan pada khamir harus dalam konsentrasi yang cukup. Apabila konsentrasi yang diberikan terlalu berlebihan maka akan menjadi racun bagi khamir dan dapat menghambat pertumbuhan khamir. Murad *et al.*, (2019), dalam penelitiannya digunakan beberapa jenis sumber nitrogen untuk memproduksi biomassa pada khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil yang

didapatkan, penambahan sumber nitrogen berupa urea mampu menghasilkan biomassa sebesar 8,25 g/L.

Khamir yang digunakan pada penelitian ini merupakan khamir yang berhasil diisolasi dari buah salah pondoh dengan kode isolat YIS-3, YIS-4, dan YIS-7. Hal tersebut dikarenakan ketiga isolat itu telah memenuhi kriteria sebagai khamir pengembang adonan roti, diantaranya yaitu mampu memfermentasi semua jenis gula kecuali laktosa, memiliki toleransi terhadap etanol hingga 15%, mampu tumbuh pada suhu 30-37⁰C, serta memiliki kemampuan flokulasi yang cukup baik. Selain itu, setelah diaplikasikan sebagai pengembang roti, volume yang dihasilkan lebih baik dari pada ragi komersial akan tetapi membutuhkan waktu fermentasi selama 12 jam (Sari, 2020).

Indikator pertumbuhan sel khamir dapat diketahui dengan pengukuran jumlah sel hidup pada biomassa yang telah didapatkan sebelumnya. Hal tersebut dikarenakan sebelum diaplikasikan sebagai agen pengembang roti, harus dipastikan bahwa sel-sel khamir dalam keadaan hidup dan dalam jumlah yang sesuai sehingga dapat melangsungkan proses fermentasi. Menurut Suyadi *et al.*, (2012) jumlah sel khamir yang melangsungkan proses fermentasi alkohol pada makanan berkisar antara 10⁵-10⁶ sel/g. Ada beberapa metode yang dapat dilakukan untuk mengetahui jumlah sel hidup, baik metode secara langsung maupun metode tidak langsung (Rosmania & Yanti, 2020). Pada penelitian ini perhitungan sel hidup dilakukan secara langsung metode *counting chamber* menggunakan *Haemocytometer* (Restuhadi *et al.*, 2017).

Biomassa khamir yang telah dilakukan perhitungan jumlah sel hidup, dapat diaplikasikan pada adonan roti untuk melangsungkan proses fermentasi (Karki *et*

al., 2017). Fermentasi yang terjadi pada adonan roti merupakan jenis fermentasi alkohol (Nisaa, 2020). Produk yang dihasilkan berupa alkohol dan gas CO₂. Gas CO₂ yang terbentuk akan menyebabkan peningkatan volume pada adonan dan juga dapat mempengaruhi tekstur roti setelah dipanggang. Sedangkan alkohol berperan dalam terbentuknya aroma, warna dan cita rasa pada roti (Shabrina, 2017). Dengan demikian, untuk mengetahui keberhasilan proses fermentasi maka dapat dinilai dari kualitas roti yang meliputi volume, tekstur, warna, aroma dan rasa.

Penelitian penambahan urea sebagai sumber nitrogen dalam meningkatkan pertumbuhan beberapa isolat khamir yang diaplikasikan pada adonan roti, belum pernah dilakukan di Indonesia. Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini perlu dilakukan dan diharapkan dari penelitian ini mampu memberikan hasil yang diharapkan, yaitu didapatkan biomassa dengan jumlah sel hidup yang sesuai sehingga khamir dapat melakukan proses fermentasi adonan roti dengan maksimal dan mampu meningkatkan kualitas roti.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana pengaruh penambahan unsur nitrogen terhadap pertumbuhan khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)?
2. Bagaimana kualitas roti hasil fermentasi khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui pengaruh penambahan unsur nitrogen terhadap pertumbuhan khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)
2. Mengetahui kualitas roti hasil fermentasi khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat menambah informasi dibidang industri fermentasi terkait penambahan unsur nitrogen dalam meningkatkan pertumbuhan khamir endofit
2. Penelitian yang dilakukan dapat menambah informasi terkait perbaikan kualitas roti yang ditambahkan dengan unsur nitrogen
3. Penelitian yang telah dilakukan diharapkan mampu diterapkan dalam bidang industri terutama dibidang industri makanan yang memanfaatkan khamir.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Isolat khamir yang digunakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang diberi kode YIS-3, YIS-4, dan YIS-7
2. Unsur nitrogen yang digunakan adalah senyawa urea food grade yang didapatkan di Laboratorium Produksi Universitas Muhammadiyah Malang.
3. Konsentrasi yang digunakan adalah 0%, dan 0,05%
4. Parameter yang diamati meliputi pertumbuhan sel khamir dan kualitas roti

5. Pertumbuhan khamir diketahui dari pengukuran biomassa dan pengukuran jumlah sel hidup metode *counting chamber*
6. Kualitas roti dinilai dari pengukuran volume adonan, rasa, aroma, tekstur, dan warna roti yang telah dipanggang
7. Media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA) digunakan sebagai media peremajaan isolat khamir
8. Media *Yeast Malt Extract Broth* (YMB) digunakan sebagai media perbanyakan khamir sebelum diberi perlakuan dengan penambahan unsur nitrogen
9. Media *Yeast Peptone Glucose* (YPG) digunakan sebagai media perlakuan dengan penambahan unsur nitrogen
10. Kontrol positif yang digunakan untuk pengembang roti adalah ragi komersial merk *Fermipan*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik, tidak memiliki filamen dan juga bersel satu (Wahyuni, 2020). Allah berfirman dalam surah Al-Zalzalah ayat 8, yang berbunyi:

وَمَنْ يَعْمَلْ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ شَرًّا يَرَهُ

Artinya: “Siapa yang mengerjakan kejahatan seberat zarah, dia akan melihat (balasan)-nya.” (QS. Al-Zalzalah [99]:8).

M.Quraish Shihab dalam tafsirnya kitab tafsir Al-Misbah (2002), menjelaskan bahwa kata ذَرَّةٍ (*dzarrah*) ada yang memahaminya dalam arti semut yang kecil pada awal kehidupannya, atau kepala semut. Ada juga yang menyatakan dia adalah debu yang terlihat beterbangan di celah cahaya matahari yang masuk melalui lubang atau jendela. Sebenarnya kata ini digunakan untuk menggambarkan sesuatu yang terkecil. Termasuk salah satu diantaranya khamir. Menurut Hadi & Alamudi (2019), khamir memiliki ukuran yang sangat kecil dan bervariasi. Panjang khamir berkisar antara 5-30 μm atau lebih. Sedangkan lebarnya berkisar antara 1-5 μm . Sehingga untuk mengetahui keberadaannya dibutuhkan bantuan mikroskop. Khamir juga memiliki bentuk yang bermacam-macam, yaitu bulat, oval, silinder atau batang, segitiga melengkung, berbentuk botol, bentuk apikulat atau lemon, dan membentuk pseudomiselium (Periadi et al., 2018). Allah berfirman dalam surah An-Nahl ayat 13, yang berbunyi:

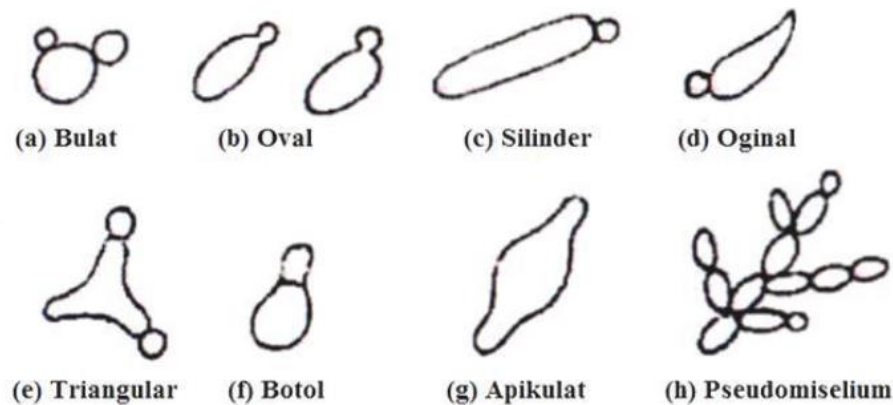
وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذْكُرُونَ

Artinya: “Dan Dia (menunjukkan pula) apa yang Dia ciptakan untukmu di bumi ini dengan berlain-lain macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-

benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran” (QS. An-Nahl [16]:13).

Abdullah bin Muhammad Alu Syaikh dalam tafsirnya kitab tafsir Ibnu Katsir (2011), penggalan ayat وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ditafsirkan bahwa ketika Allah Ta’ala telah mengingatkan atas tanda-tanda yang ada di langit, Allah juga mengingatkan atas apa yang Allah ciptakan di bumi, berupa benda-benda yang menakjubkan baik benda yang mati maupun benda yang hidup, dengan berbagai macam warna dan bentuk termasuk kegunaan dan keistimewaan. Salah satu contohnya Allah menciptakan mikroorganisme dengan bentuk dan ukuran yang bermacam-macam. Tiap-tiap mikroorganisme tersebut memiliki keistimewaan tersendiri seperti halnya khamir yang memiliki kemampuan fermentasi. Sedangkan berdasarkan tafsir Kemenag (2019) pada akhir surah An-Nahl ayat 13 dijelaskan bahwa Allah telah memberikan nikmat-nikmat yang beraneka ragam yang didalamnya terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang mengambil pelajaran, yaitu orang-orang yang memahami, mensyukuri, dan memanfaatkan atas segala nikmat Allah sesuai dengan apa yang mereka perlukan menurut keridaan Allah.

Menurut Kanti & Latupapua (2018), khamir memiliki beberapa tipe reproduksi aseksual diantaranya yaitu dengan pertunasan (*budding*), pembelahan (*fission*), atau produksi konidia pada tangkai pendek (*sterigmata*). Pembelahan sel (*fission*) merupakan karakteristik khamir dari genus *Schizosaccharomyces*. Sebagian besar khamir Ascomycota melakukan pembelahan seksual dengan membentuk ascopore.



Gambar 2.1. Macam-Macam Bentuk Sel Khamir (Hadi dan Alamudi, 2019)

Berdasarkan sifat metabolismenya, khamir dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu pertama khamir yang bersifat fermentatif. Khamir fermentatif merupakan jenis khamir yang memiliki kemampuan fermentasi alkohol dengan cara memecah makromolekul berupa karbohidrat menjadi gas CO_2 dan alkohol. Beberapa khamir yang tergolong dalam khamir fermentatif antara lain *Saccharomyces*, *Candida*, *Brettanomyces* dan *Zygosaccharomyces*. Sedangkan yang kedua, khamir yang bersifat oksidatif. Khamir oksidatif merupakan khamir yang dapat menghasilkan CO_2 dan air. Khamir *Rhodotorula* merupakan jenis khamir oksidatif (Muhibuddin *et al.*, 2016). Ouedraogo *et al.*, (2017), juga menyatakan bahwa khamir dari genera *Candida*, *Saccharomyces*, *Torulopsis* dan *Lipomyces* mampu mentransfer sumber karbon dari karbohidrat ke lipid, sedangkan protoplasma mengandung gliserida, fosfolipid dan ergosterol dalam jumlah besar.

Habitat khamir sangat luas. Khamir dapat ditemukan di udara, lingkungan akuatik, maupun lingkungan terrestrial (Akbar *et al.*, 2019). Khamir endofit adalah khamir yang dapat menjajah jaringan tumbuhan yang sehat tanpa menyebabkan kerusakan pada tumbuhan inangnya (Khunnamwong *et al.*, 2018). Khamir endofit memiliki berbagai peran penting dalam kehidupan manusia, salah satunya pada

bidang industri, terutama industri fermentasi makanan ataupun minuman. Produk yang dihasilkan dari proses fermentasi tersebut memiliki potensi besar untuk perkembangan bioteknologi (Suryaningsih *et al.*, 2018).

Menurut Ramirez-Castrillon *et al.*, (2019) lingkungan yang paling ideal untuk pertumbuhan sel khamir yaitu pada buah-buahan. Hal tersebut dikarenakan pada buah-buahan memiliki kandungan air dan karbohidrat yang cukup tinggi. Tsegay (2016), juga menyatakan bahwa khamir dapat diisolasi dari daun, bunga, dan buah. Khamir merupakan mikroorganisme yang menyukai habitat dengan kandungan gula tinggi. Salah satu habitat yang memiliki kandungan gula tinggi yaitu pada buah salak. Menurut Saleh *et al.*, (2018), buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.) mengandung total gula sebanyak 17.4 g/100 g dengan rincian glukosa (7.6 g/100 g), sukrosa (5.9 g/100 g), dan fruktosa (3.9 g/100 g). Sehingga, buah salak pondoh berpotensi sebagai habitat bagi khamir endofit.

Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Sari (2020), bahwasannya ditemukan 7 isolat khamir pada buah salak pondoh. Ketujuh isolat tersebut memiliki kemiripan dengan sub kelas *Hemiascomycetes* dalam kelas *Ascomycetes*. Jacques & Casaregola (2016) menyatakan bahwa khamir *Hemiascomycetes* merupakan kelompok jamur uniseluler yang sering dimanfaatkan dalam industri pengolahan makanan dan minuman. Isolat YIS-1 dan YIS-7 diduga khamir dari genus *Pichia*, isolat YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5 diduga khamir dari genus *Saccharomyces*, dan isolat YIS-6 diduga khamir dari genus *Candida*.

Menurut Pratiwi & Akhdiya (2020), menyatakan bahwa khamir dari genus *Pichia* memiliki morfologi bentuk sel bulat, elips atau memanjang, sebagian besar membentuk pseudohifa akan tetapi jarang membentuk hifa sejati. Reproduksi

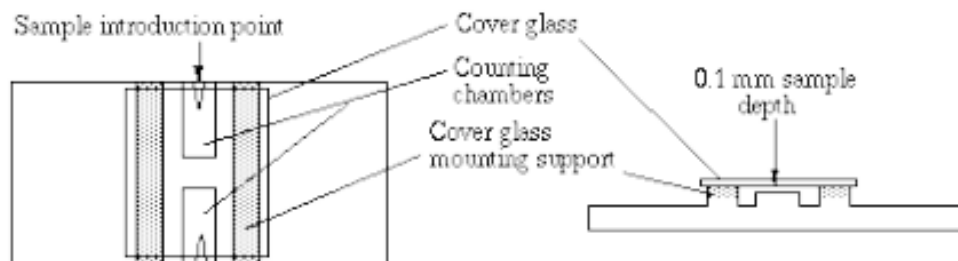
seksual dengan askospora, sedangkan reproduksi seksual dengan pertunasan multilateral. Menurut Nurcholis *et al.*, (2020), khamir dari genus *Candida* memiliki koloni yang berwarna putih sampai krem dan memiliki pertunasan, membentuk pseudohifa maupun hifa sejati. Khamir dari genus *Candida* memiliki biodiversitas yang tinggi. Sedangkan khamir dari genus *Saccharomyces* memiliki karakteristik reproduksi vegetatif dengan pertunasan multilateral, bentuk sel elips atau silindris, bulat atau oval. Genus *Saccharomyces* mampu melakukan fermentasi aerob ataupun anaerob.

2.2 Pertumbuhan Khamir

Pertumbuhan mikroorganisme didefinisikan sebagai peningkatan konstituen seluler dan dapat mengakibatkan peningkatan ukuran mikroorganisme, jumlah populasi atau keduanya. Pertumbuhan menyebabkan peningkatan jumlah sel (Saxena & Awasthi, 2003). Menurut Pelczar & Chan (2005), istilah pertumbuhan kelompok mikroorganisme dinyatakan sebagai pertambahan jumlah sel atau massa menjadi lebih besar dari yang terkandung dalam inokulum awal. Untuk mengukur pertumbuhan sel maka dilakukan perhitungan secara kuantitatif dengan cara menghitung jumlah atau berat sel selama pertumbuhan berlangsung (Mahreni & Sri, 2011). Ada beberapa metode untuk menghitung jumlah sel mikroorganisme, yaitu metode langsung dan metode tidak langsung (Rosmania & Yanti, 2020).

Menurut Alfiyanti & Putri (2020), analisis secara langsung dapat dilakukan dengan metode kamar hitung (*counting chamber*). *Counting chamber* adalah suatu metode perhitungan sel individu yang terdapat pada suatu alat *Haemocytometer* yang kemudian dikalikan faktor pengencer pada suspensi mikroorganisme dan

dikalikan juga dengan volume petak pada alat tersebut sehingga dapat diketahui jumlah mikroorganisme tiap mililiter (Prasetya, 2019). Menurut Wijaya *et al.*, (2015), sel mikroorganisme yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung tersebut sehingga jumlah mikroorganisme per satuan volume dapat diketahui.



Gambar 2.2. Bagian-bagian alat Haemocytometer (Prasetya, 2019)

Menurut Barbedo (2013), *Heemocytometer Neubauer* memiliki kisi-kisi garis vertikal dan horizontal yang persilangannya menghasilkan jumlah persegi dan persegi panjang yang digunakan sebagai acuan untuk proses penghitungan. Tidak semua daerah digunakan dalam perhitungan sel. Akan tetapi secara umum strategi yang digunakan yaitu menghitung sel yang menyentuh batas atas dan kiri dari kotak serta mengabaikan sel yang menyentuh batas bawah dan kanan pada kotak perhitungan. Mahardika *et al.*, (2018), juga menyatakan bahwa metode *counting chamber* atau yang dikenal dengan istilah metode kamar hitung dengan alat *Heemocytometer Neubauer* terdiri dari 9 kotak besar masing-masing memiliki luas sebesar 1 mm^2 , sehingga keseluruhan luas dari kamar hitung ini 9 mm^2 . Satu kotak besar di tengah dibagi lagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang 0,2 mm. Di dalam kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil dengan panjang 0,1 mm. Dengan demikian, dalam satu kotak besar terdapat 400 kotak kecil. Adapun tebal dari kamar hitung ini yaitu 0,1 mm.

Mahreni & Sri (2011) biomassa khamir dapat diketahui dari berat sel. Artinya berat sel tidak selalu disamakan dengan jumlah sel. Hal tersebut dikarenakan berat sel bertambah dengan memperbesar kantung penampung hasil metabolismenya seperti *glycogen* dan *poly-beta-hydroxybutirate*. Menurut Halász & Lásztity (2017) biomassa merupakan seluruh bagian dari sel khamir termasuk didalamnya organel-organel dari sel khamir. Sehingga dalam biomassa sel khamir diperkirakan mengandung lipid 3,1-5,3%, total N 9,1-1,1%, total karbohidrat 4,0-6,0%, total fosfor $1,21 \pm 0,07\%$, dan sterols $6,0 \pm 0,5$.

Menurut Rabbani (2014), biomassa sel dapat diketahui dari pengukuran berat kering ataupun berat basah sel. Menurut Ouedraogo *et al.*, (2017), biomassa sel ragi dapat ditentukan dengan cara memanen sel ragi pada umur 48-72 jam yang selanjutnya dilakukan pemisahan antara sel dengan media pertumbuhannya menggunakan sentrifuge. Sel tersebut kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik sebagai berat basah. Menurut Karki *et al.*, (2017), dalam pembuatan roti biomassa khamir diperoleh dengan melibatkan proses flokulasi. Flokulasi merupakan suatu kemampuan khamir dalam memisahkan sel-selnya dengan media pertumbuhan, sehingga terbentuk endapan atau yang bisa disebut biomassa. Maryam *et al.*, (2017), juga menyatakan bahwa, adanya sifat flokulasi pada spesies khamir manandakan tingginya kepadatan sel serta besarnya volume sel sehingga mampu meningkatkan proses fermentasi.

2.3 Unsur Nitrogen

Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu diantaranya yaitu formulasi media. Media pertumbuhan

harus menyediakan nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme. Secara umum nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme dikelompokkan menjadi 2 yaitu, nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah besar atau yang disebut makronutrien dan nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit atau mikronutrien (Wachid & Mutia, 2019). Menurut Fitria & Zulaika (2019), unsur Karbon (C), oksigen (O), nitrogen (N) dan hidrogen (H) termasuk dalam makromolekul atau komponen utama sebagai pembentuk material pada sel mikroorganisme. Makronutrien lainnya meliputi fosfat (P), sulfur (S), kalium (K), magnesium (Mg), kalsium (Ca) dan natrium (Na). Sedangkan mikronutrien meliputi besi (Fe) dan trace element metal (Mn, Co, Ni, Cu dan Zn).

Menurut Sunaryanto & Handayani (2015), diantara jenis makronutrien yang lainnya, nitrogen adalah salah satu unsur yang memegang peran utama didalam sel mikroorganisme karena dapat mempengaruhi penyusunan struktur sel dan fungsinya. Hidayat *et al.*, (2018) juga menyatakan bahwa nitrogen dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk membentuk asam amino. Dua asam amino akan membentuk suatu ikatan peptide dengan membebaskan satu molekul air. Peptide-peptide ini dapat bergabung satu sama lain membentuk protein sehingga protein sering disebut dengan polipeptida. Nitrogen juga dibutuhkan untuk pembentukan basa purin dan pirimidin. Zohri *et al.* (2017), juga menyatakan bahwa sel ragi tersusun sekitar 50% dari senyawa nitrogen, sehingga sintesis biomassa ragi tergantung pada kandungan nitrogen di media pertumbuhan.

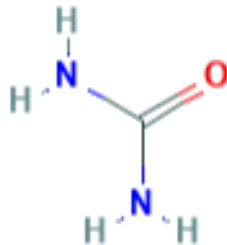
Menurut Broach (2012), sel khamir mengenali sifat dan ketersediaan senyawa nitrogen dan secara aktif menyesuaikan kemampuan transkripsi, metabolisme, dan biosintesisnya agar sesuai dengan senyawa nitrogen tersebut.

Ketika kekurangan nitrogen, sel memperlambat pertumbuhannya, terutama melalui pengurangan biogenesis dan translasi ribosom, menghasilkan perluasan fase G1 dari siklus sel. Dalam kasus kehabisan nitrogen, sel-sel berhenti tumbuh, bahkan ketika nutrisi lain tersedia secara berlebihan. Dengan begitu terlihat jelas bahwa senyawa yang mengandung nitrogen memiliki peran yang sangat penting dalam mendukung pertumbuhan khamir.

Untuk melangsungkan pertumbuhannya, khamir dapat menggunakan berbagai macam sumber N, seperti amonium (NH_4), urea, citrulin, ornitin, gamma aminobutyric acid (GABA), allatoin, allantate dan semua asam amino L-proteinogenik, kecuali L-lysine, L-histidine dan L-cysteine. Oleh karena itu, khamir membutuhkan mekanisme yang kompleks dalam metabolisme senyawa N untuk dapat mendukung pertumbuhannya dengan baik. Salah satu jenis sumber nitrogen yang dimanfaatkan dalam bidang industri dan yang dapat mendukung pertumbuhan khamir yaitu urea. Hal tersebut dikarenakan harganya yang murah dan juga sifatnya yang aman jika digunakan sebagai bahan tambahan di bidang industri (Cueto-Rojas *et al.*, 2017).

Sel khamir dapat mengangkut urea ke ruang intraseluler secara difusi apabila kadar urea lebih dari 0,5 mmol/liter. Akan tetapi jika kadar urea lebih rendah dari itu, di ruang intraseluler urea akan dimetabolisme melalui *ATP-dependent urea amidolyase* yang menghasilkan dua molekul ammonia dan satu molekul CO_2 dengan menghidrolisis satu molekul ATP (Cueto-Rojas *et al.*, 2017). Menurut Putri *et al.*, (2016) penambahan urea sebagai sumber nitrogen dapat meningkatkan kinerja dari khamir dan dapat membantu biosintesis membran sel. Menurut *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA), urea

adalah gugus karbonil dengan dua gugus amina terikat-C. Urea dapat digunakan sebagai nutrisi tambahan pada khamir. Apabila ammonia terbentuk, maka akan meningkatkan laju glikolisis anaerob sehingga akan mempengaruhi proses fermentasi.

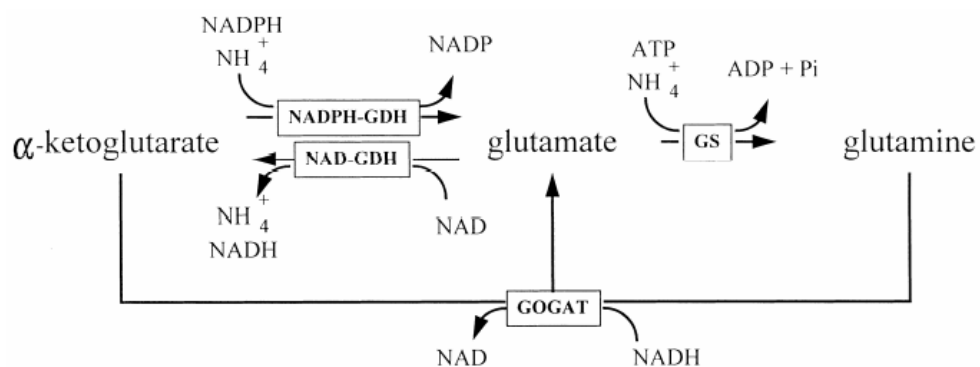


Gambar 2.4. Struktur Kimia 2D Urea (PubMed, 2021)

Khamir dihabitat aslinya akan menemukan berbagai macam sumber nitrogen. Namun, tidak semua sumber nitrogen mendukung pertumbuhan yang baik. Pertumbuhan pada sumber nitrogen yang baik menghasilkan tingkat pertumbuhan yang relatif lebih tinggi dari pada sumber nitrogen yang buruk (ter Schure *et al.*, 2000). Terlepas dari sumbernya, untuk memanfaatkan molekul sebagai sumber nitrogen, maka sel khamir harus mengubahnya di dalam sel menjadi dua bentuk, yaitu glutamat dan glutamin (Vidal, 2011). Kedua asam amino ini berfungsi sebagai donor nitrogen untuk semua senyawa yang mengandung nitrogen di dalam sel. Baik glutamat dan glutamin dapat disintesis secara langsung menggunakan amonium sebagai donor gugus amino. *Glutamat Dehydrogenase* (NADPH-GDH) yang bergantung pada NADPH mengubah amonium dan α -ketoglutarat menjadi glutamat sedangkan *Glutamin Sintetase* (GS) menghasilkan glutamin dari amonium dan glutamat. Oleh karena itu semua sumber nitrogen terdegradasi untuk akhirnya menghasilkan amonium atau glutamat, proses yang

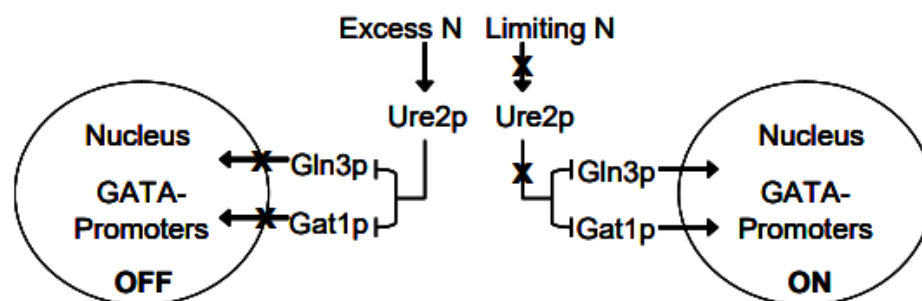
terakhir ini juga diubah menjadi amonium dan α -ketoglutarat oleh NAD dependent glutamate dehydrogenase (NADGDH) (ter Schure *et al.*, 2000).

Glutamat dan glutamin dapat digunakan sebagai sumber nitrogen sendiri. Selama pertumbuhan glutamat, GS memproduksi glutamin menggunakan amonium yang dihasilkan oleh NADGDH. Ketika glutamin adalah satu-satunya sumber nitrogen untuk pertumbuhan, glutamat diproduksi oleh sintase glutamat (GOGAT) atau melalui NADPH-GDH, dalam kasus sebelumnya amonium diproduksi oleh glutaminase yang menurunkan glutamin menjadi glutamat dan ammonium. Glutamat bersama dengan glutamin memainkan peran penting dalam metabolisme nitrogen, oleh karena itu interkonversi amonium, glutamat dan glutamin disebut sebagai metabolisme nitrogen pusat (CNM). Gambaran metabolisme nitrogen pusat disajikan pada Gambar 2.5. Seperti yang dinyatakan di atas, tidak semua sumber nitrogen mendukung pertumbuhan yang sama baiknya. Karena itu *Saccharomyces cerevisiae* memilih sumber nitrogen yang memungkinkan pertumbuhan terbaik melalui mekanisme yang disebut represi katabolit nitrogen (NCR). Dua sumber nitrogen yang menimbulkan represi katabolit nitrogen (NCR), amonia dan glutamin, juga ditemukan di CNM (ter Schure *et al.*, 2000).



Gambar 2.5. Gambaran metabolisme nitrogen pusat (NCM) (ter Schure *et al.*, 2000)

Aktivator transkripsi family GATA, Gln3p dan Gat1p, terlibat dalam kontrol NCR (Gambar 2.6). Ketika media kaya nitrogen, Gln3p dan Gat1p mengikat Ure2p, kompleksnya terlokalisasi di sitoplasma dan ekspresi gen sensitif NCR menurun. Ketika nitrogen rendah, Gln3p dan Gat1p terdefosforilasi dan dilepaskan oleh Ure2p, menyebabkan aktivator memasuki nukleus dan meningkatkan ekspresi gen sensitif NCR. Sepasang gen lain, Dal80p dan Deh1p, bekerja secara negatif pada transkripsi yang bergantung pada Gln3p dan Gat1p, dan secara keseluruhan keempat gen ini tidak hanya mengatur ekspresi asam amino, tetapi juga ekspresi protease yang mendegradasi protein intraseluler untuk metabolisme nitrogen. Temuan yang lebih baru menunjukkan Ure2p sebagai sensor untuk penurunan glutamin intraseluler (Vidal, 2011).



Gambar 2.6. Gambaran represi katabolit nitrogen (NCR) (Vidal, 2011)

2.4 Fermentasi

Fermentasi umum diartikan sebagai suatu proses konversi gula menjadi suatu produk yang berguna, seperti asam organik atau alkohol yang melibatkan mikroorganisme. Proses fermentasi telah lama dikenal manusia untuk mengawetkan dan meningkatkan cita rasa makanan. Pengertian fermentasi di dalam dunia biokimia merupakan perombakan senyawa organik yang menghasilkan energi. Sedangkan dalam industri mikrobiologi, istilah fermentasi lebih mengacu

pada proses pertumbuhan sel dengan kuantitas yang besar, baik pada kondisi aerobik maupun anaerobik. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi dapat berupa bakteri, kapang maupun khamir. Khamir adalah kelompok mikroorganisme yang paling penting dan paling banyak dieksploitasi untuk tujuan komersial (Nurhadianty *et al.*, 2018).

Proses fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya yaitu (Azizah, 2012):

1. pH

Pengukuran pH merupakan parameter yang mempengaruhi pertumbuhan dan pembentukan produk. Mikroba tertentu dapat tumbuh pada kisaran pH yang sesuai untuk pertumbuhannya. Sebagian besar organisme dapat berfungsi dengan baik dengan selang pH antara 3-4. Biasanya bakteri dapat tumbuh pada pH 4-8, khamir biasanya lebih senang dalam pH 3-6 dan kapang 3-7.

2. Suhu

Suhu yang baik untuk fermentasi berkisar antara 31 °C hingga 33 °C karena kecepatan fermentasi akan bertambah sesuai dengan kenaikan suhu hingga suhu optimum. Khamir, umumnya dari genus *Saccharomyces* tumbuh optimum pada suhu 25 °C-30 °C dan maksimum pada suhu 35 °C-47 °C, hal ini tergantung pada media nutrisi yang digunakan (Anggorowati *et al.*, 2015).

3. Oksigen

Pengaturan udara akan mempengaruhi populasi mikroorganisme. Tersedianya oksigen dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Jamur bersifat aerobik (memerlukan oksigen) dalam pertumbuhannya. Menurut Anggorowati *et al.*, (2015), khamir dari genus *Saccharomyces* merupakan

mikroorganisme yang bersifat fakultatif, yang artinya mikroorganisme tersebut memiliki 2 mekanisme dalam mendapatkan energi. Jika terdapat oksigen, maka energi diperoleh dari respirasi aerob. Sedangkan jika tidak terdapat oksigen, maka energi diperoleh dari respirasi anaerob. Energi yang diperoleh dari respirasi aerob digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel.

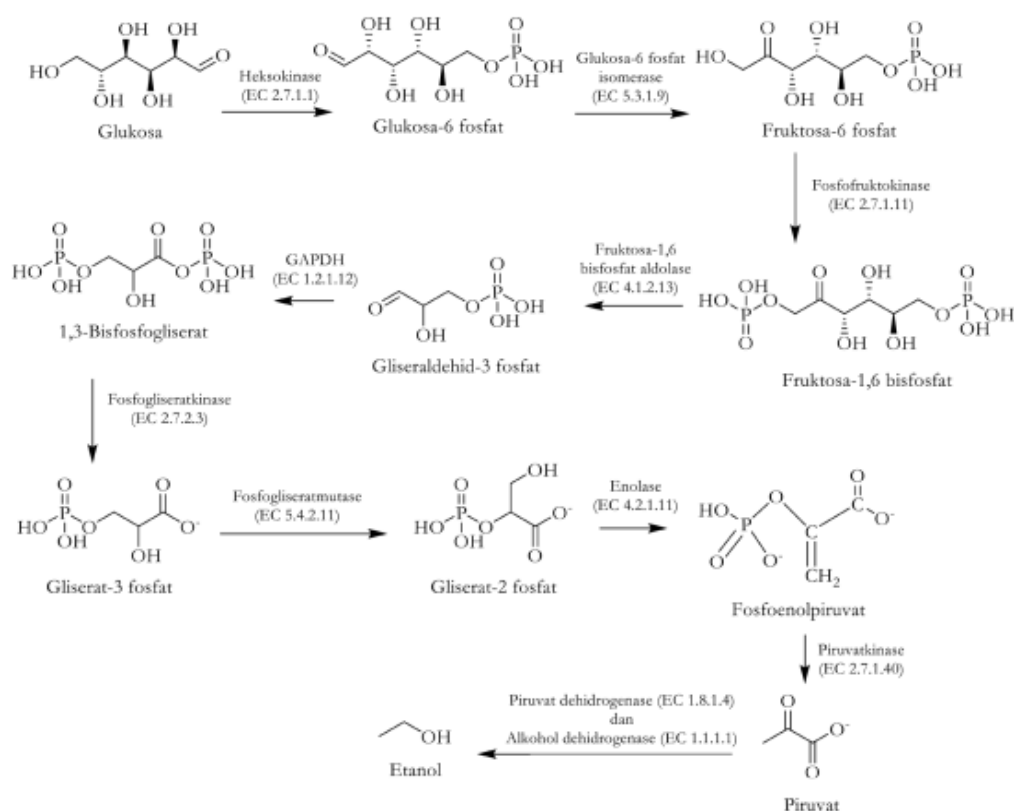
4. Substrat

Mikroorganisme memerlukan substrat yang mengandung nutrisi sesuai dengan kebutuhan untuk pertumbuhannya. Menurut Nurhadianty *et al.*, (2018) secara umum, nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme terbagi menjadi tiga kelompok, yang pertama makronutrisi seperti karbon dan nitrogen, yang kedua mikronutrisi seperti fosfor, sulfur, kalsium, besi, natrium, dan magnesium. Dan yang ketiga Trace-element seperti kobalt, mangan, besi, nikel, dan seng.

Fermentasi yang terjadi pada pengembang roti, termasuk dalam jenis fermentasi alkohol (Nisaa, 2020). Fermentasi alkohol adalah suatu proses perubahan gula menjadi produk berupa CO₂, etanol, dan juga produk sampingan yang berguna (Buratti & Benedetti, 2016). Mikroorganisme yang sering terlibat dalam fermentasi alkohol adalah khamir dari genus *Saccharomyces*. Akan tetapi saat ini banyak ditemukan para peneliti bahwasannya khamir non-*Saccharomyces* juga memiliki potensi untuk dapat melakukan fermentasi alkohol dengan baik, seperti khamir *Torulaspora delbrueckii*, *Lachancea thermotolerans*, *Candida utilis*, dan *Hanseniaspora opuntiae* (Roca-Mesa *et al.*, 2020).

Menurut Ashshoffa & Yuliani (2019) fermentasi alkohol terjadi melalui dua tahapan, yaitu pada tahap pertama terjadi hidrolisis karbohidrat atau pati menjadi molekul yang lebih sederhana yaitu glukosa. Pada tahap pertama ini, proses

fermentasi terjadi melalui jalur EMP (*Embden Meyerhof Parnas*) atau glikolisis dengan melibatkan beberapa enzim spesifik sehingga terbentuk beberapa produk, salah satunya asam piruvat. Selanjutnya pada tahap kedua, asam piruvat yang terbentuk sebelumnya diubah menjadi produk berupa alkohol. Perubahan asam piruvat menjadi alkohol juga melalui dua proses. Proses pertama yaitu pemecahan asam piruvat oleh piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehid, dalam hal ini melibatkan tiamin pirofosfat. Sedangkan proses kedua terjadi reduksi asetaldehid menjadi etanol oleh alkohol dehidrogenase dengan melibatkan NADH_2 . Adapun NAD yang telah teroksidasi digunakan pada tahap glikolisis selanjutnya untuk menangkap hidrogen.



Gambar 2.7. Mekanisme Fermentasi Alkohol Melalui Jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) (Ibrahim et al., 2020)

Proses fermentasi dalam pembuatan produk roti merupakan suatu tahapan yang paling penting, karena fermentasi sangat mempengaruhi kualitas roti seperti volume, aroma, rasa, warna, dan tekstur. Fermentasi adonan roti melibatkan mikroorganisme dari golongan khamir (Nakamura *et al.*, 2018). Khamir tersebut memanfaatkan sumber karbohidrat. Terdapat tiga sumber karbohidrat yang dapat dimanfaatkan khamir dalam proses fermentasi adonan roti. Sumber karbohidrat yang pertama, kandungan gula yang secara alami ada dalam adonan roti (termasuk glukosa, fruktosa, sukrosa dan maltose). Sumber karbohidrat kedua, gula yang sengaja ditambahkan oleh pembuat roti, seperti sukrosa yang dapat difermentasikan oleh khamir. Sumber karbohidrat yang ketiga, yaitu maltose yang berasal dari pemecahan pati (Nisaa, 2020).

Khamir juga menghasilkan beberapa enzim yang mampu mengkatalisis proses fermentasi. Enzim-enzim tersebut diantaranya yaitu invertase, maltase, zymase, dan amilase. Enzim invertase berperan dalam mengubah sukrosa menjadi gula sederhana (glukosa dan fruktosa). Enzim maltase berperan mengubah maltosa menjadi glukosa. Enzim zimase merupakan kompleks enzim yang dapat mengubah glukosa & fruktosa menjadi CO₂ dan alkohol (Shabrina, 2017). Sedangkan enzim Amilase adalah enzim yang mengubah polisakarida menjadi monosakarida pada molekul karbohidrat sehingga terbentuk molekul-molekul karbohidrat yang lebih sederhana (Ibrahim *et al.*, 2020).

CO₂ dan etanol yang terbentuk dalam proses fermentasi alkohol, berperan dalam menentukan kualitas adonan roti. Adanya tepung terigu yang memiliki kadar protein tinggi dapat membentuk jaringan gluten. Gluten berperan dalam mempertahankan gas CO₂ untuk mendapatkan volume dan tekstur adonan yang

diinginkan. Glutenin dan gliadin merupakan fraksi utama dari gluten. Gliadin berperan dalam menyediakan *extensibility* dan *viskositas* dari adonan. Sedangkan glutenin berperan untuk sifat elastis dan kohesif dari adonan sehingga gas CO₂ akan tertahan oleh lapisan gluten yang menyebabkan volume adonan mengembang (Arif *et al.*, 2019). Adonan harus diuleni secara menyeluruh untuk mendistribusikan gelembung CO₂ dan suhu fermentasi berkisar antara 25-30 °C sehingga adonan mampu mengembang dengan sempurna. Adapun alkohol yang terbentuk berperan dalam terbentuknya aroma dan cita rasa pada roti (Munteanu *et al.*, 2019). Selama fermentasi adonan, khamir juga menghasilkan banyak metabolit dan juga mengaktifkan beberapa enzim, sehingga dapat memaksimalkan proses fermentasi (Nakamura *et al.*, 2018).

2.5 Prinsip Pembuatan Roti

Roti merupakan salah satu dari produk bakery yang melibatkan mikroorganisme berupa khamir dalam melangsungkan proses fermentasi (Suryatna & Teknik, 2015). Secara garis besar prinsip pembuatan roti terdiri dari beberapa tahap, diantaranya yaitu pencampuran, peragian, pembentukan, dan pemanggangan. Proses pencampuran bertujuan untuk membentuk gluten yang memiliki sifat viskoelastis pada adonan. Tahap kedua yaitu peragian, merupakan bagian penting dalam pembuatan roti karena pada tahap ini terjadi fermentasi adonan roti. Selama proses peragian, adonan perlu diuleni untuk mendistribusikan gas CO₂ yang terbentuk. Selain itu, suhu dan kelembaban selama fermentasi berlangsung perlu dikendalikan. Suhu formal untuk fermentasi ialah ± 26 °C dan kelembabannya 70-75% (Putri *et al.*, 2020).

Tahap ketiga yaitu pembentukan, yang secara berurutan adonan ditimbang dengan takaran tertentu, dibulatkan (dilakukan pembentukan), diistirahatkan (diinkubasi), dan dimasukkan kedalam loyang atau cetakan. Pada tahap ini juga terjadi proses fermentasi akhir sebelum masuk ke tahap selanjutnya yaitu pemanggangan (Arwini, 2021). Tahap terakhir dari pembuatan roti yaitu pemanggangan. Pada tahap pemanggangan terus terjadi kenaikan suhu hingga 205 °C. Tahap pemanggangan dilakukan selama 14-18 menit (Mudjajanto, 2004). Di awal proses pemanggangan terjadi kenaikan volume adonan secara cepat (Sitepu, 2019). Menurut Arwini (2021), pada waktu pemanggangan juga terjadi pelepasan alkohol sehingga alkohol menguap yang dapat menyebabkan peningkatan tekanan di sekitar oven. Peningkatan tekanan di dalam oven juga sejalan dengan terjadinya gelatinisasi pati dan kerusakan struktur gluten yang disebabkan adanya penarikan air. Pada akhir pemanggangan, terjadi pembentukan crust dan aroma akibat dari adanya reaksi maillard dan karamelisasi.

Terdapat beberapa bahan utama yang digunakan dalam pembuatan roti. Bahan-bahan tersebut diantaranya yaitu tepung terigu, air, gula pasir, garam, dan pengembang roti. Tepung terigu berperan dalam terbentuknya jaringan gluten. Menurut Widyaningsih & Murtini (2006), semakin tinggi kadar gluten, maka elastisitas adonan roti semakin baik, sehingga gas CO₂ yang terbentuk akan terperangkap oleh gluten. Adanya kemampuan menahan gas tersebut menyebabkan roti akan lebih mengembang dan bertekstur empuk (Suryatna & Teknik, 2015).

Penggunaan gula pasir pada roti memiliki beberapa tujuan diantaranya yaitu sebagai sumber karbon yang digunakan ragi dalam proses fermentasi, menjaga kadar air yang terkandung dalam adonan selama proses fermentasi, dapat

memperbaiki tekstur produk, dan mampu menambah nilai gizi produk roti. Gula yang ditambahkan pada adonan harus dalam takaran yang cukup. Hal tersebut dikarenakan kelebihan gula akan menambah waktu proofing (Putri *et al.*, 2020).

Garam merupakan salah satu bahan pembuatan roti yang dibutuhkan dalam kadar sedikit. Penambahan garam diatas 1% dapat menghambat proses fermentasi. Hal tersebut dikarenakan garam bersifat mengikat air, apabila garam terlalu banyak maka kandungan air yang terdapat pada adonan semakin sedikit sehingga dapat menekan pertumbuhan khamir. Apabila garam yang digunakan dalam takaran yang cukup, maka akan mempengaruhi laju fermentasi dan juga dapat mencegah pertumbuhan bakteri psikofilik (Chendawati, 2013).

Khamir merupakan agen utama yang mengkonsumsi gula sederhana sehingga terjadi fermentasi alkohol yang menghasilkan produk berupa gas CO₂ dan etanol. Dengan adanya produk fermentasi tersebut, maka yeast dapat mengubah massa adonan padat menjadi adonan berpori dengan volume tertentu dan juga mampu menciptakan aroma dan rasa yang khas (Munteanu *et al.*, 2019). Seiring dengan perkembangan teknologi, saat ini banyak ditemukan oleh peneliti bahwa khamir non-Saccharomyces juga memiliki kemampuan yang baik dalam melangsungkan proses fermentasi (Ivit *et al.*, 2020).

Air memainkan peran penting dalam pembuatan roti karena air bersifat sebagai pelarut bahan-bahan yang digunakan. Selain itu, air juga berfungsi sebagai pengikat protein sehingga terbentuk gluten (Chendawati, 2013). Dengan adanya air maka akan terjadi aktivasi enzim untuk mengkatalisis proses fermentasi. Selain itu, air juga berperan dalam mengontrol suhu adonan. Hal tersebut dikarenakan apabila suhu adonan naik ketika dilakukan proses pencampuran, maka proses fermentasi

lebih cepat akan tetapi pembentukan gluten tidak sempurna sehingga dapat memperpendek masa simpan roti (Arwini, 2021).

2.6 Karakteristik Roti

Fermentasi yang terjadi pada adonan roti merupakan proses yang sangat menentukan karakteristik dari roti yang telah dipanggang. Karakteristik roti dapat dinilai dari volume, aroma, warna, rasa, dan tekstur roti (Nawika *et al.*, 2017). Adanya volume yang terbentuk dikarenakan CO₂ berdifusi menjadi gelembung udara, yang masuk dan dapat menyebar ke dalam adonan. Dengan terbentuknya jaringan gluten yang elastis, maka gas CO₂ akan terperangkap oleh jaringan gluten tersebut dan menyebabkan adonan mengembang (Birch *et al.*, 2013).

Tekstur pada roti dapat dipengaruhi oleh gula dan ragi pada adonan. Umumnya tekstur roti yang digemari oleh konsumen yaitu roti dengan tekstur empuk dan berpori. Tekstur yang empuk dan berpori dapat dipengaruhi oleh daya kembang roti akibat dari CO₂ yang terbentuk pada proses fermentasi. Adapun aroma dan rasa khas pada roti disebabkan adanya aktivitas khamir dalam mengkonversi senyawa-senyawa seperti asam, aldehid dan ester (Sitepu, 2019). Haryani *et al.*, (2017), menyatakan rasa dan aroma yang terbentuk pada roti juga dapat disebabkan karena adanya reaksi maillard dan karamelisasi. Aroma yang terbentuk tergantung dari kandungan pada bahan-bahan yang digunakan seperti asam amino, lemak, dan juga gula.

Sedangkan warna pada roti terbentuk akibat dari proses pemanggangan. Umumnya warna yang digemari yaitu roti dengan warna kecoklatan. Adanya warna kecoklatan yang terbentuk dikarenakan reaksi maillard dan karamelisasi gula.

Reaksi maillard merupakan reaksi yang terjadi antara gula pereduksi (terutama α -D-glukosa) dengan gugus amin yang terdapat pada asam amino (Haryani *et al.*, 2017). Adapun reaksi karamelisasi gula merupakan reaksi yang degradasi gula akibat pemanasan di atas titik leburnya sehingga terbentuk warna coklat pada roti (Sitepu, 2019).

Pengujian karakteristik roti dapat dilakukan dengan pengujian organoleptik. Uji organoleptik merupakan suatu penilaian produk dengan melibatkan pancaindra (Surono *et al.*, 2017). Sitepu (2019), juga menyatakan bahwa pengujian organoleptik dapat dilakukan dengan metode hedonik (kesukaan) yang melibatkan konsumen atau panelis. Panelis yang menilai berasal dari golongan ahli di bidangnya dan juga golongan masyarakat umum. Panelis akan membandingkan produk-produk yang diujikan pada rentang skala atau skor tertentu (Choiriyah & Dewi, 2020).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental dilakukan dengan memanipulasi variabel penelitian dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol atau tanpa manipulasi (Payadnya & Gusti, 2018). Dalam hal ini dilakukan manipulasi pada konsentrasi sumber nitrogen yang diberikan pada media pertumbuhan yaitu 0,05% dan kelompok kontrol atau 0%. Adapun rancangan penelitian yang digunakan pada data kualitas roti yang meliputi aroma, warna, tekstur, dan rasa, yaitu rancangan penelitian non parametrik menggunakan uji Kruskal Wallis dan uji lanjut Mann Whitney dengan desain penelitian seperti pada tabel 3.1.

Tabel 3.1. Desain Penelitian

Jenis isolat	Konsentrasi	Karakteristik roti			
		Rasa	Warna	Aroma	Tekstur
YIS-3	0% (P0)	RP03	AP03	WP03	TP03
	0,05% (P1)	RP13	AP13	WP13	TP13
YIS-4	0% (P0)	RP04	AP04	WP04	TP04
	0,05% (P1)	RP14	AP14	WP14	TP14
YIS-7	0% (P0)	RP07	AP07	WP07	TP07
	0,05% (P1)	RP17	AP17	WP17	TP17

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah isolat khamir yang digunakan yaitu YIS-3, YIS-4, dan YIS-7.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan khamir yang diamati dari biomassa dan jumlah sel serta kualitas roti yang diamati dari volume, rasa, warna, tekstur, dan aroma roti.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2021 sampai dengan bulan Juli 2021. Bertempat di Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pengujian penambahan sumber nitrogen terhadap pertumbuhan khamir dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi. Sedangkan pengujian kualitas roti yang dilihat dari volume, rasa, dan aroma dilaksanakan di Laboratorium Pangan dan Biokimia.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, laminar air flow (LAF), cawan petri, autoklaf, jarum ose, stirrer, tabung *Eppendorf* 15 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, Erlenmeyer, shaker incubator, timbangan analitik, batang pengaduk, Bunsen, pipet tetes, cover glass, *Haemocytometer*, Mikroskop komputer, penggaris, botol kaca, pH meter, *hotplate*, mixer, oven, vortex, incubator, micro tube, mikropipet, *blue tipe*, *yellow tipe*, *centrifuge*, alat tulis, dan kamera.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Isolat khamir (YIS-3, YIS-4, YIS-7), aquades steril, alkohol, media *Yeast Malt Broth* (YMB), Media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA), media *Yeast Peptone Glucose* (YPG), Sodium DL-Lactose, urea, media pengembangan adonan roti (gula (sukrosa), garam, tepung terigu, mentega), ragi komersil (Fermipan), alumunium foil, plastik, tisu, plastik wrap, kertas, dan label.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Dilakukan terilisasi alat dengan cara dibungkus alat-alat kaca dengan kertas dan dimasukkan pada plastik tahan panas merk *Petromax* ukuran 1 kg, kemudian dimasukkan kedalam autoklaf dan disterilisasi pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit (Nisaa, 2020).

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Media *Yeast Extract Malt Broth* (YMB)

Pembuatan media YMB diawali dengan menimbang beberapa bahan yang digunakan, yaitu 3 g/L yeast extract, 3 g/L malt extract, 5 g/L pepton, dan 10 g/L dextrose. Semua bahan dilarutkan dalam 1000 ml aquades pada labu Erlenmeyer (Purba, 2017). Labu Erlenmeyer yang berisi larutan media dipanaskan diatas *hot plate* dengan suhu 150°C dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Ditambahkan antibiotik Sodium DL-Lactose sebanyak 120 µl pada saat suhu media

50 °C (Biomedical Engineering, 2015). Setelah media homogen, dibuat penutup pada mulut labu Erlenmeyer dengan menggunakan kasa dan kapas. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit.

3.5.2.2 Media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA)

Pembuatan media YMEA diawali dengan menimbang beberapa bahan yang digunakan, yaitu 3 g/L yeast extract, 3 g/L malt extract, 5 g/L pepton, 10 g/L dextrose, 20 g/L agar. Semua bahan dilarutkan dalam 1000 ml aquades pada labu Erlenmeyer (Purba, 2017). Labu Erlenmeyer yang berisi larutan media dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan dipanaskan diatas *hot plate* dengan suhu 150°C. Ditambahkan antibiotik Sodium DL-Lactose sebanyak 120 µl pada saat suhu media 50 °C (Biomedical Engineering, 2015). Setelah media homogen, dibuat penutup pada mulut labu Erlenmeyer dengan menggunakan kasa dan kapas. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit.

3.5.2.2 Media *Yeast Peptone Glucose* (YPG)

Media YPG dibuat dengan komposisi yeast extract 3 g/L, pepton 5 g/L, dan glukosa 20g/L. Semua bahan dilarutkan dalam 1000 ml akuades pada labu Erlenmeyer. Larutan media dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer dan dipanaskan di atas *hot plate* dengan suhu 150°C. Media yang telah homogen, dibuat penutup pada mulut labu Erlenmeyer menggunakan kapas yang dibalut dengan kasa. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Murad *et al.*, 2019).

3.5.3 Peremajaan Isolat Khamir

Peremajaan isolat khamir dilakukan dengan cara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Satu koloni khamir diinokulasikan pada media padat YMEA dengan *streak plate*. Kultur diinkubasi selama 48 jam dalam suhu ruang 28 °C. Setelah diinkubasi selama 48 jam, dua koloni dari masing-masing isolat khamir yang tumbuh pada media YMEA diperbanyak pada media cair YMB, diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 140 rpm suhu 33 °C selama 24 jam (Zohri *et al.*, 2017).

3.5.4 Penambahan Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen yang digunakan berupa urea dengan konsentrasi 0% dan 0,05%. Masing-masing konsentrasi ditambahkan pada 300 ml media YPG (Nwokoro *et al.*, 2010). Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 120 °C selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi ditunggu hingga dingin kemudian diinokulasikan dengan 10% inokulum khamir hasil perbanyakan secara aseptik didalam *Laminar Air Flow* (LAF). Diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 140 rpm selama 48 jam suhu 33 °C (Zohri *et al.*, 2017). Dilakukan pengujian pertumbuhan khamir berupa biomassa dan jumlah sel khamir.

3.5.5 Pertumbuhan Khamir

3.5.5.1 Penentuan Biomassa Khamir

Penentuan biomassa khamir dilakukan berdasarkan Karki *et al.*, (2017) yang dimodifikasi. Suspensi khamir yang telah diberi perlakuan berupa urea 0,05%,

dilakukan pemisahan antara media dengan pelet khamir menggunakan sentrifuge pada kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit. Kemudian supernatan dibuang dan pelet ditimbang. Berdasarkan Yuliana (2008) yang dimodifikasi, penimbangan biomassa yang didapatkan dilakukan dengan rumus seperti berikut:

$$B = B2 - B1$$

Keterangan:

B = Biomassa yang didapatkan (gram/ml).

B2 = Eppendorf yang berisi biomassa.

B1 = Eppendorf kosong.

3.5.5.2 Penentuan Jumlah Sel

Penentuan jumlah sel dilakukan berdasarkan Mahardika (2019) yang dimodifikasi. Sebelum dilakukan perhitungan sel, terlebih dahulu *Haemocytometer* dan cover glass disterilisasi dengan alkohol 70%. Cover glass yang telah disterilisasi, diletakkan di atas permukaan chamber pada *Haemocytometer*. Diambil 100 μ L inokulum khamir dan dimasukkan pada tube 1,5 ml. Ditambahkan 100 μ L pewarna methylen blue serta diencerkan dengan akuades steril hingga volume akhir 1000 μ L. Suspensi khamir yang telah dilakukan pewarnaan dan pengenceran selanjutnya dihomogenkan dengan vortex. Suspensi khamir diambil 20 μ L dan dimasukkan ke dalam chamber secara perlahan. Sel dihitung dibawah mikroskop komputer dengan perbesaran 400x. Pengamatan sel dilakukan pada 5 kotak sedang dengan pola seperti pada gambar 3.1.

Gambar 3.1. Pola perhitungan metode *counting chamber*

Setelah didapatkan jumlah sel pada 5 kotak sedang, dilakukan perhitungan dengan rumus: (Mahardika, 2019)

$$\text{rata - rata jumlah sel/kotak} = \frac{\text{jumlah sel hidup}}{5 \text{ kotak}}$$

$$\text{faktor pengencer} = \frac{\text{volume akhir suspensi}}{\text{volume inokulum}}$$

$$\text{jumlah sel} \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = \text{rata - rata jumlah sel/kotak} \times \text{faktor pengencer} \times 10^4$$

keterangan:

10^4 = konversi 0,1 μL dalam 1 ml.

0,1 μL = volume pada kotak sedang.

3.5.6 Pembuatan Adonan Roti

Pembuatan adonan roti diawali dengan cara ditimbang bahan yang akan digunakan. Takaran bahan yang digunakan sesuai dengan Watanabe *et al.*, (2016) yang dimodifikasi, terdiri dari 200 gr tepung terigu, 3 gr garam, 15 gr gula, 16 gr mentega, 1,2% (2,4 gr) pelet khamir, 2,4 gr fermipan, serta 70 ml air. Semua bahan dicampurkan dan diuleni hingga menjadi adonan yang kalis. Maryam *et al.*, (2017), menyatakan pada pengujian ini dilengkapi dengan kontrol positif dan kontrol

negatif. Sebagai kontrol positif digunakan ragi komersial (Fermipan). Sedangkan kontrol negatif tidak ditambahkan agen pengembang (khamir) pada adonan roti. Masing-masing sampel adonan ditimbang sebanyak 300 gr dan dimasukkan dalam silinder ukur atau cetakan. Adonan diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ serta diamati kenaikan volume adonan. Tahap terakhir dari pembuatan roti yaitu proses pemanggangan pada suhu 150°C selama 30 menit (Karki *et al.*, 2017).

3.5.7 Pengujian Kualitas Roti

Keberhasilan proses fermentasi dapat diketahui dari kualitas roti yang meliputi volume (lebar, panjang dan tinggi), serta rasa, aroma, warna, dan tekstur (Watanabe *et al.*, 2016).

3.5.7.1 Pengukuran Volume Adonan

Pengukuran kenaikan volume adonan roti atau daya kembang roti mengacu pada Pusuma *et al.*, (2018) yang dimodifikasi, dilakukan dengan cara membandingkan volume adonan setelah diinkubasi tiap 30 menit selama 600 menit dengan volume adonan awal. Proses pengukuran volume adonan dilakukan didalam cetakan yang sebelumnya telah diketahui ukurannya. Volume adonan diukur secara manual dengan menggunakan penggaris. Setelah diketahui volume adonan dari masing-masing waktu, dilakukan perhitungan persentase pengembangan roti yang mengacu pada Saepudin (2017) yang dimodifikasi, rumus yang digunakan yaitu:

$$\% \text{ pengembangan} = \frac{\text{volume adonan akhir} - \text{volume adonan awal}}{\text{volume adonan awal}} \times 100\%$$

3.5.7.2 Aroma, Rasa, Warna, dan Tekstur Roti

Pengujian aroma, rasa, warna dan tekstur pada roti dilakukan secara organoleptik metode hedonik, yaitu pengujian tingkat kesukaan yang melibatkan 30 panelis atau konsumen. Dalam metode hedonik ini panelis diminta memberikan penilaian berdasarkan tingkat kesukaan dengan menggunakan skoring. Skor yang digunakan adalah 1= sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = agak suka, 4 = suka dan 5 = sangat suka (Choiriyah & Dewi, 2020).

3.6 Analisis Data

Data kenaikan volume adonan roti dan data pertumbuhan khamir yang meliputi biomassa dan jumlah sel dianalisis dengan program *Microsoft Excel* serta disajikan dalam bentuk tabel dan diagram batang dengan analisis secara deskriptif. Sedangkan untuk data hasil uji organoleptik yang berupa data non parametrik dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis. Jika terdapat perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut Mann Whitney dengan taraf signifikansi 5%. Data diolah dengan bantuan program *SPSS* (Qurnaini *et al.*, 2021).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Penambahan Senyawa Urea terhadap Pertumbuhan Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)

Pertumbuhan mikroorganisme dapat didefinisikan sebagai pertambahan jumlah sel dengan bertambahnya RNA, DNA, protein dan air dalam sel (Mahreni & Sri, 2011). Beberapa jenis mikroorganisme memiliki peran penting dalam industri barang maupun jasa. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan produksi barang dan jasa dalam menggunakan mikroorganisme, diantaranya yaitu jenis mikroorganisme, kondisi lingkungan, serta media yang digunakan (Wignyanto & Hidayat, 2017). Khamir merupakan salah satu mikroorganisme yang seringkali dimanfaatkan di bidang industri fermentasi. Untuk mengoptimalkan proses fermentasi tersebut, maka faktor utama yang harus dikendalikan yaitu pertumbuhan dari khamir itu sendiri karena tiap jenis mikroorganisme memiliki fase-fase pertumbuhan.

Pada khamir, fase log atau fase eksponensial merupakan fase optimal untuk fermentasi. Hal tersebut dikarenakan pada fase log sel membelah secara maksimal sehingga khamir dapat melangsungkan proses fermentasi dengan baik. Menurut Sriwulan & Hendrasarie (2021), fase log atau eksponensial pada khamir terjadi pada jam ke-25 hingga jam ke-50. Oleh karena itu, sesuai dengan penelitian ini, untuk pengamatan pertumbuhan pada khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 dilakukan pada jam ke-48. Adapun indikator pertumbuhan yang diamati dapat dilihat dari pengukuran biomassa dan jumlah sel. Allah berfirman dalam Surat Fussilat ayat 53 yang berbunyi:

سُرِّيهِمْ ءَايَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ ۖ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ
عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ ۚ

Artinya: “Kami akan memperlihatkan kepada mereka tanda-tanda (kekuasaan) Kami di segenap ufuk dan pada diri mereka sendiri, sehingga jelaslah bagi mereka bahwa Al-Qur’an itu adalah benar. Dan apakah Tuhanmu tidak cukup (bagi kamu) bahwa sesungguhnya Dia menyaksikan segala sesuatu?” (QS. Fussilat [41]: 53).

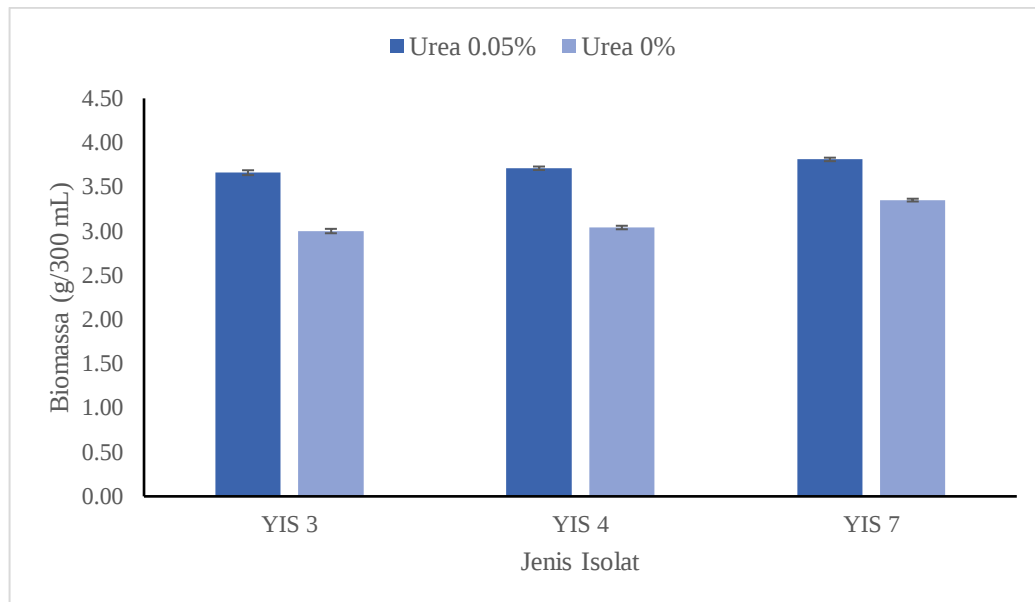
Ibnu Jarir Ath-Thabari dalam tafsirnya kitab tafsir Ath-Thabari (2009), menjelaskan penggalan ayat *الأفاق وفي أنفسهم* menunjukkan tanda-tanda (kekuasaan) Allah di segala wilayah bumi. Kata *الأفاق* menunjukkan segala tanda-tanda kekuasaan Allah yang ada di seluruh alam semesta ini, termasuk di dalamnya yang ada di langit dan di bumi. Tanda-tanda kekuasaan Allah mencakup segala sesuatu yang telah Allah ciptakan, baik yang hidup maupun yang mati (Firdaus, 2019). Abdullah bin Muhammad Alu Syaikh dalam tafsirnya kitab tafsir Ibnu Katsir (2011), ayat tersebut menunjukkan makna bahwasannya Allah akan menampakkan kepada manusia tanda-tanda serta bukti bahwasannya Al-Qur’an merupakan kebenaran yang Allah turunkan kepada Rasulullah SAW dengan adanya tanda-tanda yang tampak dari luar. Boleh jadi yang dimaksud tanda-tanda tersebut yaitu kondisi fisik manusia, struktur maupun susunannya yang didalamnya juga terdapat tanda kekuasaan Allah dengan adanya segala reaksi sehingga tumbuh dan tercipta dalam bentuk yang mengagumkan dari dirinya, sebagaimana yang diuraikan dalam ilmu anatomi yang menunjukkan kebijaksanaan sang Maha pencipta.

Menurut Azhar (2017), dalam Surat Fussilat ayat 53 menjelaskan tentang kuasa Allah atas terjadinya segala reaksi kimia yang ada pada tubuh makhluk hidup untuk melangsungkan kehidupan yang berbeda dengan proses kimia pada umumnya. Reaksi-reaksi kimia dalam tubuh organisme bersifat khas dan dapat berlangsung pada kondisi yang tak mungkin untuk reaksi-reaksi kimia di luar tubuh.

Hal tersebut dikarenakan adanya metabolisme yang ditunjang oleh senyawa-senyawa yang sangat kompleks seperti biomolekul dan enzim, yang bekerjasama dengan berbagai zat anorganik dalam tubuh, seperti halnya pertumbuhan pada mikroorganisme.

Pada penelitian ini, indikator pertumbuhan yang pertama dilihat dari hasil biomassa oleh YIS-3, YIS-4 dan YIS-7. Menurut Gu (2016) pengukuran biomassa merupakan salah satu metode tidak langsung untuk mengetahui adanya pertumbuhan mikroorganisme. Vieira *et al.*, (2013), juga menyatakan bahwa biomassa merupakan sumber protein tambahan yang diperoleh dari mikroorganisme baik bakteri, jamur, maupun khamir yang dibudidayakan dalam jumlah besar. Produk biomassa yang dihasilkan oleh khamir dapat dimanfaatkan dalam bidang industri fermentasi. Salah satunya yaitu dibidang pengembang adonan roti. Menurut Halasz & Laztity (2017), di dalam biomassa khamir mengandung beberapa enzim yang berkontribusi besar dalam industri fermentasi, diantaranya yaitu enzim *aldehid dehidrogenase*, *fosfoglisarat kinase*, *fosfofruktokinase*, *alkohol dehidrogenase* dan *invertase*.

Broach (2012), menyatakan bahwa biomassa khamir yang dimanfaatkan dalam skala industri sangat bergantung pada nutrisi di media pertumbuhannya. Salah satu nutrisi yang berperan penting yaitu nitrogen. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pertumbuhan khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 dipengaruhi oleh sumber nitrogen yang terkandung di dalam media pertumbuhannya. Hasil biomassa yang didapatkan dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Biomassa yang diperoleh dari masing-masing perlakuan

Biomassa yang didapatkan dari masing-masing isolat khamir yang diberi perlakuan dengan penambahan urea 0,05% menunjukkan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan urea 0%. Hal tersebut dikarenakan hidrolisis urea pada media pertumbuhan khamir dapat membebaskan amonia yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan khamir (Nwokoro *et al.*, 2010). Linder (2019), juga menyatakan bahwa khamir dapat menggunakan berbagai macam substrat yang mengandung nitrogen dengan melibatkan beberapa langkah katabolik yang sebelumnya nitrogen dilepaskan dalam bentuk amonia, sehingga kemudian dapat tergabung sebagai biomassa.

Menurut Walker & Stewart (2016), pertumbuhan khamir melibatkan transportasi dan asimilasi nutrisi yang diikuti oleh integrasi khamir menjadi komponen seluler yang banyak, sehingga sel bertambah dengan memperbanyak biomassa dan akhirnya membelah. Dengan demikian, tujuan utama dari sel khamir ini adalah untuk reproduksi. Ouedraogo *et al.*, (2017) juga menyatakan, komposisi media memainkan peran penting dalam perbaikan efisiensi dan ekonomi fermentasi

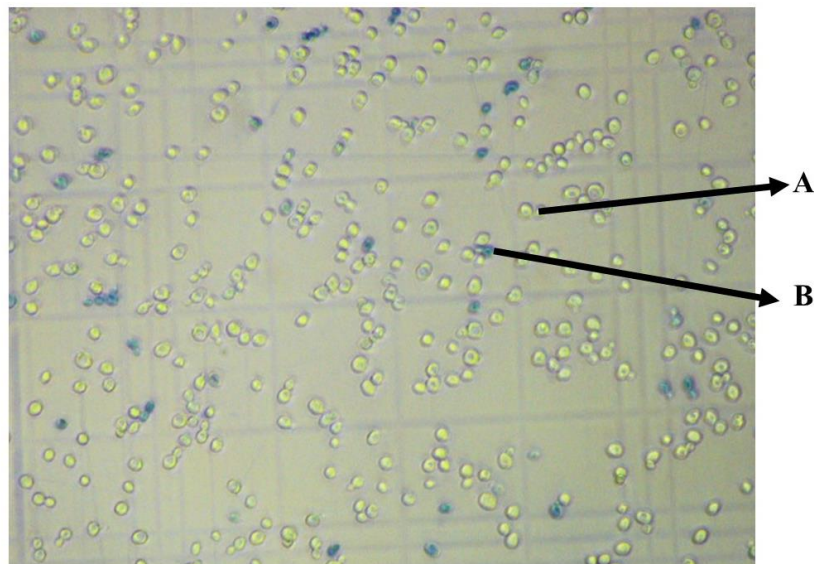
mikroorganisme. Hal tersebut dikarenakan biomassa khamir yang digunakan sebagai agen fermentasi memperoleh sumber karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen dari media yang disediakan. Apabila penambahan nitrogen pada media pertumbuhan dapat meningkatkan biomassa, maka penggunaan substratnya juga akan meningkat secara bersamaan.

Dari hasil penelitian ini, khamir YIS-7 perlakuan urea 0,05% mampu memproduksi biomassa yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan YIS-3 dan YIS-4. Hal tersebut bertolak belakang dengan hasil penelitian Choi & Park (2003), bahwasannya penambahan urea 0,05% mampu memberikan efek buruk pada khamir dari jenis *Pichia* akan tetapi memberikan efek baik pada khamir jenis *Saccharomyces*. Dari pernyataan tersebut dapat diketahui bahwasannya perbedaan jenis strain khamir yang digunakan memiliki kemampuan yang berbeda pula dalam memanfaatkan urea sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya.

Menurut Herawati (2015), khamir *Pichia* merupakan jenis khamir metilotropik yang dapat memetabolisme senyawa-senyawa monokarbon seperti metanol dan formaldehid. Rebnegger *et al.*, (2016), menambahkan bahwa khamir *Pichia* memiliki beberapa kelebihan dalam bidang industri, yaitu memiliki kemampuan tumbuh dalam kondisi substrat yang rendah serta memiliki toleransi yang tinggi terhadap pembatasan kalori. Batista *et al.*, (2013), juga menyatakan khamir *Saccharomyces* dan *Pichia* banyak digunakan untuk produksi protein rekombinan karena kedua jenis khamir tersebut termasuk mikroorganisme uniseluler yang memiliki kemampuan modifikasi pascatranslasi sel eukariotik. Pedro *et al.*, (2015), menambahkan bahwa khamir dari jenis *Pichia* merupakan mikroorganisme yang mudah dimanipulasi dan dibudidayakan dalam bidang

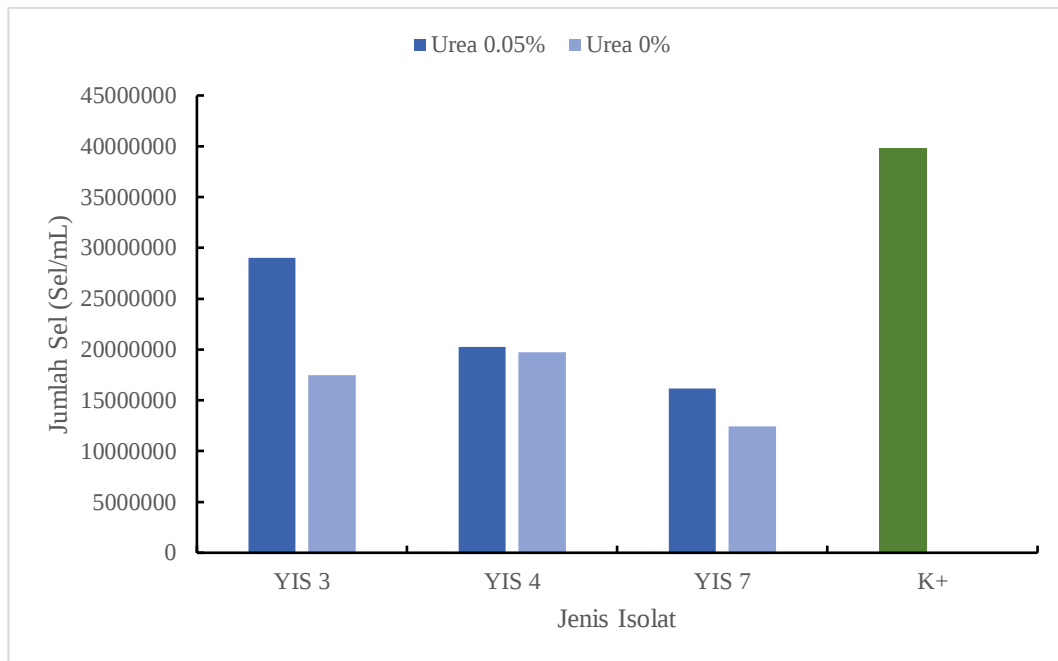
industri karena khamir *Pichia* mampu melakukan banyak modifikasi pascatranslasi, sama halnya yang dilakukan oleh organisme eukariotik yang lebih tinggi seperti pemrosesan proteolitik, pelipatan protein, pembentukan ikatan disulfida, dan glikosilasi. Sehingga, dengan begitu maka khamir *Pichia* memiliki kemampuan produksi protein atau biomassa yang cukup baik.

Indikator pertumbuhan yang kedua pada khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 dapat dilihat dari jumlah sel setelah diberi perlakuan penambahan sumber nitrogen berupa urea dengan konsentrasi 0,05% dan 0% pada media pertumbuhannya. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan metode *counting chamber* menggunakan alat berupa *Haemocytometer*. Berbeda dengan pengukuran biomassa, perhitungan jumlah sel lebih menekankan perhitungan sel secara langsung yang dapat dilihat dengan bantuan mikroskop dengan tidak mengukur berat sel. Oleh karena itu perhitungan sel menggunakan metode *counting chamber* memiliki beberapa kelebihan. Menurut Wachid & Mutia (2019), salah satu kelebihan dari metode ruang hitung yaitu dapat dibedakan antara sel hidup dan sel mati dengan melibatkan pewarnaan *methylen blue*. *Methylen blue* akan menghasilkan warna ketika mengalami reaksi reduksi dan oksidasi. Sel khamir yang menunjukkan warna pudar atau transparan merupakan sel khamir yang masih hidup karena mampu mereduksi warna *methylene blue*. Sedangkan sel khamir yang berwarna biru menunjukkan sel khamir yang telah mati karena *methylene blue* teroksidasi. Gambar sel hidup dan sel mati khamir dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2. Pengamatan sel khamir dengan pewarnaan *methylene blue* perbesaran 400x. (a) Sel hidup; (b) Sel mati (Dok. Pribadi)

Berdasarkan data penelitian pada gambar 4.3, jumlah sel khamir pada kontrol positif menunjukkan hasil yang paling tinggi jika dibandingkan dengan jumlah sel pada perlakuan urea 0,05% maupun urea 0%. Hal tersebut dikarenakan pada semua kelompok perlakuan, sampel yang digunakan dalam perhitungan jumlah sel berupa biomassa. Biomassa yang digunakan berupa berat basah yang didalamnya masih terdapat kandungan air. Sedangkan sampel yang digunakan dalam perhitungan jumlah sel pada kontrol positif berupa berat kering yang didalamnya tidak terdapat kandungan air. Oleh karena itu, dalam takaran sampel yang sama, maka didalamnya terdapat jumlah sel yang berbeda. Hal tersebut sesuai dengan Matovic (2011) yang menyatakan bahwa ragi komersial yang kerap kali digunakan dalam bidang industri merupakan ragi dalam bentuk biomassa yang sudah dihilangkan molekul airnya dengan adanya peningkatan suhu. Adanya perlakuan tersebut, maka dapat mempengaruhi viabilitas dan vitalitas sel yang terkandung di dalam ragi kering komersial.



Gambar 4.3. Jumlah sel pada masing-masing perlakuan

Hasil penelitian pada gambar 4.3 menunjukkan bahwa jumlah sel khamir dari masing-masing isolat yang diberi perlakuan urea 0,05% menghasilkan jumlah sel yang lebih banyak jika dibandingkan dengan perlakuan urea 0%. Jumlah sel yang dihasilkan oleh YIS-7 menunjukkan hasil yang lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah sel pada YIS-3 dan YIS-4. Hal tersebut dapat diketahui bahwasannya biomassa yang tinggi tidak selalu menunjukkan adanya jumlah sel yang tinggi pula. Menurut Mahreni & Sri (2011) pada mikroorganisme, sel dapat bertambah beratnya dengan tidak memperbanyak sel akan tetapi dengan memperbesar kantung penampungan hasil metabolisme dari khamir itu sendiri. Dengan demikian berat sel tidak dapat selalu disamakan dengan jumlah sel.

Menurut Hafsani (2011) sebagian besar sel khamir memperbanyak sel atau memperbanyak diri dengan cara pertunasan atau *budding*. Akan tetapi ada juga sebagian kecil khamir yang memperbanyak diri dengan membelah diri atau *binary fission*. Linder (2019), juga menyatakan amonia merupakan salah satu substrat

nitrogen yang dapat digunakan khamir saat pembelahan atau budding. Amonia merupakan produk katabolisme dari beberapa jenis senyawa yang mengandung nitrogen, termasuk urea. Pada saat memperbanyak diri dengan pertunasan, diawali dengan terjadinya lisis pada dinding sel di daerah tertentu. Tidak adanya dinding sel pada daerah tersebut, maka menyebabkan adanya tekanan dari isi sel keluar membentuk bulat yang dikelilingi dinding sel induknya. Pada bagian ini kemudian membesar, nukleus membelah secara mitosis, dan nukleus hasil pembelahan tersebut berpindah menuju tunas yang berbentuk bulat tadi. Sehingga, terbentuk tunas baru yang sudah dilengkapi dengan nukleus dan dapat melanjutkan pertumbuhannya. Apabila pertumbuhan telah cukup sempurna, maka tunas akan melepaskan diri dari sel induk dan siklus replikasi telah lengkap. Dengan demikian maka akan terjadi perbanyakan atau penambahan jumlah sel (Hafsan, 2011).

Menurut Zhao *et al.*, (2018), urea merupakan molekul kompleks yang dapat dimanfaatkan oleh sebagian organisme hidup dalam menunjang pertumbuhannya. Khamir merupakan salah satu makhluk hidup uniseluler yang dapat memanfaatkan urea sebagai sumber nitrogen. Dalam pemanfaatannya urea tidak dapat langsung digunakan oleh khamir. Urea dapat dikatabolisme oleh beberapa enzim menjadi NH_3 (amonia) dan CO_2 yang dapat diinjeksikan kembali ke dalam metabolisme sel (Veaudor *et al.*, 2019). Untuk mekanisme pengangkutan urea, Cueto-Rojas *et al.*, (2017), menyatakan bahwa di dalam sel khamir, urea dapat diangkut ke ruang intraseluler secara difusi apabila kadar urea lebih dari 0,5 mmol/liter. Akan tetapi jika kadar urea lebih rendah dari itu, di ruang intraseluler urea akan diproses dalam metabolisme melalui *ATP-dependent urea amidolyase* yang menghasilkan dua molekul ammonia dan satu molekul CO_2 dengan menghidrolisis satu molekul ATP.

Langkah pertama dari pemanfaatan urea yaitu konversi urea menjadi amonia yang dikatalisis oleh dua enzim yang berbeda, yaitu *urease* dan *urea amidolyase* (UA). UA terdiri dari domain *urea karboksilase* (UC) dan *alofanat hidrolase* (AH). Dalam mekanismenya, UC mengubah urea menjadi alofanat, dan AH mengubah alofanat menjadi amonia (Zhao *et al.*, 2018). Sedangkan enzim *urease* mengkatalisis hidrolisis ATP dan NADPH independen dari urea menjadi amonia dan asam karbamat ($\text{H}_2\text{N}-\text{COOH}$) yang dihidrolisis secara spontan oleh asam karbonat (H_2CO_3) dan molekul amonia kedua (Veaudor *et al.*, 2019). Linder (2019) menambahkan bahwa hidrolisis urea dapat menghasilkan amonia, yang selanjutnya amonia diubah menjadi l-glutamat dan l-glutamin, kemudian senyawa tersebut digunakan sebagai kelompok donor amino dalam reaksi transaminasi anabolik.

Adanya biomassa dan jumlah sel yang lebih banyak pada perlakuan urea 0,05% membuktikan bahwa penambahan urea sebagai sumber nitrogen dapat meningkatkan pertumbuhan khamir. Menurut Dewi dkk., (2018), sumber nitrogen merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan. Selama fase pertumbuhan, nitrogen diperlukan untuk sintesis protein dan asam nukleat. Putri (2016), juga menyatakan bahwa di dalam sel mikroorganisme, nitrogen memiliki beberapa fungsi penting diantaranya yaitu mengatur keseimbangan pH didalam tubuh, mempercepat proses pemulihan, pembentukan enzim, menyusun 50% berat kering berupa makromolekul dan sebagai sumber energi. Broach (2012), menambahkan bahwa ketersediaan sumber nitrogen yang mudah dimetabolisme dapat menekan proses *autophagy*, di mana sel mengirimkan komponen makromolekul sitoplasma ke vakuola untuk daur ulang proteolitik dari bagian-

bagian komponen lainnya. Dengan demikian, aksesibilitas nitrogen dapat mengatur metabolisme, pertumbuhan, transkripsi, penyortiran protein pasca-transkripsi, dan pergantian protein dalam khamir.

Selain faktor nutrisi, faktor-faktor lingkungan yang lain juga sangat mempengaruhi pertumbuhan khamir. Pada penelitian ini, suhu inkubasi selama pertumbuhan yang digunakan yaitu suhu ruang dengan kisaran suhu 28-30 °C. Menurut Muhibuddin & Sektiono dkk., (2018), khamir mempunyai keadaan lingkungan tempat hidup yang spesifik. Kisaran suhu optimal untuk kebanyakan khamir sama dengan kapang, yaitu pada 25-30 °C. Nurcholis dkk., (2020), menambahkan secara umum khamir memiliki sifat mesofilik dengan batas suhu pertumbuhan 28-38 °C. Beberapa jenis khamir memiliki sifat termotoleran atau mampu tumbuh pada suhu di atas 40 °C. Akan tetapi khamir yang tidak memiliki sifat toleransi terhadap suhu tinggi maka akan menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian sel dikarenakan suhu yang tinggi mampu mempengaruhi struktur dan fungsi protein pada sel khamir yang nantinya menyebabkan kerusakan sel.

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor lingkungan yang juga berperan penting dalam mempengaruhi pertumbuhan khamir. Pada saat penelitian, pH media yang diberi perlakuan urea 0% menunjukkan rata-rata pH 6,8. Sedangkan pH pada media yang diberi perlakuan urea 0,05% menunjukkan rata-rata pH 6,5. Dengan demikian, pemberian urea pada media pertumbuhan khamir mampu menurunkan pH. Menurut Muslihah (2012) media yang ditambahkan unsur nitrogen berupa urea dapat menurunkan pH media dikarenakan adanya ammonia yang digunakan oleh khamir diubah menjadi NH_4^+ . Molekul NH_4^+ akan

menggabungkan dirinya ke dalam sel sebagai R-NH₃. Selama proses tersebut, H⁺ ditinggalkan pada media sehingga menyebabkan media sedikit lebih asam dikarenakan terjadinya penurunan pH.

4.2 Kualitas Roti Hasil Fermentasi Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)

Roti merupakan salah satu makanan yang berbahan dasar tepung terigu serta dalam proses pembuatannya melibatkan mikroorganisme. Mikroorganisme yang terlibat dalam penelitian ini berupa khamir dengan kode isolat YIS-3, YIS-4 dan YIS-7. Allah berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 168, yang berbunyi:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُبِينٌ

Artinya: “Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal dan baik yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah setan. Sungguh, setan itu musuh yang nyata bagimu” (QS. Al-Baqarah [2]: 168).

Ibnu Jarir Ath-Thabari dalam tafsirnya kitab tafsir Ath-Thabari (2009), menjelaskan kata حَلَالًا طَيِّبًا yang menunjukkan makna halal secara mutlak, suci, tidak najis, dan tidak haram. Berdasarkan tafsir Kemenag (2019), manusia diperintahkan untuk makan dari makanan yang tidak haram, yaitu makanan halal baik dari segi dzatnya maupun cara memperolehnya. Selain yang halal, makanan yang dikonsumsi juga harus bersifat baik, yaitu makanan yang bergizi, aman, tidak mendatangkan penyakit dan juga tidak berlebihan. Manusia dapat memperoleh makanan tersebut dari bumi yang telah Allah sediakan untuk semua makhluk-Nya. Dengan begitu, dalam memenuhi kebutuhan jasmaninya, maka Allah melarang manusia untuk

mengikuti langkah-langkah setan yang selalu merayu manusia agar melanggar ketentuan dari Allah dalam hal memperoleh makanan.

Allah juga menyediakan bahan-bahan di bumi ini untuk menunjang kehidupan makhluknya, sebagaimana firman Allah dalam Al-Qur'an surat Al-Ma'idah ayat 112 yang berbunyi:

إِذْ قَالَ الْحَوَارِيُّونَ يُعِيسَى ابْنُ مَرْيَمَ هَلْ يَسْتَطِيعُ رَبُّكَ أَنْ يُنْزِلَ عَلَيْنَا مَائِدَةً مِنَ السَّمَاءِ
قَالَ اتَّقُوا اللَّهَ إِنَّ كُنتُمْ مُؤْمِنِينَ

Artinya: “(Ingatlah) ketika para pengikut setia Isa berkata, “Wahai Isa putra Maryam, sanggupkah (bersediakah) Tuhanmu menurunkan hidangan dari langit kepada kami?” Isa menjawab, “Bertak-walah kepada Allah jika kamu orang-orang mukmin.” (QS. Al-Ma'idah [5]: 112).

M. Quraish Shihab dalam tafsirnya kitab tafsir Al-Misbah (2002) menjelaskan pada ayat ini kata مَائِدَةً yang berarti wadah yang berisi hidangan atau hidangan atau makanan yang dihidangkan. Pada ayat ini Allah menceritakan antara pertanyaan kaum Hawariyyin yang selanjutnya diterangkan jawaban Nabi Isa terhadap kaum tersebut. Dalam jawaban tersebut Nabi Isa menyuruh mereka agar bertakwa kepada Allah, dengan cara tidak meminta atau mengajukan permintaan apa saja yang terkesan mereka meragukan Allah, termasuk di dalamnya mereka meminta Allah untuk menurunkan hidangan. Allah maha kuasa atas segalanya. Memberikan hidangan berupa makanan merupakan sesuatu yang telah Allah berikan tanpa mereka minta. Allah maha mulia. Allah telah memberikan karunia terhadap hamba-Nya atas segala sesuatu yang ada di bumi, Allah juga telah menyediakan segala kebutuhan termasuk di dalamnya tempat tinggal, pakaian, dan makanan. oleh karena itu, maka tugas kita sebagai manusia hendaknya dapat memanfaatkan dan mengolah bahan-bahan yang telah disediakan oleh Allah untuk menunjang kebutuhan hidup manusia. (Kemenag, 2019). Sebagaimana halnya

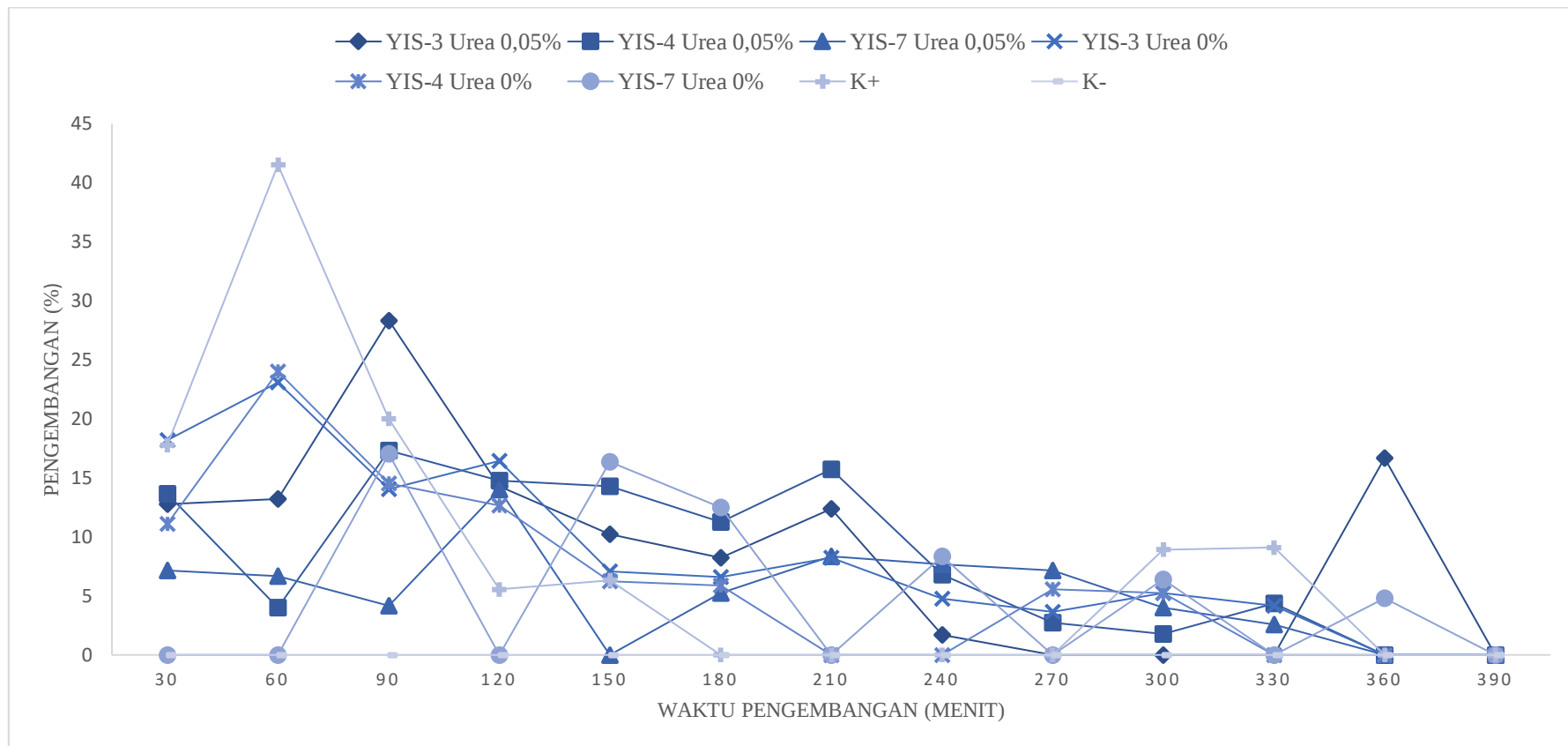
Allah menciptakan biji-bijian yang merupakan bahan dasar dari tepung terigu, sehingga manusia yang berakal akan mengolah tepung terigu tersebut menjadi makanan halal, sehat dan bergizi seperti halnya roti.

Berdasarkan hasil penelitian, pengujian karakteristik roti dinilai dari kenaikan volume adonan roti yang nantinya akan dibandingkan dengan volume roti setelah dipanggang. Selain itu juga dilakukan pengujian organoleptik metode hedonik untuk menilai aroma, rasa, tekstur, dan warna pada roti setelah dipanggang.

4.2.1 Volume

Pengukuran volume adonan roti bertujuan untuk mengetahui tingkat pengembangan adonan roti selama fermentasi dan juga pengembangan roti setelah dipanggang (Lestari & Maharani, 2017). Pusuma et al., (2018), juga menyatakan bahwa kenaikan volume adonan roti selama berlangsungnya proses fermentasi disebut juga dengan kemampuan atau daya kembang roti. Pada gambar 4.4 menunjukkan hasil pengembangan volume adonan roti pada semua perlakuan.

Berdasarkan hasil penelitian pada gambar 4.4 terlihat bahwa masing-masing isolat yang diberi perlakuan urea menunjukkan waktu pengembangan yang berbeda-beda. Apabila dibandingkan dengan kontrol positif terlihat bahwa di awal waktu pengembangan menit ke-60 kontrol positif mengembang lebih tinggi dan lebih cepat yaitu 41,51%. Hal tersebut dikarenakan jumlah sel yang terkandung pada kontrol positif lebih tinggi jika dibandingkan jumlah sel pada semua perlakuan. Jumlah sel kontrol positif yang digunakan sebagai agen pengembang adonan roti berkisar $39,84 \times 10^6$ sel/ml. Sedangkan jumlah sel pada semua perlakuan berkisar antara $12,42 \times 10^6$ sel/ml sampai $29,02 \times 10^6$ sel/ml.



Gambar 4.4. Persentase pengembangan volume roti pada masing-masing perlakuan

Persentase pengembangan pada YIS-3 menunjukkan bahwa ketika diberi perlakuan urea 0,05% pengembangan tertinggi terjadi pada menit ke-90 yaitu 28,33%. Setelah menit ke-90 mengalami penurunan dan peningkatan. Akan tetapi selanjutnya mengalami peningkatan kembali pada menit ke-210 dan menit ke-330. Sedangkan untuk YIS-3 perlakuan urea 0% peningkatan tertinggi terjadi pada menit ke-60 yaitu 23,08%. Jika dibandingkan antara YIS-3 perlakuan urea 0,05% dan YIS-3 perlakuan urea 0%, terlihat bahwasannya pengembangan tertinggi dihasilkan oleh YIS-3 perlakuan urea 0,05%. Hal tersebut dikarenakan jumlah sel yang terkandung pada YIS-3 perlakuan urea 0,05% lebih tinggi yaitu $29,02 \times 10^6$ sel/ml jika dibandingkan dengan jumlah sel pada YIS-3 perlakuan urea 0% yaitu 23,08%. Perbedaan jumlah sel yang terkandung akan mempengaruhi aktivitas fermentasi. Hal tersebut sesuai dengan Akbar *et al.*, (2019), yang menyatakan bahwa jumlah sel yang tumbuh pada media uji berkaitan erat dengan proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir.

Menurut Jang *et al.*, (2020), peningkatan konsentrasi ragi menyebabkan peningkatan laju produksi gas CO₂, sehingga menghasilkan laju perpindahan massa CO₂ yang lebih tinggi. Akibatnya gelembung diperluas lebih cepat untuk mencapai saturasi. Sitepu (2019), menambahkan bahwa semakin banyak ragi yang melangsungkan proses fermentasi, maka semakin banyak pemecahan karbohidrat menjadi alkohol dan CO₂, sehingga adonan dapat mengembang dengan cepat pula. Adapun jika dibandingkan dengan kontrol negatif, semua kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang lebih baik. Hal tersebut dikarenakan pada kontrol negatif tidak terdapat agen pengembang yang ditambahkan sehingga tidak terjadi proses

fermentasi adonan roti yang mengakibatkan persentase pengembangan dari menit ke-30 hingga menit ke-600 menunjukkan 0%.

Persentase pengembangan pada YIS-4 menunjukkan bahwa ketika diberi perlakuan urea 0,05% pengembangan tertinggi terjadi pada menit ke-90 yaitu 17,31%. Selanjutnya mengalami penurunan, akan tetapi terjadi peningkatan kembali pada menit ke-210. Sedangkan ketika diberi perlakuan urea 0% pengembangan tertinggi terjadi pada menit ke-60 yaitu 24%. Setelah menit ke-60, persentase pengembangan menunjukkan penurunan yang signifikan. Adapun jumlah sel yang melangsungkan proses fermentasi pada YIS-4 perlakuan urea 0,05% dan perlakuan urea 0%, masing-masing yaitu $20,24 \times 10^6$ sel/ml dan $19,72 \times 10^6$ sel/ml.

Persentase pengembangan pada YIS-7 menunjukkan bahwa ketika diberi perlakuan urea 0,05%, pengembangan tertinggi terjadi pada menit ke-120 yaitu 14%. Selanjutnya mengalami penurunan pada menit ke-150 hingga 0%. Pada menit ke-180 dan menit ke-210 mulai mengalami peningkatan kembali. Sedangkan ketika diberi perlakuan urea 0% pengembangan tertinggi terjadi pada menit ke-90 yaitu 17,02%. Pada perlakuan ini, YIS-7 mengalami peningkatan dan penurunan yang fluktuatif setiap 30 menit yang selanjutnya pengembangan berhenti setelah menit ke-300. Adapun jumlah sel yang melangsungkan proses fermentasi pada YIS-7 perlakuan urea 0,05% dan perlakuan urea 0%, masing-masing yaitu $16,16 \times 10^6$ sel/ml. dan $12,42 \times 10^6$ sel/ml.

Jumlah sel yang melangsungkan proses fermentasi pada masing-masing isolat khamir yang digunakan, memang memiliki pengaruh besar terhadap kecepatan fermentasi maupun tingkat pengembangan adonan roti. Akan tetapi hal

tersebut tidak sepenuhnya dapat digunakan sebagai acuan utama. Hal tersebut terlihat pada YIS-4 dan YIS-7. Jumlah sel yang terkandung pada YIS-4 dan YIS-7 perlakuan urea 0,05% menunjukkan jumlah yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan jumlah sel pada YIS-4 dan YIS-7 perlakuan urea 0%. Akan tetapi, waktu dan juga tingkat pengembangan yang dihasilkan lebih rendah pada perlakuan urea 0,05% dari pada 0%.

Menurut Walker & Stewart (2016), adanya penambahan unsur nitrogen pada media fermentasi berperan sebagai anabolik untuk biosintesis protein struktural dan fungsional (enzim) dan asam nukleat, dan juga berperan katabolik dalam produksi alkohol dan senyawa volatil yang lebih tinggi. Adanya produksi alkohol yang lebih tinggi dapat mempengaruhi aktivitas khamir dalam melangsungkan proses fermentasi. Hal tersebut dikarenakan setiap jenis khamir memiliki tingkat toleransi alkohol yang berbeda-beda (Rini, 2017). Diawal waktu pengembangan, khamir yang memiliki toleransi tinggi terhadap alkohol akan tetap dapat melangsungkan fermentasi dengan baik. Begitu juga sebaliknya, khamir yang memiliki toleransi rendah maka akan dapat memperlambat proses fermentasi bahkan dapat menyebabkan kerusakan sel. Oleh karena itu, jumlah sel yang tinggi tidak selalu menghasilkan tingkat pengembangan yang tinggi pula, dikarenakan hal tersebut juga berkaitan dengan kemampuan pada masing-masing jenis khamir.

Dari ketiga isolat khamir yang digunakan, jika dibandingkan antara perlakuan urea 0% dan urea 0,05%, terlihat perbedaan bahwasannya semua isolat yang diberi perlakuan urea 0,05% membutuhkan waktu yang sedikit lebih lama untuk mencapai pengembangan tertinggi. Hal tersebut dikarenakan khamir memiliki mekanisme tersendiri untuk memanfaatkan sumber nitrogen yang

disukainya selama proses fermentasi. Menurut Brice *et al.*, (2018), menyatakan bahwa khamir dapat memanfaatkan semua senyawa yang mengandung nitrogen yang mampu memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan fermentasi. Dengan begitu, maka sumber nitrogen dapat diklasifikasikan sebagai sumber nitrogen yang disukai, termasuk di dalamnya amonium, glutamin, glutamat, dan asparagin. Dan juga sumber nitrogen yang tidak disukai termasuk salah satu diantaranya yaitu urea.

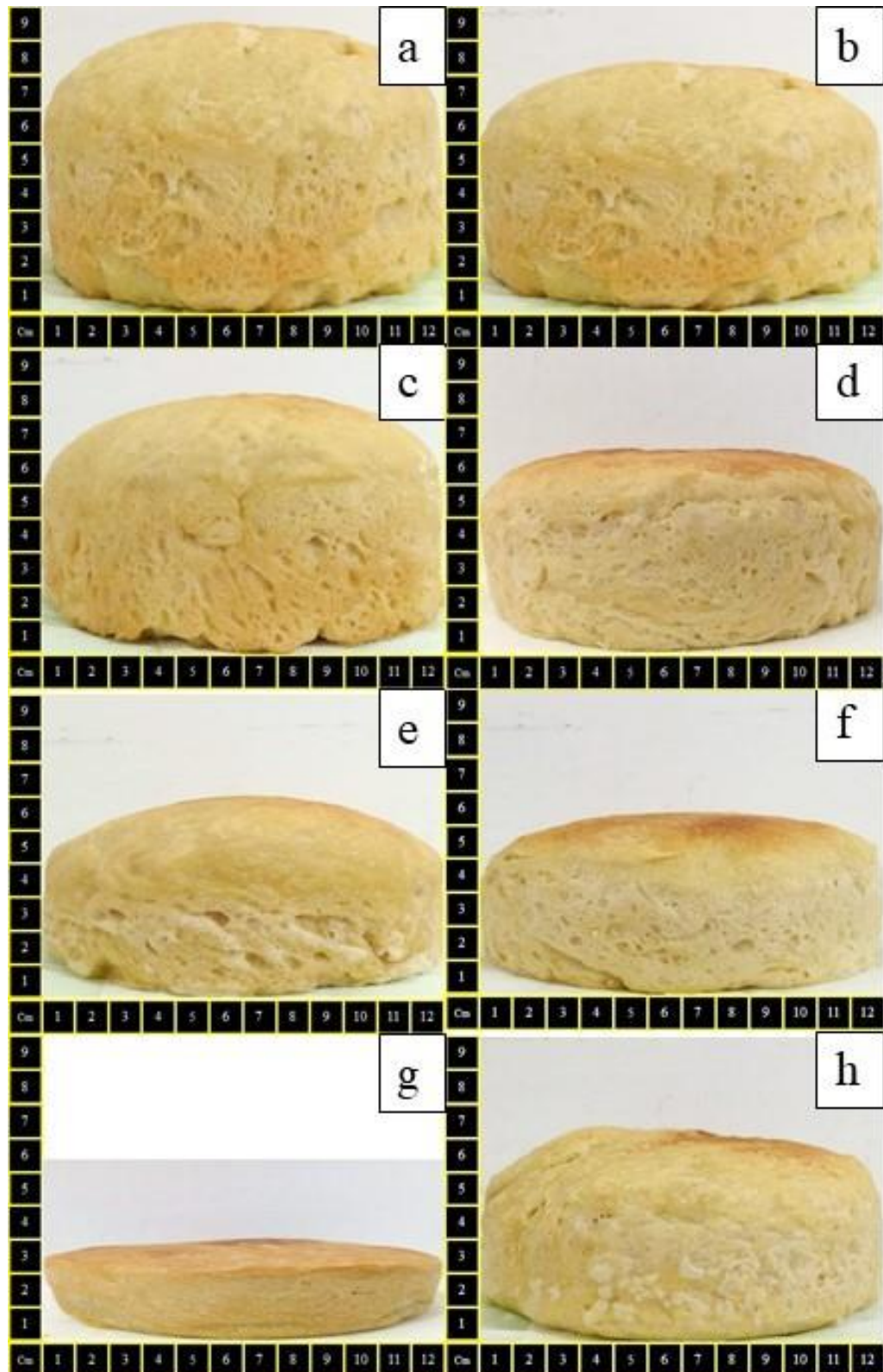
Dalam mekanismenya, urea dapat dimanfaatkan oleh khamir ketika urea telah terhidrolisis menjadi amonium (Fitria & Lindasari, 2021). Ketika dalam suatu media pertumbuhan ataupun media fermentasi tersedia beberapa jenis sumber nitrogen, maka khamir akan memanfaatkan terlebih dahulu sumber nitrogen yang disukai kecuali amonium. Hal tersebut dikarenakan, penyerapan atau konsumsi amonium oleh khamir dapat dimulai ketika sumber nitrogen yang disukai telah digunakan terlebih dahulu. Akan tetapi terlepas dari itu semua, ketersediaan substrat dan strain yang digunakan merupakan faktor utama yang mempengaruhi pemanfaatan nitrogen selama fermentasi. Hal tersebut dikarenakan berkaitan dengan hasil dari regulasi diferensial dari permease yang terlibat dalam penyerapan molekul-molekul itu (Brice *et al.*, 2018). Dengan demikian, maka pemanfaatan urea sebagai sumber nitrogen memang dapat berpengaruh positif terhadap hasil fermentasi, akan tetapi untuk dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen, penyerapan urea membutuhkan waktu yang sedikit lama sehingga proses fermentasinya pun berlangsung sedikit lebih lambat.

Pada penelitian ini, pengamatan pengembangan volume adonan roti dilakukan selama 10 jam atau 600 menit. Akan tetapi, setelah menit ke-360 atau mulai dari menit ke-390, pada semua perlakuan menunjukkan penurunan persentase

pengembangan hingga 0%. Hal tersebut dikarenakan semakin lama waktu fermentasi maka khamir akan menghadapi berbagai tekanan kondisi yang dapat mempengaruhi kemampuannya dalam fermentasi. Salah satu tekanan yang dihadapi oleh khamir yaitu adanya kadar alkohol yang semakin tinggi. Sesuai dengan Azizah *et al.*, (2012), yang menyatakan bahwa waktu fermentasi akan mempengaruhi kadar alkohol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi maka akan semakin tinggi pula alkohol yang dihasilkan yang akan berakibat buruk terhadap pertumbuhan khamir. Pongcharoen *et al.*, (2018), menambahkan bahwa adanya konsentrasi alkohol yang semakin meningkat, maka secara negatif dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan sel khamir dan dapat merusak dinding sel, menurunkan laju pertumbuhan spesifik, meningkatkan kematian sel atau mengubah permeabilitas membran plasma dan sistem transportasi.

Fitria & Lindasari (2021), juga menyatakan apabila fermentasi terjadi semakin lama, maka alkohol yang dihasilkan semakin banyak yang dapat meracuni khamir itu sendiri. Hal tersebut dikarenakan alkohol akan teroksidasi menjadi asam-asam organik dan CO₂. Senyawa tersebut merupakan inhibitor bagi mikroorganisme yang dapat menyebabkan laju fermentasi lebih lambat hingga mengakibatkan kematian pada mikroorganisme. Selain itu, kematian pada mikroorganisme juga dapat disebabkan oleh nutrisi yang semakin berkurang. Maharani *et al.*, (2021), menambahkan bahwa waktu fermentasi yang terlalu lama akan menyebabkan tidak tersedianya nutrisi yang dibutuhkan oleh khamir. Sehingga khamir akan menggunakan gula yang tersisa pada akhir fermentasi yang mengakibatkan penurunan efisiensi fermentasi.

Adanya proses pemanggangan pada adonan roti juga dapat meningkatkan volume pada roti setelah di panggang. Hal tersebut sesuai dengan Husin *et al.*, (2019), pada saat proses pemanggangan, khamir akan terus memproduksi gas CO₂ hingga suhu sekitar 55 °C khamir akan rusak. Semakin meningkatnya suhu pemanggangan, kelarutan CO₂ pada adonan akan menurun yang selanjutnya CO₂ akan menguap. Pada saat yang sama, tekanan uap air jenuh akan meningkat secara luas yang mengakibatkan gas meluas pula, sehingga mendorong adonan untuk meregang dan mengembang. Pada pemanggangan lebih lanjut terjadi proses koagulasi protein dan gelatinisasi pati. Hal ini yang menyebabkan struktur dari adonan roti menjadi lebih kaku dan lebih berongga. Pada suhu sekitar 72 °C, adonan roti kehilangan kemampuan untuk menahan gas CO₂, sehingga gas keluar dari adonan dan adonan tidak mengembang lagi. Hasil pemanggangan roti seperti pada gambar 4.5.



Gambar 4.5. Volume roti setelah dipanggang pada semua perlakuan. (a) YIS-3 urea 0,05%; (b) YIS-3 urea 0%; (c) YIS-4 urea 0,05%; (d) YIS-4 urea 0%; (e) YIS-7 urea 0,05%; (f) YIS-7 urea 0%; (g) Kontrol negatif; (h) Kontrol positif (Dok. Pribadi)

Berdasarkan hasil penelitian pada gambar 4.5 dan lampiran 6, terlihat bahwa roti yang difermentasi oleh semua isolat dengan perlakuan urea 0,05% menunjukkan pengembangan yang lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan urea 0% maupun dengan kontrol positif dan negatif. Sesuai dengan Ramirez-Wong *et al.*, (2014), peningkatan kadar nitrogen berkorelasi secara signifikan dengan peningkatan volume pada roti. Hal tersebut dikarenakan senyawa nitrogen dapat meningkatkan komponen protein yang berupa gliadin dan glutenin. Zhen *et al.*, (2020), juga menyatakan bahwa kekuatan gluten dipengaruhi oleh senyawa nitrogen, sehingga pemberian senyawa nitrogen mampu meningkatkan jumlah semua protein gliadin dan glutenin. Menurut Gobert *et al.*, (2016), nitrogen merupakan nutrisi penting yang dibutuhkan khamir selama fermentasi alkohol. Nitrogen terlibat dalam biosintesis protein, asam amino, nukleotida, dan metabolit lainnya, termasuk senyawa volatil. Roca-Mesa (2020), juga menambahkan bahwa selama fermentasi alkohol, senyawa nitrogen merupakan nutrisi yang sebagian besar akan diasimilasi oleh khamir setelah senyawa karbon. Senyawa tersebut akan terlibat dalam metabolisme dan pertumbuhan khamir sehingga dapat meningkatkan fermentasi.

Dalam sebuah adonan, gas CO₂ yang dihasilkan oleh khamir tidak dapat dilepaskan ke udara bebas karena terperangkap oleh protein gluten. Menurut Prasetyo (2019), gluten adalah protein kompleks yang terdapat pada terigu yang terdiri dari glutenin dan gliadin, dimana gluten ini memberikan sifat elastis pada adonan. Gluten membutuhkan hidrasi yang cukup dan pengadukan untuk dapat menyebabkan terjadinya crosslinking antara glutenin dan gliadin sehingga terbentuk protein yang saling terhubung dan mampu memerangkap gas di dalam

adonan. Arif dkk., (2019), menambahkan bahwa glutenin dan gliadin merupakan fraksi utama dari gluten. Gliadin berkontribusi pada viskositas dan ekstensibilitas adonan, sedangkan glutenin berkontribusi terhadap elastisitas adonan (Castro *et al.*, 2018). Dengan adanya dua fraksi tersebut, maka CO₂ yang terbentuk akan tertahan dan menyebabkan volume adonan mengembang. Asthir *et al.*, (2016), juga menambahkan bahwa glutenin dan gliadin berperan penting dalam menentukan kualitas pemanggangan roti karena mempengaruhi daya serap air pada adonan.

Selain faktor nutrisi, jenis isolat yang digunakan juga sangat mempengaruhi keberhasilan proses fermentasi. Pada saat penelitian, isolat YIS-3 dan YIS-4 mempunyai kemampuan yang tidak jauh beda dalam mengembangkan adonan roti. Sedangkan untuk YIS-7 mempunyai kemampuan yang sedikit lebih lambat jika dibandingkan dengan YIS-3 dan YIS-4. Hal tersebut dikarenakan isolat YIS-3 dan YIS-4 merupakan khamir dari genus *Saccharomyces*. Menurut Saragih dkk., (2017), sebagian besar mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi adonan roti adalah dari golongan *Saccharomyces*. Mikroorganisme tersebut mampu mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan alkohol. Irmayuni dkk., (2021), juga menyatakan bahwa khamir jenis *Saccharomyces* memiliki beberapa kelebihan, diantaranya yaitu cepat berkembang biak, mampu menyesuaikan diri terhadap suhu tinggi, mempunyai sifat stabil, serta mudah melakukan adaptasi dengan lingkungannya.

Terdapat beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi proses fermentasi, diantaranya yaitu suhu dan juga pH. Pada saat penelitian, suhu yang digunakan yaitu suhu ruang berkisar antara 25 °C-27 °C. Menurut Nimpuno (2019), suhu optimal untuk fermentasi pada adonan roti berkisar antara 24-27 °C. Pada suhu

tersebut, khamir akan bekerja secara optimal dalam memproduksi produk fermentasi berupa alkohol dan CO₂. Apabila fermentasi terjadi diatas suhu optimal, maka adonan akan mengembang lebih cepat akibat dari aktivitas khamir yang terlalu cepat berkembang biak. Sebaliknya, apabila fermentasi dilakukan di bawah suhu optimal maka akan memperlambat proses fermentasi karena aktivitas khamir dapat terhambat (Yunindya & Murtini, 2020).

Faktor lain yang mempengaruhi fermentasi yaitu pH. Pada saat penelitian berlangsung pH adonan awal yaitu 6,8. Sedangkan pH setelah berlangsungnya fermentasi menurun dari 6 hingga 5. Hal tersebut sesuai dengan Paran (2009) yang menyatakan bahwa pH optimum untuk fermentasi berkisar antara 4 sampai 6. Apabila pH berada di bawah kisaran tersebut maka aktivitas khamir akan semakin lambat. Atmodjo (2017), juga menyatakan bahwa pada fermentasi alkohol terjadi melalui siklus glikolisis sehingga produk yang dihasilkan bersifat asam seperti asam piruvat dan asetaldehida yang mengakibatkan terjadinya penurunan pH. Hendrawan dkk., (2018), menambahkan bahwa pada proses fermentasi terbentuk produk berupa asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat, dan asam piruvat sehingga pH setelah fermentasi dapat menurun.

4.2.2 Organoleptik Roti

Pengujian organoleptik dilakukan dengan metode hedonik yang melibatkan sejumlah 30 panelis. Pengujian ini dilakukan pada semua atribut roti yang meliputi tekstur, warna, aroma, dan rasa pada roti. Menurut Pusuma (2018), uji organoleptik metode hedonik merupakan suatu metode pengujian yang bertujuan untuk mengetahui kelayakan dan tingkat kesukaan panelis terhadap suatu produk.

Choiriyah & Dewi (2020) juga menyatakan bahwa metode hedonik (kesukaan) dilakukan dengan melibatkan skor tertentu sehingga dapat memberikan gambaran produk yang diterima oleh konsumen. Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis pada lampiran 10, menunjukkan $P < 0,05$, artinya H_0 ditolak sehingga terdapat perbedaan nyata perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7 dan P8) terhadap atribut aroma, warna, tekstur, dan rasa dengan penambahan sumber nitrogen pada media pertumbuhan khamir (YIS-3, YIS-4 dan YIS-7). Untuk mengetahui pengaruh nyata diantara masing-masing perlakuan, maka dilakukan uji lanjut Mann-Whitney. Hasil uji lanjut Mann-Whitney ditampilkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil uji lanjut Mann-Whitney

Parameter	Nilai mean uji hedonik sampel							
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
Warna	3.97 ±	3.43 ±	3.67 ±	3.43 ±	3.40 ±	3.57 ±	2.90 ±	2.13 ±
	0.718 ^a	0.728 ^b	0.884 ^{ab}	0.626 ^b	0.770 ^b	0.728 ^b	0.995 ^c	1.008 ^d
Aroma	3.70 ±	3.60 ±	3.47 ±	3.07 ±	2.90 ±	3.03 ±	2.40 ±	1.80 ±
	0.750 ^a	0.932 ^a	0.973 ^{ab}	0.980 ^{bc}	0.923 ^c	0.964 ^{bc}	1.192 ^d	0.847 ^e
Tekstur	3.83 ±	3.57 ±	3.47 ±	3.30 ±	3.00 ±	3.13 ±	2.63 ±	1.67 ±
	0.747 ^a	0.935 ^{ab}	0.973 ^{abc}	0.837 ^{bc}	0.788 ^c	1.042 ^{bc}	0.809 ^d	1.124 ^e
Rasa	3.90 ±	3.43 ±	3.83 ±	3.23 ±	3.17 ±	3.07 ±	2.27 ±	1.73 ±
	0.885 ^a	0.858 ^{ab}	0.791 ^a	0.728 ^b	1.020 ^b	0.944 ^b	0.980 ^c	0.785 ^d

Parameter warna merupakan kriteria pertama yang secara visual dapat dinilai oleh konsumen. Warna yang menarik akan memunculkan daya tarik tersendiri bagi konsumen. Hal tersebut sesuai dengan Putri (2017) yang menyatakan

bahwa penentuan mutu pangan sebagian besar bergantung pada warna khas yang dimilikinya. Warna yang tidak menyimpang dari produk aslinya maka akan memberikan kesan tersendiri dari konsumen. Saepudin (2017), juga menambahkan bahwa warna juga dapat digunakan sebagai indikator kematangan maupun kesegaran suatu produk pangan. Penentuan kualitas suatu bahan pangan tergantung dari beberapa indikator penilaian, akan tetapi sebelum indikator lain diperhitungkan, atribut warna merupakan indikator utama yang dapat menentukan mutu suatu bahan pangan. Warna permukaan roti setelah dipanggang ditunjukkan pada lampiran 8.

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann Whitney parameter warna pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa semua perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5, dan P6) berbeda nyata dengan kontrol positif (P7) dan kontrol negatif (P8). Artinya masing-masing perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap respon panelis pada atribut warna. Nilai uji organoleptik pada atribut warna berkisar antara 2,13-3,97 yang menandakan respon panelis antara suka dan tidak suka. Nilai rata-rata tertinggi yaitu P1 yang merupakan perlakuan urea 0,05% pada YIS-3 dengan nilai 3,97 (suka). Jika dibandingkan dengan kontrol positif, panelis lebih menyukai warna pada YIS-3 perlakuan urea 0,05%. Hal tersebut dikarenakan warna yang dihasilkan merupakan warna khas coklat pada roti. Sedangkan nilai rata-rata terendah yaitu P8 atau kontrol negatif dengan nilai 2,13 (tidak suka). Hal tersebut dikarenakan pada kontrol negatif tidak terdapat aktivitas khamir yang melakukan fermentasi pada adonan roti sehingga tidak terjadi reaksi *maillard* maupun karamelisasi gula yang menyebabkan terbentuknya warna.

Menurut Sitepu (2019), konsentrasi khamir yang ditambahkan pada adonan juga merupakan faktor yang mempengaruhi terbentuknya warna. Hal tersebut dikarenakan apabila konsentrasi khamir meningkat maka semakin meningkat pula pati yang dikonversi menjadi gula, sehingga reaksi maillard dan karamelisasi gula terjadi semakin cepat yang mengakibatkan pembentukan crust yang semakin coklat. Adanya crust yang terbentuk merupakan akibat dari pemanggangan. Selik & Gokmen (2020), juga menyatakan bahwa reaksi *Maillard* dimulai dengan adanya interaksi gula pereduksi dan gugus amino bebas atau sisi amino yang terikat peptida/protein rantai. Sedangkan karamelisasi gula merupakan suatu proses degradasi gula yang diakibatkan oleh adanya pemanasan di atas titik leburnya, sehingga menyebabkan terbentuknya warna coklat pada roti (Sitepu, 2019). Purlis (2010), menambahkan bahwa perkembangan pencoklatan pada produk roti merupakan proses yang dinamis terutama dipengaruhi oleh suhu, aktivitas air, dan hasil dari produksi akumulasi senyawa berwarna selama proses pemanggangan, yaitu senyawa HMF dan melanoidin.

Selain warna, parameter aroma juga mempunyai peranan penting dalam menentukan kualitas suatu produk makanan. Aroma dapat dikenali dengan indera penciuman. Ketika aroma masuk ke dalam hidung, maka terjadi rangsangan kimia oleh syaraf-syaraf olfaktori yang berada di dalam rongga hidung, sehingga konsumen dapat menilai produk tersebut (Saepudin, 2017). Menurut Heitmann *et al.*, (2017), senyawa yang berperan dalam terbentuknya aroma dihasilkan oleh aktivitas khamir pada saat berlangsungnya fermentasi.

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann-Whitney atribut aroma pada tabel 4.1 dengan taraf signifikansi 5%, menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara

kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5 dan P6) dengan kelompok kontrol positif dan negatif (P7 dan P8). Nilai uji organoleptik pada atribut aroma berkisar antara 1,80-3,70 yang menandakan respon panelis antara suka dan tidak suka. Nilai rata-rata tertinggi dihasilkan oleh P1 yaitu perlakuan urea 0,05% pada YIS-3 dengan nilai 3,70 (suka). Jika dibandingkan dengan kontrol positif, panelis lebih menyukai aroma pada YIS-3 perlakuan urea 0,05%. Hal tersebut dikarenakan pada kontrol positif terjadi penumpukan flavor akibat dari fermentasi yang terlalu cepat sehingga dapat menghilangkan aroma khas pada roti (Sitepu, 2019). Sedangkan nilai rata-rata terendah dihasilkan oleh P8 yang merupakan kontrol negatif dengan nilai 1,80 (tidak suka). Pada kontrol negatif tidak terdapat aktivitas khamir yang melangsungkan fermentasi sehingga aroma yang terbentuk seperti halnya aroma tepung.

Menurut Heitmann *et al.*, (2017), aroma yang terbentuk pada roti merupakan akibat dari adanya aktivitas fermentasi khamir. Pada saat fermentasi, khamir melakukan metabolisme dengan menghasilkan beberapa jenis senyawa volatil seperti alkohol, aldehida, ester, dan keton. Semua senyawa tersebut berkontribusi besar dalam terbentuknya aroma pada roti. Cho & Paterson (2010), menambahkan bahwa produk dari reaksi maillard mengarah pada pembentukan senyawa-senyawa penting yang berkontribusi dalam pembentukan aroma pada roti. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya yaitu pirazin, pirol dan pirolin, oksazol, tiofena, dan senyawa heterosiklik yang mengandung belerang.

Selain adanya senyawa volatil, selama proses fermentasi berlangsung, khamir akan memproduksi sejumlah enzim. Enzim protease, lipase, dan amilase diketahui berperan penting terhadap aroma dan rasa. Sisa gula terutama glukosa dan

fruktosa yang berasal dari amilase berpartisipasi dalam reaksi maillard selama proses pemanggangan. Sedangkan enzim protease dapat meningkatkan asam amino dan konsentrasi peptida sebagai prekursor untuk memproduksi aroma pada saat terjadinya reaksi maillard (Heitmann *et al.*, 2017). Starowicz & Zieliński (2019) juga menyatakan bahwa senyawa turunan maillard yang bertanggung jawab untuk pembentukan aroma dalam sampel makanan dapat dibagi menjadi tiga kelas molekul, diantaranya yaitu senyawa yang mengandung oksigen (2,3-pentadione, 3-methylbutanal dan furaneol), senyawa yang mengandung nitrogen (2-acetyl-1-pyrroline), dan senyawa yang mengandung balerang (methional). Paravisini *et al.*, (2019), menambahkan bahwa perubahan gula yang mengandung rasio N dapat memiliki dampak yang signifikan pada jalur pembentukan Maillard dengan memodulasi generasi intermediet reaktif dan akhirnya memodifikasi fraksi aroma yang mudah menguap.

Tekstur merupakan salah satu faktor yang memberikan pengaruh besar terhadap penerimaan suatu produk oleh konsumen. Menurut Jamilah dan Khaerunnisa (2019), tekstur pada produk makanan merupakan kombinasi antara kekerasan, kekenyalan dan kerenyahan. Menurut Fadiati (2021), tekstur merupakan sifat jaringan yang dirasa pada bagian dalam jika roti dipotong atau diiris. Makmur (2018), juga menyatakan bahwa tekstur merupakan sekelompok sifat fisik yang di timbulkan oleh element struktural bahan pangan yang dapat di rasa oleh peraba yang di ukur secara organoleptik mata, waktu dan jarak. Tekstur yang terbentuk pada roti erat kaitannya dengan proses pengembangan pada adonan roti. Sesuai dengan Sitepu (2019), yang menyatakan bahwa adonan yang memiliki daya

kembang yang baik akan menghasilkan roti dengan tekstur yang empuk. Tekstur roti setelah dipanggang ditunjukkan pada lampiran 9.

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann Whitney atribut tekstur pada tabel 4.1 dengan taraf signifikansi 5%, menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5 dan P6) dengan kelompok kontrol positif dan negatif (P7 dan P8). Nilai uji organoleptik pada atribut tekstur berkisar antara 1,67-3,83 yang menandakan respon panelis antara suka dan tidak suka. Nilai rata-rata tertinggi dihasilkan oleh P1 yaitu perlakuan urea 0,05% pada YIS-3 dengan nilai 3,83 (suka). Jika dibandingkan dengan kontrol positif, panelis lebih menyukai tekstur pada YIS-3 perlakuan urea 0,05%. Hal tersebut dikarenakan adanya konsentrasi khamir dan waktu yang sesuai, maka fermentasi akan bekerja secara optimal sehingga produk yang dihasilkan akan membentuk pori adonan dengan sempurna serta menghasilkan tekstur yang empuk pada roti. Sedangkan pada kontrol positif adonan mengalami *over proof* yang menjadikan adonan lembek dan berair sehingga setelah dilakukan pemanggangan, pori yang terbentuk pada roti kurang sempurna (Sutomo, 2007).

Adapun nilai rata-rata terendah dihasilkan oleh P8 yang merupakan kontrol negatif dengan nilai 1,67 (tidak suka). Pada kontrol positif tidak terjadi pengembangan sehingga tidak terbentuk pori pada roti yang mengakibatkan tekstur roti keras. Menurut Choiriyah & Dewi (2020), tekstur yang terbentuk pada roti merupakan akibat dari adanya produk fermentasi khamir berupa alkohol dan CO₂. CO₂ tersebut akan terdispersi dalam bentuk gelembung-gelembung halus yang ditahan oleh gluten akibat adanya perlakuan mekanis. Dengan demikian setelah dilakukan pemanggangan maka akan terbentuk pori-pori yang halus pada

roti dan juga tekstur yang empuk. Fadiati (2021), juga menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi tekstur adalah penggunaan tepung dan waktu proofing roti. Pada penelitian ini waktu proofing kedua yang digunakan yaitu 30 menit.

Adiluhung & Sutrisno (2019) menyatakan bahwa durasi waktu proofing menyebabkan peningkatan volume roti serta peningkatan ukuran pori-pori. Hal tersebut diduga karena adanya aktivitas metabolisme ragi menghasilkan gas CO₂. Pori yang membesar diduga karena adanya peningkatan jumlah gas CO₂ yang mampu ditahan oleh jaringan gluten pada adonan. Sterowicz & Zieliński (2019), menambahkan bahwa reaksi *maillard* juga berkontribusi pada pembentukan tekstur melalui beberapa mekanisme, diantaranya yaitu pembentukan ikatan silang protein, terbentuknya sifat emulsi, dan pembentukan konjugat protein-polisakarida. Akan tetapi sebagian besar yang paling mempengaruhi tekstur pada roti yaitu adanya ikatan silang protein. Hal tersebut dikarenakan ikatan protein yang terbentuk berkaitan dengan pembentukan jaringan gluten.

Rasa merupakan faktor yang paling menentukan keputusan bagi panelis untuk menerima atau menolak suatu produk. Rasa yang timbul pada roti disebabkan oleh bahan penyusun roti dan juga proses pembuatan roti. Pada saat proses pembuatan roti terjadi fermentasi adonan yang menghasilkan suatu produk berupa alkohol, asam, dan ester-ester yang berkontribusi dalam terbentuknya rasa (Saepudin, 2017).

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann Whitney atribut rasa pada tabel 4.1 dengan taraf signifikansi 5%, menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5 dan P6) dengan kelompok kontrol positif dan negatif (P7 dan P8). Nilai uji organoleptik pada atribut rasa berkisar antara

1,73-3,90 yang menandakan respon panelis antara suka dan tidak suka. Nilai rata-rata tertinggi dihasilkan oleh P1 yaitu perlakuan urea 0,05% pada YIS-3 dengan nilai 3,90 (suka). Sedangkan nilai rata-rata terendah dihasilkan oleh P8 yang merupakan kontrol negatif dengan nilai 1,73 (tidak suka). Rasa yang terbentuk pada roti merupakan akibat dari reaksi maillard dan juga karamelisasi gula. Hal tersebut sesuai dengan Sitepu (2019) yang menyatakan bahwa selain berperan pada terbentuknya warna dan aroma, reaksi maillard dan karamelisasi gula juga berkontribusi dalam terbentuknya rasa. Menurut Mildner *et al.*, (2017), melalui reaksi Maillard, asam amino bebas dan gula pereduksi berinteraksi untuk menghasilkan beberapa senyawa diantaranya yaitu alkohol, aldehida, ester, eter, keton, asam, furan, hidrokarbon, lakton, pirazina, pirolin, dan senyawa belerang.

Suyadi dkk., (2012) menambahkan bahwa dengan adanya senyawa non volatil, asam volatil, dan senyawa karbonil selama fermentasi, maka akan terbentuk cita rasa yang khas pada roti. Oleh karena itu, pada saat penelitian atribut rasa, panelis lebih menyukai kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok kontrol positif, dalam waktu yang sama terbentuk banyak senyawa asam karena laju fermentasinya yang tinggi sehingga menghilangkan rasa khas pada roti. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif tidak terjadi proses fermentasi sehingga tidak terbentuk rasa khas pada roti. Selain itu, bahan yang digunakan selama proses pembuatan roti juga berkontribusi besar dalam terbentuknya rasa, terutama adanya gula. Gula yang ditambahkan pada adonan roti, selain sebagai substrat khamir untuk melakukan fermentasi, gula juga berperan dalam memberikan rasa manis pada roti (Sitepu, 2019). Heitmann *et al.*, (2017) juga menyatakan bahwa salah satu enzim yang berperan penting dalam

terbentuknya rasa yaitu enzim lipase. Aktivitas lipase bertanggung jawab untuk produksi lemak rantai pendek asam dan karena itu menginduksi perubahan komposisi lipid, yang juga berkontribusi terhadap perubahan rasa.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Perlakuan penambahan unsur nitrogen berupa urea konsentrasi 0,05% pada media pertumbuhan khamir, dapat meningkatkan pertumbuhan khamir yang dilihat dari biomassa dan jumlah sel khamir. Jumlah biomassa yang dihasilkan pada YIS-3 yaitu 3,66 gram/300 ml, YIS-4 yaitu 3,71 gram/300 ml, dan YIS-7 yaitu 3,81 gram/300 ml. Sedangkan jumlah sel yang didapatkan pada YIS-3 yaitu $29,02 \times 10^6$ sel/ml, YIS-4 yaitu $20,24 \times 10^6$ sel/ml, dan YIS-7 yaitu $16,16 \times 10^6$ sel/ml.
2. Persentase pengembangan volume roti pada isolat YIS-3, YIS-4, dan YIS-7 perlakuan urea 0,05% menunjukkan peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif. Akan tetapi pada waktu pengembangan menit ke-60, kecepatan pengembangan tertinggi dihasilkan oleh kontrol positif, yaitu hingga 41,51%. Berdasarkan uji lanjut Mann Whitney pada atribut warna, rasa, aroma, dan tekstur menunjukkan bahwa panelis lebih menyukai roti hasil fermentasi dari YIS-3 perlakuan urea 0,05%. Sedangkan perlakuan yang tidak disukai yaitu pada kontrol negatif.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dikemukakan beberapa saran yang bertujuan agar dilakukan perbaikan oleh peneliti berikutnya, diantaranya yaitu:

1. Dilakukan pengamatan terhadap faktor-faktor lingkungan tiap 30 menit selama berlangsungnya fermentasi adonan roti serta dilakukan pemanggang roti pada menit ke-45 agar diketahui perbedaan organoleptik pada kontrol positif dan juga dapat diketahui tingkat kesukaan panelis.
2. Jumlah sel yang digunakan sebagai agen pengembang adonan roti disamakan agar dapat diketahui kemampuan dari masing-masing jenis isolat khamir yang digunakan.
3. Perlu dilakukan identifikasi secara molekuler agar dapat diketahui jenis khamir yang digunakan pada saat penelitian.
4. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut terhadap kandungan biomassa yang diperoleh, termasuk didalamnya kandungan protein, karbohidrat dan lipid.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiluhung, W. D., & Sutrisno, A. (2019). Pengaruh Konsentrasi Glukomannan Dan Waktu Proofing terhadap Karakteristik Tekstur dan Organoleptik Roti Tawar Beras (*Oryza Sativa*) Bebas Gluten. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 6(4).
- Akbar, G. P., Kusdiyantini, E., & Wijanarka, W. (2019). Isolasi dan Karakterisasi secara Morfologi dan Biokimia Khamir dari Limbah Kulit Nanas Madu (*Ananas comosus* L.) untuk Produksi Bioetanol. *Berkala Bioteknologi*.
- Alfiyanti, E., & Putri, D. H. (2020). Precision Enumeration of The Number of Bacterial Sells with The Spread Plate Method using Dilution. *Serambi Biologi*, 5(1).
- Anggorowati, D. A., & Purwati, P. (2015). Pengaruh Suhu dan Penambahan Nutrisi pada Proses Fermentasi untuk Pembuatan Bioethanol dari Sabut Kelapa. *Jurnal Ilmiah MITSU*, 3(1).
- Anggraini, I. A., Ferniah, R. S., & Kusdiyantini, E. (2019). Isolasi Khamir Fermentatif dari Batang Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*. L) dan Hasil Identifikasinya Berdasarkan Sekuens Internal Transcribed Spacer. *Berkala Bioteknologi*.
- Arif, D. Z. (2019). Kajian Perbandingan Tepung Terigu (*Triticum aestivum*) dengan Tepung Jewawut (*Setaria italica*) terhadap Karakteristik Roti Manis. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*, 5(3), 180-189.
- Arwini, N. P. D. (2021). Roti, Pemilihan Bahan dan Proses Pembuatan. *Jurnal Ilmiah Vastuwidya*, 4(1), 33-40.
- Ashshoffa, F. N. D., & Yuliani, Y. (2019). Pengaruh Media Propagasi MYE (Malt Yeast Extract) dan MS (Murashige and Skoog) terhadap Diameter dan Berat Talus Lichen *Parmelia sulcata* secara In Vitro. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 8(3).
- Asthir, B., Jain, D., Kaur, B., & Bain, N. S. (2017). Effect of Nitrogen on Starch and Protein Content in Grain Influence of Nitrogen Doses on Grain Starch and Protein Accumulation in Diversified Wheat Genotypes. *Journal of Environmental Biology*, 38(3), 427.
- Atmodjo, K. (2018). Optimalisasi Gula Cair dan pH Medium untuk Fermentasi Alkohol dari Jus Curucuma xanthorhiza. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 3(2), 97-104.
- Azhar, A. (2017). Manusia dan Sains dalam Perspektif Al-Quran. *Lantanida Journal*, 4(1), 72-86.
- Azizah, N., Al-Barrii, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, PH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3).
- Barbedo, J. G. A. (2013). Automatic Object Counting in Neubauer Chambers. In *Embrapa Informática Agropecuária-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE TELECOMUNICAÇÕES, 31., 2013, Fortaleza.[Anais...]. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Telecomunicações, 2013.

- Batista, K. A., Bataus, L. A. M., Campos, I. T., & Fernandes, K. F. (2013). Development of Culture Medium using Extruded Bean as a Nitrogen Source for Yeast Growth. *Journal of microbiological methods*, 92(3), 310-315.
- Birch, A. N., Berg, F. W.J. van Den, & Hansen, A. S. (2013). Expansion Profiles of Wheat Doughs Fermented by Seven Commercial Baker's Yeasts. *Journal of Cereal Science*. .doi.org/10.1016/j.jcs.2013.05.009.
- Brice, C., Cubillos, F. A., Dequin, S., Camarasa, C., & Martínez, C. (2018). Adaptability of the *Saccharomyces cerevisiae* Yeasts to Wine Fermentation Conditions Relies on Their Strong Ability to Consume Nitrogen. *PloS one*, 13(2), e0192383.
- Broach, James R. (2012). Nutritional Control of Growth and Development in Yeast. *Genetics*. 192.73-105.
- Buratti, S., Benedetti, S. (2016). Alcoholic Fermentation using Electronic Nose and Electronic Tongue. *Electronic Noses and Tongues in Food Science*, p. 291. doi:10.1016/b978-0-12-800243-8.00028-7.
- Castro, A. C., Fleitas, M. C., Schierenbeck, M., Gerard, G. S., & Simón, M. R. (2018). Evaluation of Different Fungicides and Nitrogen Rates on Grain Yield and Bread-Making Quality in Wheat Affected by *Septoria tritici* Blotch and Yellow Spot. *Journal of cereal science*, 83, 49-57.
- Çelik, E. E., & Vural, G. (2020). Formation of Maillard Reaction Products in Bread Crust-like Model System Made of Different Whole Cereal Flours. *European Food Research and Technology= Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung. A*, 246(6), 1207-1218.
- Chendawati. 2013. *Roti Modern*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Cho, I. H., & Peterson, D. G. (2010). Chemistry of Bread Aroma: A review. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 575-582.
- Choi, M. H., & Park, Y. H. (2003). Production of Yeast Biomass using Waste Chinese Cabbage. *Biomass and Bioenergy*, 25(2), 221-226.
- Choiriyah, N. A., & Dewi, I. C. (2020). Daya Terima Roti Tawar Mocaf dan Ubi Jalar pada Santriwati Pesantren X. *MEDIA PERTANIAN*, 5(1).
- Cueto-Rojas, H. F., Milne, N., van Helmond, W., Pieterse, M. M., van Maris, A. J., Daran, J. M., & Wahl, S. A. (2017). Membrane Potential Independent Transport of NH₃ in the Absence of Ammonium Permeases in *Saccharomyces cerevisiae*. *BMC systems biology*, 11(1), 1-13.
- Dewi, R., Wijanarka, W., & Pujiyanto, S. (2018). Pengaruh Penambahan Tepung Azolla Sp. dan Perbedaan Waktu Inkubasi terhadap Produksi Inulinase Khamir *Pichia manshurica* DUCC Y-015 pada Medium Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia Variabilis* Willd.). *Jurnal Akademika Biologi*, 7(4), 7-13.
- Fadiati, A. (2021). Daya Terima Konsumen pada Roti Soft Roll (Studi Tentang Pengaruh Penggunaan Ragi Alami Sourdough Berbasis Umbi-Umbian). *TEKNOBUGA: Jurnal Teknologi Busana dan Boga*, 9(1), 239-247.
- Firdaus, F. (2019). Dasar Integrasi Ilmu dalam Alquran. *Al-Hikmah: Jurnal Agama dan Ilmu Pengetahuan*, 16(1), 23-35.
- Fitria, A. N., & Zulaika, E. (2019). Aklimatisasi pH dan Pola Pertumbuhan *Bacillus cereus* S1 pada Medium MSM Modifikasi. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2), 39-41.

- FITRIA, N., & LINDASARI, E. (2021). Optimasi Perolehan Bioetanol dari Kulit Nanas (*Ananas cosmosus*) dengan Penambahan Urea, Variasi Konsentrasi Inokulasi Starter dan Waktu Fermentasi. *Jurnal Reka Lingkungan*, 9(1), 1-10.
- Gobert, A., Tourdot-Maréchal, R., Sparrow, C., Morge, C., & Alexandre, H. (2019). Influence of Nitrogen Status in Wine Alcoholic Fermentation. *Food microbiology*, 83, 71-85.
- Gu, J. D. (2016). More Than Simply Microbial Growth Curves. *Applied Environmental Biotechnology*, 2(1), 63-65.
- Hadi, M. I., & Alamudi, M. Y. (2019). *Imunodiagnostik pada Bakteri dan Jamur*. Zifatama Jawara.
- Hafsan. 2011. *Mikrobiologi Umum*. Makassar: Alauddin University Press.
- Halász, A., & Lásztity, R. (2017). *Use of Yeast Biomass in Food Production*. Routledge.
- Haryani, K., Hargono, H., Handayani, N. A., Ramadani, P., & Rezekia, D. (2017). Substitusi Terigu dengan Pati Sorgum Terfermentasi pada Pembuatan Roti Tawar: Studi Suhu Pemanggangan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2).
- Heitmann, M., Zannini, E., Axel, C., & Arendt, E. (2017). Correlation of Flavor Profile to Sensory Analysis of Bread Produced with Different *Saccharomyces cerevisiae* Originating from the Baking and Beverage Industry. *Cereal Chemistry*, 94(4), 746-751.
- Hendrawan, Y., Sumarlan, S. H., & Rani, C. P. (2018). Pengaruh pH dan Suhu Fermentasi terhadap Produksi Etanol Hasil Hidrolisis Jerami Padi. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 5(1), 1-8.
- Herawati, N. (2015). *Pichia pastoris* Yeast Penghasil Protein Terapeutik dan Vaksin Manusia. *Biotrends*, 6(1), 14-17.
- Hesham, A. E. L., Mostafa, Y. S., & AlSharqi, L. E. O. (2020). Optimization of Citric Acid Production by Immobilized Sells of Novel Yeast Isolates. *Mycobiology*, 48(2), 122-132.
- Hidayat, Nur., Meitiniarti, Irene, Yuliana, Neti. 2018. *Mikroorganisme dan Pemanfaatannya*. Malang: UB Press.
- Husin, H., Rahmi, S., & Pakpahan, N. (2019). Pengaruh Substitusi Tepung Modified Cassava Flour (Mocaf) dan Lama Suhu Pemanggangan Terhadap Mutu Roti Manis. In *Prosiding Seminar Nasional Pertanian* (Vol. 2, No. 1).
- Ibrahim, A. M., Pradana, A. F., Priyosakti, G., Arifin, M., Alawiyah, T., & Perlansyah, P. (2020). Potensi Tanaman Pandan Laut (*Pandanus Tectorius*) dan Limbah Industri Gandum Kota Cilegon sebagai Bahan Baku Sintesis Bioetanol. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 38(2), 91-104.
- Irmayuni, E., Nurmila, N., & Sukainah, A. (2021). Efektivitas Air Nira Lontar (*Borassus flabellifer*) sebagai Bahan Pengembang Adonan Kue Apem. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 4, 170-183.
- Ivit, N. N., Longo, R., & Kemp, B. (2020). The Effect of Non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces non-cerevisiae* Yeasts on Ethanol and Glycerol Levels in Wine. *Fermentation*, 6(3), 77.
- Jacques, N., & Casaregola, S. (2016). *Part X: The Hemiascomycetous Yeasts . Safety Assessment of Dairy Microorganisms : The hemiascomycetous*

- Yeasts ☆. November. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.020>.
- Jamilah, J., & Khaerunnisa, K. (2019). Aplikasi Tepung Kelapa dalam Produk Roti Manis. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 14(1), 1-10.
- Jang, K. A., & Lee, S. J. (2020). Prediction Method of CO₂ Production from Electrical Resistance of Bread Dough Measured with a Simple Electrical Multimeter in Fermentation. *Food science and biotechnology*, 29(2), 235-241.
- Kanti, A., & Latupapua, H. J. D. (2018). Identifikasi Keragaman Khamir yang Diisolasi dari Tanah Kebun Biologi Wamena Kabupaten Jayawijaya, Propinsi Papua. *JURNAL BIOLOGI INDONESIA*, 3(2).
- Karki, T. B., Timilsina, P. M., Yadav, A., Pandey, G. R., Joshi, Y., Bhujel, S., ... & Neupane, K. (2017). Selection and Characterization of Potential Baker's Yeast from Indigenous Resources of Nepal. *Biotechnology research international*, 2017.
- Khunnamwong, P., Jindamorakot, S., & Limtong, S. (2018). Endophytic Yeast Diversity in Leaf Tissue of Rice, Corn and Sugarcane Cultivated in Thailand Assessed by a Culture-Dependent Approach. *Fungal biology*, 122(8), 785-799.
- Lestari, A. D., & Maharani, S. Pengaruh Substitusi Tepung Talas Belitung (*Xanthosoma Sagittifolium*) terhadap Karakteristik Fisika, Kimia dan Tingkat Kesukaan Konsumen pada Roti Tawar. *EDUFORTECH*, 2(2).
- Linder, T. (2019). A genomic survey of nitrogen assimilation pathways in budding yeasts (sub-phylum Saccharomycotina). *Yeast*, 36(5), 259-273.
- Linder, T. (2019). Nitrogen Assimilation Pathways in Budding Yeasts. *Non-conventional yeasts: from basic research to application*, 197-236.
- 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.
- Maharani, M. M., Bakrie, M., & Nurlela, N. (2021). Pengaruh Jenis Ragi, Massa Ragi dan Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dari Limbah Biji Durian. *Jurnal Redoks*, 6(1), 57-65.
- Mahardika, G. R., & Pratikno, H. (2018). Analisis Ketahanan Mikroalga pada Material Baja AH 36 dengan Menggunakan Metode Impressed Current Anti Fouling (ICAF). *Jurnal Teknik ITS*, 7(2), G145-G149.
- Mahreni, M., & Sri Suhenry, S. (2011). Kinetika Pertumbuhan Sel *Sacharomyces cerevisiae* dalam Media Tepung Kulit Pisang. In *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" 2011* (pp. D03-1). JURUSAN TEKNIK KIMIA, FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS DIPONEGORO, SEMARANG Abstrak.
- Makmur, S. A. (2018). Penambahan Tepung Sagu dan Tepung Terigu pada Pembuatan Roti Manis. *Gorontalo Agriculture Technology Journal*, 1(1), 1-9.
- Maryam, B. M., Mohammed, S. S. D., & Ayodeji, O. A. (2017). Screening of Fermentative Potency of Yeast Isolats from Indigenous Sources for Dough Leavening. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2(1), 12.
- Matovic, Darko. 2011. *Biomass Detection, Production, and Usage*. Croatia: inTech.

- Maya, F. N., & Alami, N. H. (2019). Uji Potensi Isolat Khamir Dari Rhizosfer Mangrove Wonorejo dan Gunung Anyar Sebagai Agen Penghasil IAA (Indole Acetic Acid). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 8(1), 4-8.
- Mildner-Szkudlarz, S., Siger, A., Szwengiel, A., Przygoński, K., Wojtowicz, E., & Zawirska-Wojtasiak, R. (2017). Phenolic Compounds Reduce Formation of Nε-(carboxymethyl) Lysine and Pyrazines Formed by Maillard Reactions in a Model Bread System. *Food chemistry*, 231, 175-184.
- Mudjajanto, Eddy setyo dan Yulianti, Lilik Noor., 2004. *Membuat Aneka Roti*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Muhibuddin, A. (2016). Ethanol Fermentation Potency of Wild Yeast on Bamboo Rhizosphere. *Journal of Environmental Engineering and Sustainable Technology*, 3(2), 121-127.
- Muhibuddin, A., & Sektiono, A. W. (2018). Optimalisasi Fosfat untuk Meningkatkan Pertumbuhan Kerapatan Populasi dan Kemampuan Antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp. *SAINTEKBU*, 10(2), 27-41.
- Munteanu, G. M., Voicu, G., Ferdeş, M., Ştefan, E. M., Constantin, G. A., & Tudor, P. (2019). Dynamics of Fermentation Process of Bread Dough Prepared with Different Types of Yeast. *Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 20(4), 575-584.
- Murad, H. A., Hosseany, E. N., Elhamid, S.M.A., Khair, A.G.A., & Azzaz, H. H. (2019). Utilization of Hydrolized UF-Permeate Supplemented with Different Nitrogen Sources and Vitamins for Production of Baker's Yeast. *Biotechnology*, 18(2): 55-56.
- Muslihah, S. (2012). *Pengaruh Penambahan Urea dan Lama Fermentasi yang Berbeda terhadap Kadar Bioetanol dari Sampah Organik* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Nakamura, T., Tomita, S., & Saito, K. (2018). Metabolite Profiling in Dough during Fermentation. *Food Science and Technology Research*, 24(3), 509-517.
- Nawika, N., Astuti, P., & Santosa, H. L. (2017). Inovasi Pembuatan Roti Tawar dengan Penambahan Rumput Laut (*Eucheuma* sp) untuk Meningkatkan Kandungan Serat. *Jurnal Kompetensi Teknik*, 9(1), 60-67.
- Nimpuno, Diah. (2019). *Roti Buatan Rimah Klasik dan Kekinian*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Nisaa, Y. H. (2020). *Isolasi dan Uji Kemampuan Khamir Endofit dari Daging dan Kulit Buah Mangga (Mangifera indica l.) Varietas Podang sebagai Pengembang Adonan Roti* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Noercholis, A., & Wijaya, E. T. (2015). Image Processing pada Citra Mikroskopis Eritrosit dengan Hemocytometer untuk Menghitung Jumlah Eritrosit Dalam 1 mm³ Darah Ikan.
- Nurcholis, M., Fernando, D., Zubaidah, E., & Maligan, J. M. (2020). Isolasi dan Identifikasi Khamir Thermotolerant dan Ethanololerant Penghasil Bioetanol pada Buah Lokal Indonesia. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 8(3), 122-133.
- Nurhadianty, V., Cahyani, C., Nirwana, W. O. C., dan Dewi, L. K. (2018). *Pengantar Teknologi Fermentasi Skala Industri*. UB Press, Malang.

- Nwokoro, O., Ogbonna, J. C., Okpala, G. N., Ubani, C. S., & Anya, F. (2010). Effects of Various Inorganic Nitrogen Sources on the Growth and Biomass Production by *Candida utilis* Isolated from Fermenting Cassava Tubers. *Bio-Research*, 8(2).
- Ouedraogo, N., Savadogo, A., Somda, M. K., Tapsoba, F., Zongo, C., & Traore, A. S. (2017). Effect of Mineral Salts and Nitrogen Source on Yeast (*Candida utilis* NOY1) Biomass Production using Tubers Wastes. *African Journal of Biotechnology*, 16(8), 359-365.
- Paran, Sungkan. (2009). 100+ Tip Antigagal Bikin Roti, Cake, Pastry, & Kue Kering. Jakarta Selatan: PT Kawan Pustaka.
- Paravisini, L., Sneddon, K. A., & Peterson, D. G. (2019). Comparison of the Aroma Profiles of Intermediate Wheatgrass and Wheat Bread Crusts. *Molecules*, 24(13), 2484.
- Payadnya, Putu Ade Andre., Gusti Agung Ngurah Trisna Jayantika. (2018). *Panduan Penelitian Eksperimen Beserta Analisis Statistik dengan SPSS*. Sleman: CV Budi Utama.
- Pedro, A. Q., Oppolzer, D., Bonifacio, M. J., Maia, C. J., Queiroz, J. A., & Passarinha, L. A. (2015). Evaluation of Mut S and Mut+ *Pichia pastoris* Strains for Membrane-bound Catechol-O-methyltransferase Biosynthesis. *Applied biochemistry and biotechnology*, 175(8), 3840-3855.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. (2005). Dasar-dasar Mikrobiologi 1. Alih bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S. dan Angka, S. L. Jakarta: UI Press.
- Pérez-Torrado, R., Gamero, E., Gómez-Pastor, R., Garre, E., Aranda, A., & Matallana, E. (2015). Yeast biomass, an optimised product with myriad applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 46(2), 167-175.
- Periadnadi, P., Sari, D. K., & Nurmiati, N. (2018). Isolasi dan Keberadaan Khamir Potensial Pemfermentasi Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr.) dari Dataran Rendah dan Dataran Tinggi di Sumatera Barat. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 4(1), 29-36.
- Pongcharoen, P., Chawneua, J., & Tawong, W. (2018). High Temperature Alcoholic Fermentation by New Thermotolerant Yeast Strains *Pichia kudriavzevii* Isolated from Sugarcane Field Soil. *Agriculture and Natural Resources*, 52(6), 511-518.
- Prasetya, Yulianto Ade. (2019). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Surabaya: Qiara Media.
- Prasetyo, H. A. (2019). Proses Pembuatan Cake Menggunakan Tepung Komposit Terigu, Umbi Jalar dan Talas dengan Metode Experimental Design. *JUITECH: Jurnal Ilmiah Fakultas Teknik Universitas Quality*, 3(2), 44-51.
- Pratiwi, E., & Akhdiya, A. (2020). Keragaman Karakter Morfologi dan Biokimia Isolat Khamir Rizosfer dan Endofit Tanaman Padi. *Buletin Plasma Nutfah Vol*, 26(1), 39-50.
- Purba, J. A. (2017). *Potensi Antagonis Khamir terhadap Colletotrichum gloeosporioides Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Buah Mangga* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).

- Purlis, E. (2010). Browning Development in Bakery Products—A Review. *Journal of Food Engineering*, 99(3), 239-249.
- Pusuma, D. A., Praptiningsih, Y., & Choiron, M. (2018). Karakteristik Roti Tawar Kaya Serat yang Disubstitusi Menggunakan Tepung Ampas Kelapa. *Jurnal Agroteknologi*, 12(01), 29-42.
- Putri, Desiana Nuriza, Livia Windiana, dan Okta Pringga Pakpahan. 2020. *Teknologi Frozendough dan Sourdough*. Malang: UMM Press.
- Putri, S. A. (2016). *Hubungan antara Kadar Gula Reduksi, Jumlah Sel Mikrob dan Etanol dalam Produksi Bioetanol dari Fermentasi Air Kelapa dengan Penambahan Urea* (Doctoral dissertation, Riau University).
- Putri, V. N., Okfrianti, Y., & Kamsiah, K. (2017). Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Tepung Rebung pada Pembuatan Roti Tawar terhadap Kadar Serat, Umur Simpan dan Uji Organoleptik. *AGRITEPA: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*, 4(2), 13-24.
- Qurnaini, Nadiya Rahmah, Nanang Nasrullah, A'immatul Fauziyah. (2021). Pengaruh Substitusi Biji Jali (*Coix lacryma-jobi* L.) terhadap Kadar Lemak, Serat, Fenol dan Sifat Organoleptik Tempe. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 11(01).
- Rabbani, Nur Rahim. (2014). *Kinetika Pertumbuhan dan Isolasi Genom Konsorsium Bakteri Hydrothermal Vent Kawio Menggunakan Medium Modifikasi LB* (Doctoral dissertation, Universitas Pendidikan Indonesia).
- Ramírez-Castrillón, M., Usman, L. M., Silva-Bedoya, L. M., & Osorio-Cadavid, E. (2019). Dominant Yeasts Associated to Mango (*Mangifera indica*) and Rose Apple (*Syzygium malaccense*) Fruit Pulps Investigated by Culture-Based Methods. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(4).
- Rebnegger, C., Vos, T., Graf, A. B., Valli, M., Pronk, J. T., Daran-Lapujade, P., & Mattanovich, D. (2016). *Pichia pastoris* Exhibits High Viability and a Low Maintenance Energy Requirement at Near-Zero Specific Growth Rates. *Applied and environmental microbiology*, 82(15), 4570-4583.
- Restuhadi, F., & Rossi, E. (2017). *Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah secara Semi Sinambung (Fedbatch) dengan Penambahan Urea dan Cordyceps MySellium* (Doctoral dissertation, Riau University).
- Rini, A. W. E. (2017). *Isolasi dan Identifikasi Khamir Toleran Alkohol dari Molasses* (Doctoral dissertation, Universitas Jember).
- Roca-Mesa, H., Sendra, S., Mas, A., Beltran, G., & Torija, M. J. (2020). Nitrogen Preferences during Alcoholic Fermentation of Different Non-saccharomyces Yeasts of Oenological Interest. *Microorganisms*, 8(2), 157.
- Rosmania, R., & Yanti, F. (2020). Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86.
- Sabahannur, St., Netty Syam., Suraedah Alimuddin. (2019). *Teknologi Fermentasi Biji kakao*. Bogor: IPB Press.
- Saepudin, L., Setiawan, Y., & Sari, P. D. (2017). Pengaruh Perbandingan Substitusi Tepung Sukun dan Tepung Terigu dalam Pembuatan Roti Manis. *AGROSCIENCE*, 7(1), 227-243.
- Saleh, M. S., Siddiqui, M. J., Mediani, A., Ismail, N. H., Ahmed, Q. U., So'ad, S. Z. M., & Saidi-Besbes, S. (2018). *Salacca zalacca*: A Short Review of the

- Palm Botany, Pharmacological Uses and Phytochemistry. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 11(12), 645.
- Saragih, D. M., Nurwantoro, N., & Bintoro, V. P. (2017). Substitusi Sukrosa dengan Fruktosa pada Proses Pembuatan Roti Berbahan Dasar Tepung terhadap Sifat Fisikokimia. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(3).
- Sari, Y.I. (2020). *Isolasi dan Karakterisasi Khamir pada Buah Salak Pondoh (Salacca edulis Reinw.) sebagai Kandidat Pengembang Roti* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Saxena, N.P and Awasrhi, D.K. 2003. *Microbiology*. India: Krishna Prakashan Media.
- Shabrina, N. (2017). *Pengaruh Substitusi Tepung Terigu dengan Tepung Kacang Koro Pedang (Canavalia ensiformis L) dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Roti Tawar* (Doctoral dissertation, Fakultas Teknik Unpas).
- Sinta, Clara. (2019). *Uji Sitotoksitas Ekstrak Heksan Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav)* (Doctoral dissertation, Universitas Sanata Dharma).
- Sitepu, K. M. (2019). Penentuan Konsentrasi Ragi pada Pembuatan Roti (Determining of Yeast Concentration on Bread Making). *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Agrokompleks*, 71-77.
- Sriwulan, M. R. P. A. I., & Hendrasarie, N. (2021). Uji Efektifitas Sampah Pangan dan Non Pangan dalam Menghasilkan Bioetanol Generasi Kedua. *EnviroUS*, 1(2), 32-40.
- Starowicz, M., & Zieliński, H. (2019). How Maillard Reaction Influences Sensorial Properties (color, flavor and texture) of Food Products?. *Food Reviews International*, 35(8), 707-725.
- Sunaryanto, R., & Handayani, B. H. (2015). Penentuan Kombinasi Medium Terbaik Galaktosa dan Sumber Nitrogen pada Proses Produksi Etanol. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 2(1), 20-26.
- Surono, D. I., Nurali, I. E. J., & Moningga, I. J. S. (2017, January). Kualitas Fisik dan Sensoris Roti Tawar Bebas Gluten Bebas Kasein Berbahan Dasar Tepung Komposit Pisang Goroho (*Musa acuminata* L). In *COCOS* (Vol. 1, No. 1).
- Suryaningsih, V., Ferniah, R. S., & Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik Morfologi, Biokimia dan Molekuler Isolat Khamir Ik-2 Hasil Isolasi dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Akademika Biologi*, 7(1), 18-25.
- Suryatna, B. S., & Teknik, F. (2015). *Peningkatan Kelembutan Tekstur Roti Melalui Fortifikasi Rumput Laut Euchema cottoni*. 2(2), 18-25.
- Sutomo, Budi. (2007). *Sukses Wirausaha Roti Favorit*. Jakarta: Puspa Swara.
- Suyadi, S., Nurwantoro, N., & Mulyani, S. (2012). Total Yeast, pH, Cita Rasa Asam dan Cita Rasa Alkohol pada Es Krim dengan Penambahan Starter *Saccharomyces cerevisiae* pada Lama Pemeraman yang Berbeda. *Animal Agriculture Journal*, 1(2), 246-257.
- ter Schure, E. G., van Riel, N. A., & Verrips, C. T. (2000). The Role of Ammonia Metabolism in Nitrogen Catabolite Repression in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS microbiology reviews*, 24(1), 67-83.
- Tsegaye, Zerihun. 2016. Isolation, Identification, and Characterization of Ethanol Tolerant Yeast Species from Fruits for Production of Bio-ethanol. *Journal Curr. Trend. Pharmacobiology. Med. Sci.* Vol.1 (2)

- Veaudor, T., Cassier-Chauvat, C., & Chauvat, F. (2019). Genomics of Urea Transport and Catabolism in Cyanobacteria: Biotechnological Implications. *Frontiers in microbiology*, 10, 2052.
- Vejarano, R. (2020). Non-Saccharomyces in Winemaking: Source of Mannoproteins, Nitrogen, Enzymes, and Antimicrobial Compounds. *Fermentation*, 6(3), 76.
- Vidal, B. J. C. (2011). *Protease Use in Ethanol Production from Dry Fractionated Corn* (Doctoral dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign).
- Vieira, É. D., Andrietta, M. D. G. S., & Andrietta, S. R. (2013). Yeast Biomass Production: a New Approach in Glucose-limited Feeding Strategy. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 551-558.
- Wachid, M., & Mutia, P. (2019). Optimasi Media Kulit Singkong pada Pertumbuhan *Sacharomyces cerreviceae*. *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 4(2), 92-101.
- Wahyuni, S. (2020). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. CV Pena Persada.
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(4), 30.
- Watanabe, M., Uchida, N., Fujita, K., Yoshino, T., & Sakaguchi, T. (2016). Bread and Effervescent Beverage Productions with Local Microbes for The Local Revitalization. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 6(3), 381-384.
- Widyaningsih, Murtini. 2006. *Alternatif Pengganti Formalin pada Produk Pangan*. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Wijaya, R. C., Utari, E. L., & Yudianingsih, Y. (2015). Perancangan Alat Penghitung Bakteri. *Respati*, 10(29).
- Wignyanto., Nur Hidayat. (2017). *Bioindustri*. Malang: UB Press.
- Yunindya, R. P., & Murtini, E. S. (2020). Pengaruh Suhu Air yang Ditambahkan terhadap Kualitas Donat Kentang. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 21(2), 94-105.
- Zhao, J., Zhu, L., Fan, C., Wu, Y., & Xiang, S. (2018). Structure and Function of Urea Amidolyase. *Bioscience Reports*, 38(1), BSR20171617.
- Zhen, S., Deng, X., Xu, X., Liu, N., Zhu, D., Wang, Z., & Yan, Y. (2020). Effect of High-Nitrogen Fertilizer on Gliadin and Glutenin Subproteomes during Kernel Development in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *The Crop Journal*, 8(1), 38-52.
- Zohri, A. A., Fadel, M., Hmad, M., & El-sharkawey, H. F. (2017). Effect of Nitrogen Sources and Vitamins Addition on Baker's Yeast Fermentation Activity. *Egyptian Sugar Journal*. 9, 57-66.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Biomassa dari semua perlakuan

Contoh perhitungan biomassa pada YIS-3 + UREA 0.05% tabung nomor 1

$$B = B2 - B1$$

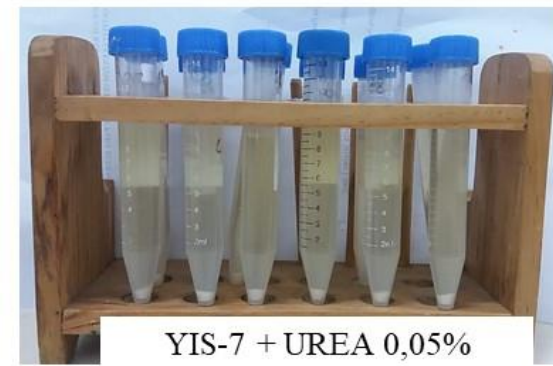
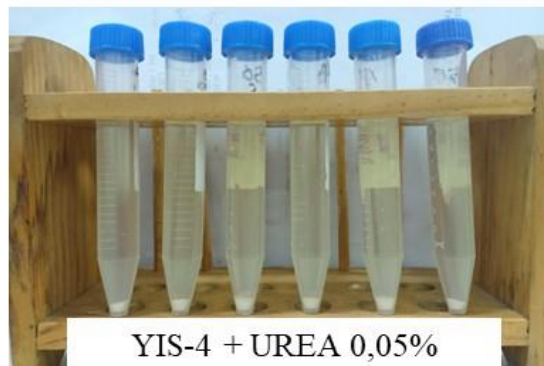
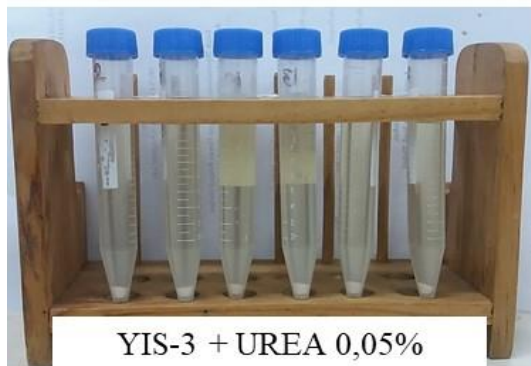
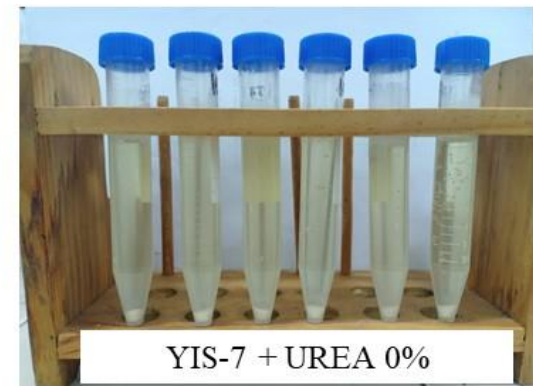
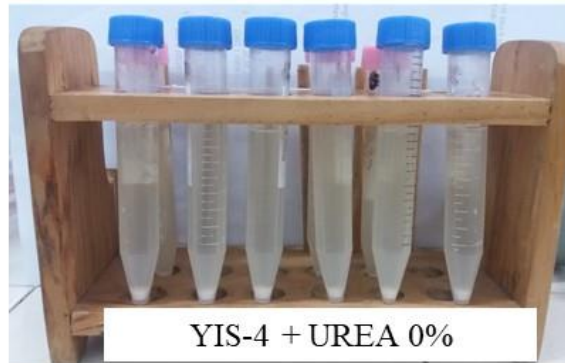
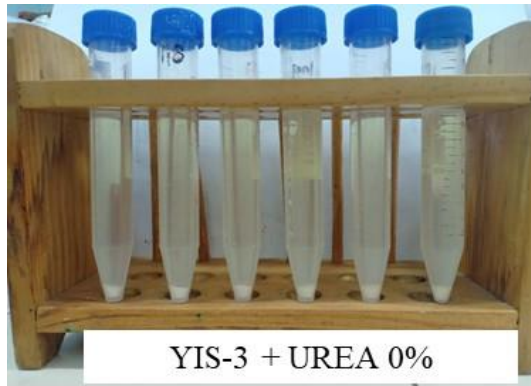
$$B = 6,45 - 6,31$$

$$B = 0,14$$

YIS-3 + UREA 0.05%				YIS-4 + UREA 0.05%				YIS-7 + UREA 0.05%			
No	B1	B2	B	No	B1	B2	B	No	B1	B2	B
1	6.31	6.45	0.14	31	6.36	6.49	0.13	61	6.35	6.5	0.15
2	6.33	6.46	0.13	32	6.48	6.63	0.15	62	6.33	6.46	0.13
3	6.33	6.47	0.14	33	6.36	6.51	0.15	63	6.4	6.49	0.09
4	6.41	6.56	0.15	34	6.35	6.46	0.11	64	6.3	6.39	0.09
5	6.33	6.44	0.11	35	6.43	6.61	0.18	65	5.95	6.1	0.15
6	6.82	6.93	0.11	36	6.69	6.80	0.11	66	6.4	6.53	0.13
7	6.29	6.38	0.09	37	6.34	6.46	0.12	67	6.33	6.45	0.12
8	6.32	6.44	0.12	38	6.46	6.57	0.11	68	6.36	6.48	0.12
9	6.31	6.48	0.17	39	6.31	6.42	0.11	69	6.32	6.43	0.11
10	6.47	6.66	0.19	40	6.50	6.62	0.12	70	6.36	6.47	0.11
11	6.44	6.58	0.14	41	6.48	6.60	0.12	71	6.36	6.5	0.14
12	6.51	6.61	0.10	42	6.29	6.39	0.10	72	6.34	6.44	0.1
13	6.39	6.46	0.07	43	6.33	6.46	0.13	73	6.33	6.46	0.13
14	6.34	6.48	0.14	44	6.28	6.38	0.10	74	6.32	6.44	0.12
15	6.33	6.45	0.12	45	6.29	6.41	0.12	75	6.35	6.46	0.11
16	6.33	6.47	0.14	46	6.41	6.53	0.12	76	6.36	6.47	0.11
17	6.41	6.52	0.11	47	6.17	6.29	0.12	77	6.3	6.43	0.13
18	6.35	6.45	0.10	48	6.32	6.45	0.13	78	6.46	6.6	0.14
19	6.45	6.60	0.15	49	6.36	6.49	0.13	79	6.32	6.48	0.16
20	7.22	7.30	0.08	50	6.36	6.46	0.10	80	6.35	6.48	0.13
21	6.47	6.61	0.14	51	6.41	6.56	0.15	81	6.42	6.57	0.15
22	6.44	6.54	0.10	52	6.43	6.55	0.12	82	6.38	6.49	0.11
23	6.34	6.45	0.11	53	6.35	6.47	0.12	83	6.35	6.5	0.15
24	6.36	6.48	0.12	54	6.33	6.48	0.15	84	6.29	6.39	0.1
25	6.29	6.42	0.13	55	6.45	6.54	0.09	85	6.34	6.45	0.11
26	6.31	6.47	0.16	56	6.42	6.52	0.10	86	6.31	6.44	0.13
27	6.33	6.44	0.11	57	6.34	6.48	0.14	87	6.36	6.51	0.15
28	6.32	6.43	0.11	58	6.28	6.42	0.14	88	6.69	6.84	0.15
29	6.71	6.80	0.09	59	6.41	6.54	0.13	89	6.76	6.9	0.14
30	7.19	7.28	0.09	60	6.33	6.44	0.11	90	6.32	6.47	0.15

YIS-3 + UREA 0%				YIS-4 + UREA 0%				YIS-7 + UREA 0%			
No	B1	B2	B	No	B1	B2	B	No	B1	B2	B
91	6.42	6.47	0.05	121	7.18	7.31	0.13	151	6.27	6.37	0.1
92	6.3	6.41	0.11	181	7.2	7.3	0.10	152	6.34	6.47	0.13
93	6.29	6.4	0.11	123	6.33	6.43	0.1	153	6.33	6.4	0.07
94	6.49	6.6	0.11	124	7.18	7.26	0.08	154	6.28	6.43	0.15
95	6.48	6.51	0.03	125	6.46	6.53	0.07	155	6.33	6.44	0.11
96	6.6	6.69	0.09	126	6.7	6.79	0.09	156	6.33	6.42	0.09
97	6.14	6.25	0.11	127	6.77	6.85	0.08	157	6.45	6.56	0.11
98	6.32	6.4	0.08	128	6.69	6.79	0.1	158	6.29	6.41	0.12
99	6.34	6.43	0.09	129	7.19	7.31	0.12	159	6.29	6.39	0.10
100	7.16	7.3	0.14	130	7.19	7.27	0.08	160	6.37	6.48	0.11
101	6.5	6.58	0.08	131	6.35	6.46	0.11	161	6.38	6.49	0.11
102	6.43	6.5	0.07	132	6.35	6.45	0.1	162	6.46	6.57	0.11
103	6.77	6.84	0.07	133	6.4	6.49	0.09	163	6.42	6.54	0.12
104	7.2	7.3	0.1	134	6.28	6.38	0.1	164	6.4	6.54	0.14
105	7.19	7.3	0.11	135	6.3	6.39	0.09	165	6.34	6.43	0.09
106	7.17	7.28	0.11	136	6.45	6.54	0.09	166	6.27	6.38	0.11
107	6.45	6.6	0.15	137	6.32	6.43	0.11	167	6.41	6.51	0.1
108	6.98	7.07	0.09	138	6.48	6.58	0.1	168	6.43	6.55	0.12
109	6.35	6.47	0.12	139	6.4	6.51	0.11	169	6.28	6.39	0.11
110	6.8	6.89	0.09	140	6.42	6.51	0.09	170	6.32	6.43	0.11
111	6.48	6.6	0.12	141	6.27	6.39	0.12	171	6.32	6.42	0.1
112	6.42	6.53	0.11	142	6.45	6.54	0.09	172	6.4	6.52	0.12
113	6.35	6.46	0.11	143	6.34	6.44	0.1	173	6.39	6.51	0.12
114	6.61	6.71	0.1	144	6.45	6.56	0.11	174	6.39	6.49	0.1
115	6.3	6.43	0.13	145	6.34	6.43	0.09	175	6.37	6.49	0.12
116	6.49	6.58	0.09	146	6.28	6.38	0.1	176	6.27	6.4	0.13
117	7.16	7.26	0.1	147	6.33	6.42	0.09	177	6.39	6.51	0.12
118	6.32	6.45	0.13	148	6.42	6.53	0.11	178	6.29	6.39	0.1
119	6.3	6.4	0.1	149	6.3	6.48	0.18	179	6.43	6.54	0.11
120	6.34	6.44	0.1	150	6.4	6.51	0.11	180	6.42	6.54	0.12

Lampiran 2. Gambar perolehan biomassa dari setiap perlakuan



Lampiran 3. Jumlah sel khamir dari masing-masing perlakuan

Contoh perhitungan YIS-3 +UREA 0.05%

➤ Rata-rata jumlah sel/kotak

$$\text{rata – rata jumlah sel/kotak} = \frac{\text{jumlah sel hidup}}{5 \text{ kotak}}$$

$$\text{rata – rata jumlah sel/kotak} = \frac{1451}{5}$$

$$\text{rata – rata jumlah} \frac{\text{sel}}{\text{kotak}} = 290,2$$

➤ Faktor pengencer

$$\text{faktor pengencer} = \frac{\text{volume akhir suspensi}}{\text{volume inokulum}}$$

$$\text{faktor pengencer} = \frac{1000\mu\text{L}}{100\mu\text{L}}$$

$$\text{faktor pengencer} = 10 \mu\text{L}$$

➤ **Jumlah sel/ml**

$$\text{jumlah sel } \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = \text{rata - rata jumlah sel/kotak} \times \text{faktor pengencer} \times 10^4$$

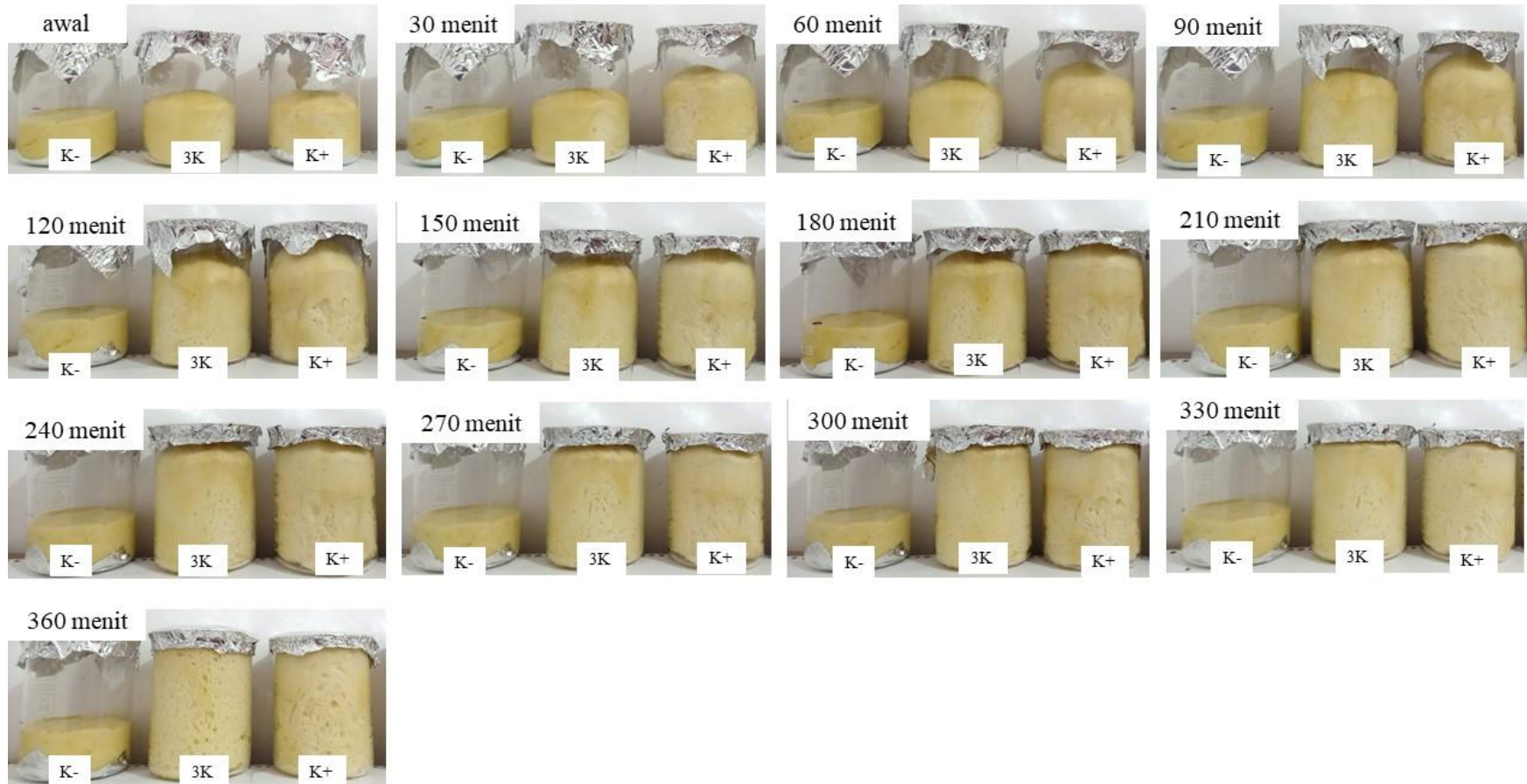
$$\text{jumlah sel } \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = 290,2 \times 10 \times 10^4$$

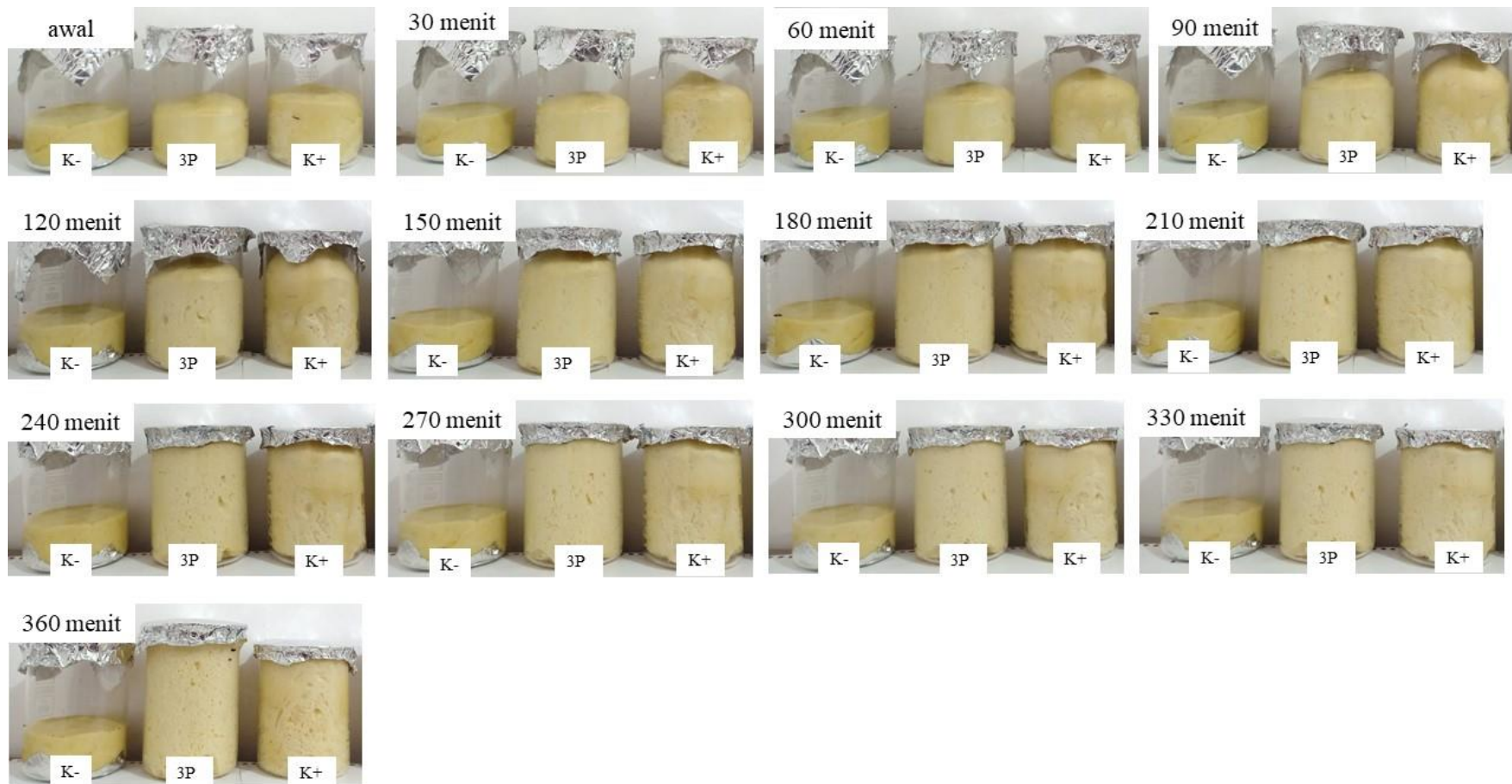
$$\text{jumlah sel } \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = 29,020,000.00$$

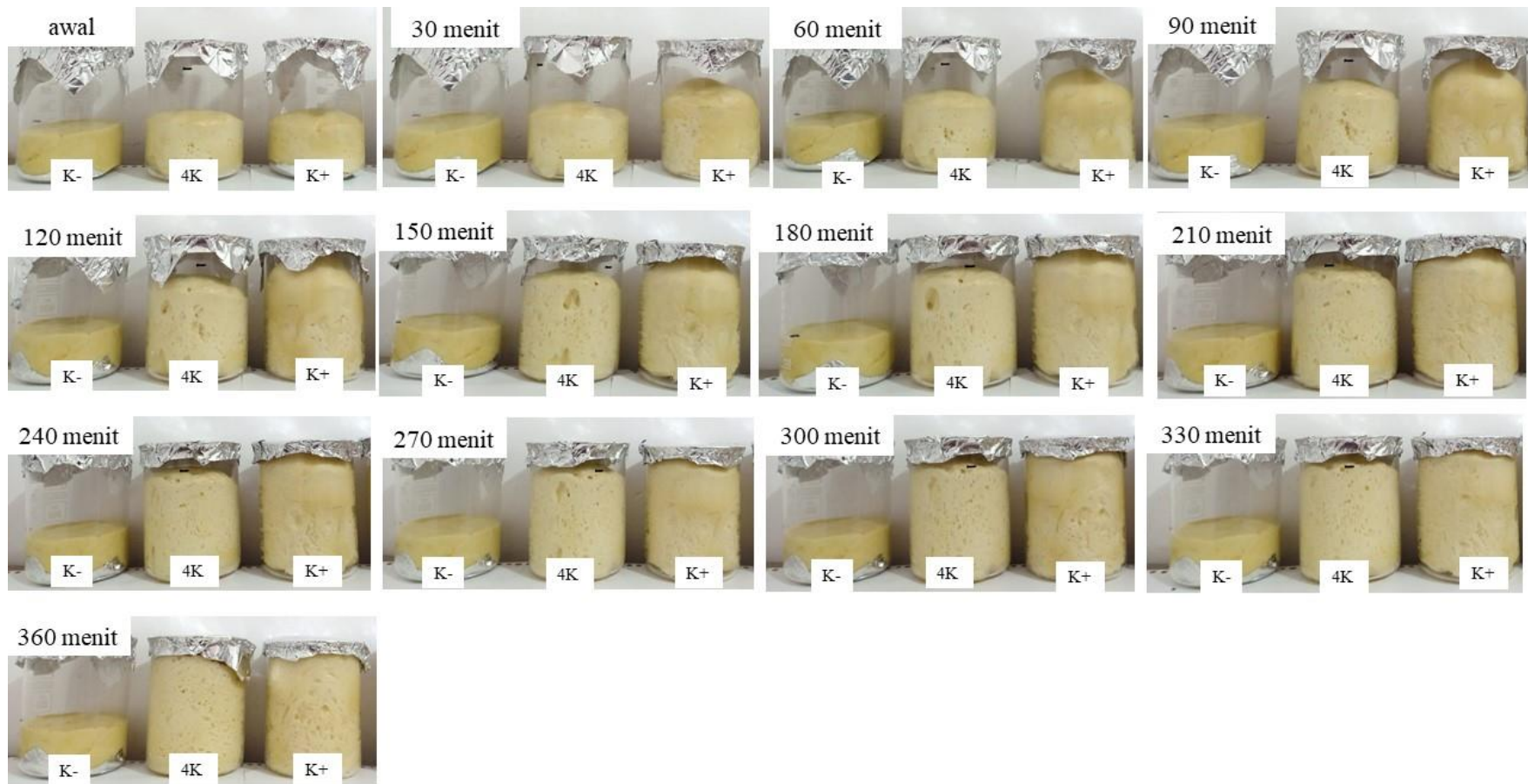
YIS	Kotak	Sel Hidup	Rata-rata jumlah sel/kotak	Jumlah sel/ml
YIS-3 +UREA 0.05%	A	283	290.2	29,020,000.00
	B	295		
	C	293		
	D	299		
	E	281		
	JUMLAH	1451		
YIS-4 +UREA 0.05%	A	217	202.4	20,240,000.00
	B	199		
	C	210		
	D	186		
	E	200		
	JUMLAH	1012		
YIS-7 +UREA 0.05%	A	142	161.6	16,160,000.00
	B	160		
	C	159		
	D	167		
	E	180		
	JUMLAH	808		
YIS-3 +UREA 0%	A	162	175	17,500,000.00
	B	176		
	C	185		
	D	174		
	E	178		
	JUMLAH	875		

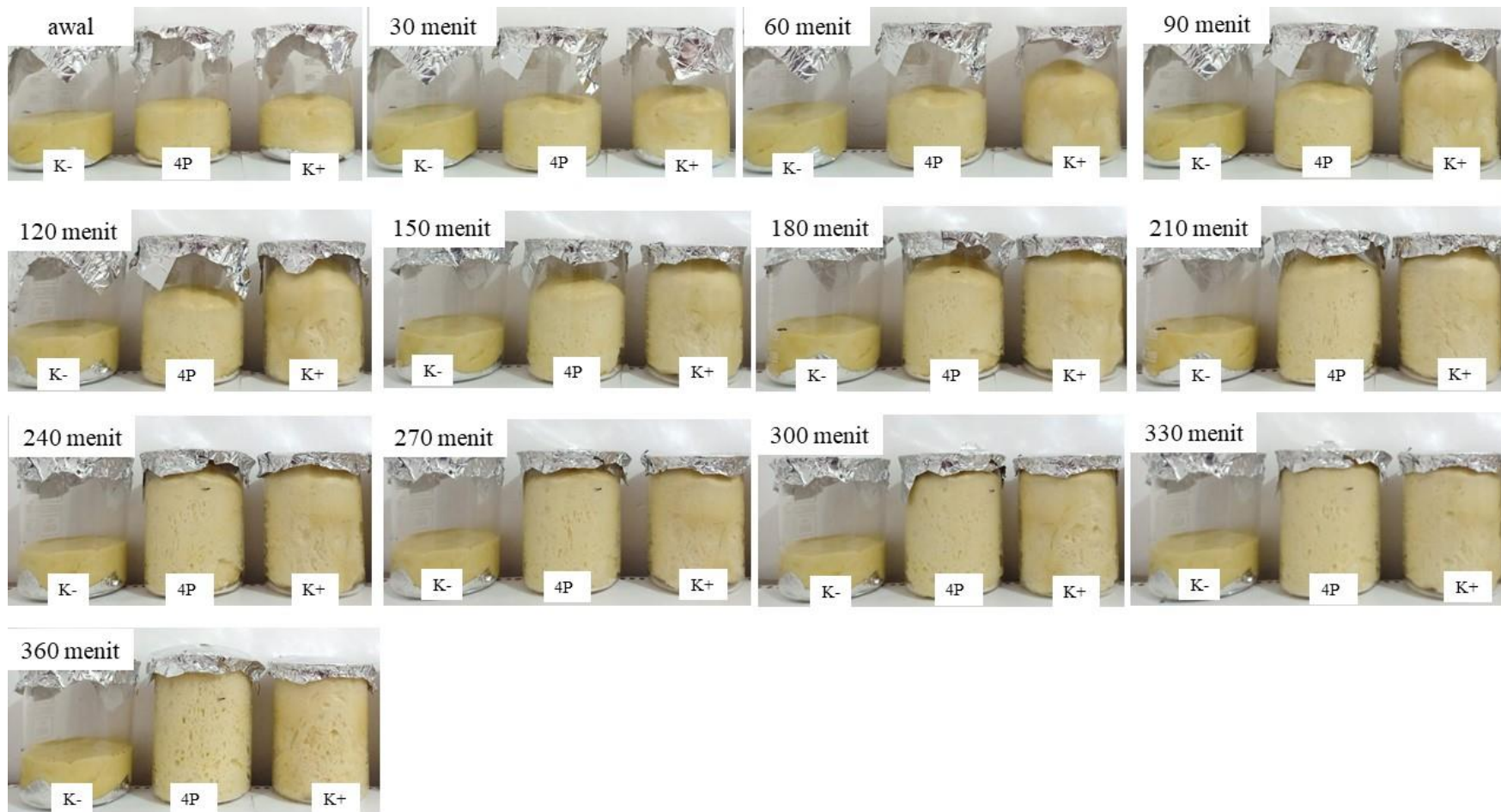
YIS-4 +UREA 0%	A	207	197.2	19,720,000.00
	B	192		
	C	205		
	D	185		
	E	197		
	JUMLAH	986		
YIS-7 +UREA 0%	A	122	124.2	12,420,000.00
	B	139		
	C	116		
	D	123		
	E	121		
	JUMLAH	621		
Kontrol Positif (fermipan)	1	176	199.2	39,840,000.00
	2	207		
	3	288		
	4	151		
	5	174		
	JUMLAH	996		

Lampiran 4. Pengembangan volume adonan roti pada semua perlakuan











Lampiran 5. Perhitungan volume adonan pada masing-masing perlakuan tiap 30 menit selama 10 jam

Menit ke-	Volume (cm ³)							
	YIS-3 + urea 0,05%	YIS-4 + urea 0,05%	YIS-7 + urea 0,05%	YIS-3 + urea 0%	YIS-4 + urea 0%	YIS-7 + urea 0%	K+	K-
Awal	266.57	249.55	238.21	249.55	255.22	266.57	255.2 2	243.8 8
30	300.60	283.58	255.22	294.92	283.58	266.57	300.6 0	243.8 8
60	340.3	294.92	272.24	362.98	351.64	266.57	425.3 7	243.8 8
90	436.72	345.97	283.58	414.03	402.69	311.94	510.4 5	243.8 8
120	499.1	397.01	323.28	482.09	453.73	311.94	538.8	243.8 8
150	550.15	453.73	323.28	516.12	482.09	362.98	572.8 3	243.8 8
180	595.52	504.77	340.3	550.15	510.45	408.36	572.8 3	243.8 8
210	669.25	584.18	368.66	595.52	510.45	408.36	572.8 3	243.8 8
240	680.60	623.88	397.01	623.88	510.45	442.39	572.8 3	243.8 8
270	680.60	640.89	425.37	646.57	538.80	442.39	572.8 3	243.8 8
300	680.60	652.24	442.39	680.6	567.16	470.74	623.8 8	243.8 8

330	680.60	680.60	453.73	708.95	567.16	470.74	680.6 0	243.8 8
360	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
390	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
420	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
450	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
480	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
510	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
540	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
570	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8
600	794.03	680.6	453.73	708.95	567.16	493.43	680.6 0	243.8 8

Lampiran 6. Volume roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	Volume (cm ³)
YIS-3 + urea 0,05%	972.14
YIS-4 + urea 0,05%	881.71
YIS-7 + urea 0,05%	676.24
YIS-3 + urea 0%	847.80
YIS-4 + urea 0%	678.24
YIS-7 + urea 0%	599.11
K+	734.76
K-	339.12

Lampiran 7. Persentase pengembangan adonan pada semua perlakuan setiap 30 menit selama 10 jam

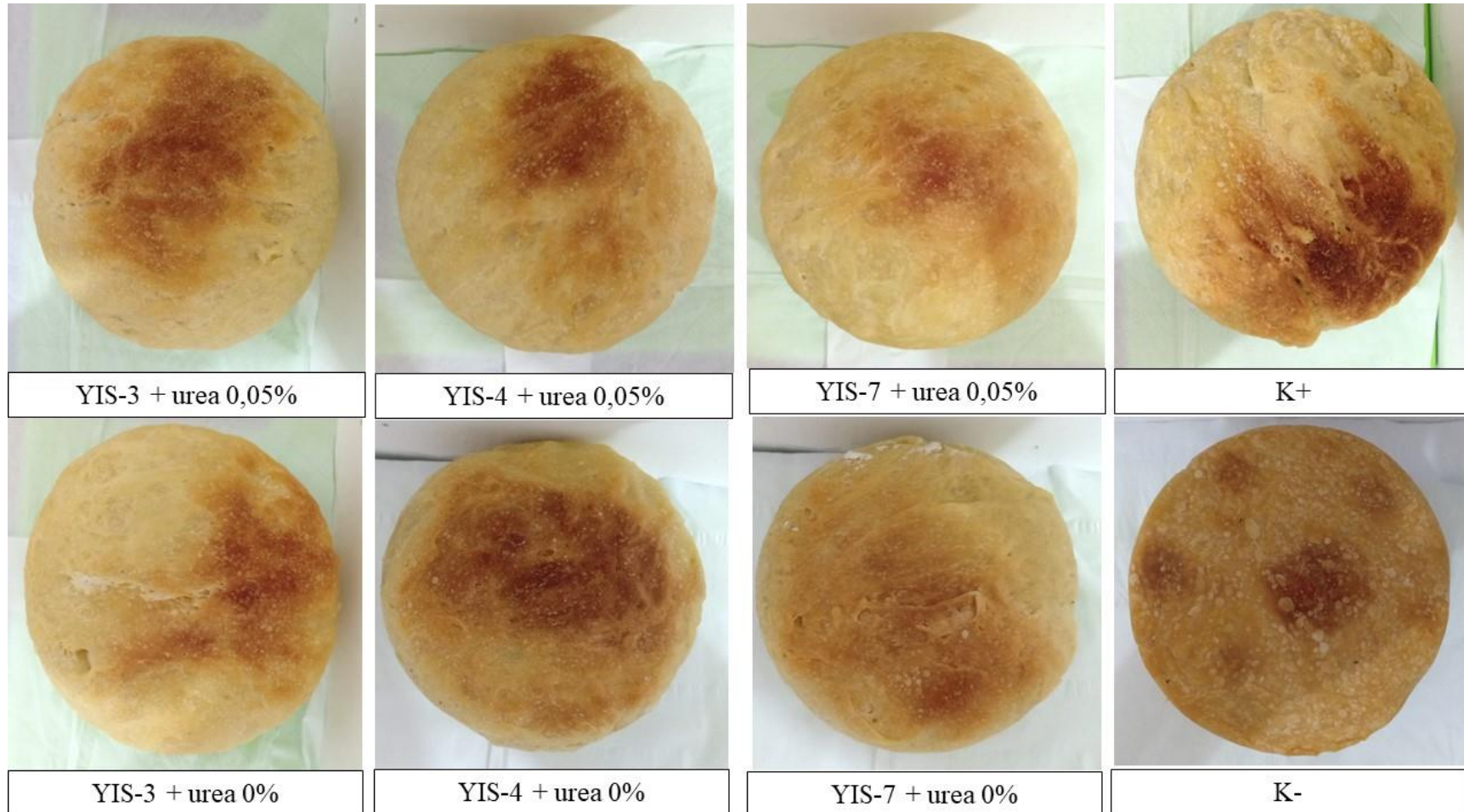
Contoh perhitungan persentase pengembangan YIS-3 urea 0,05% pada menit ke-30

$$\% \text{ pengembangan} = \frac{\text{volume adonan akhir} - \text{volume adonan awal}}{\text{volume adonan awal}} \times 100\%$$

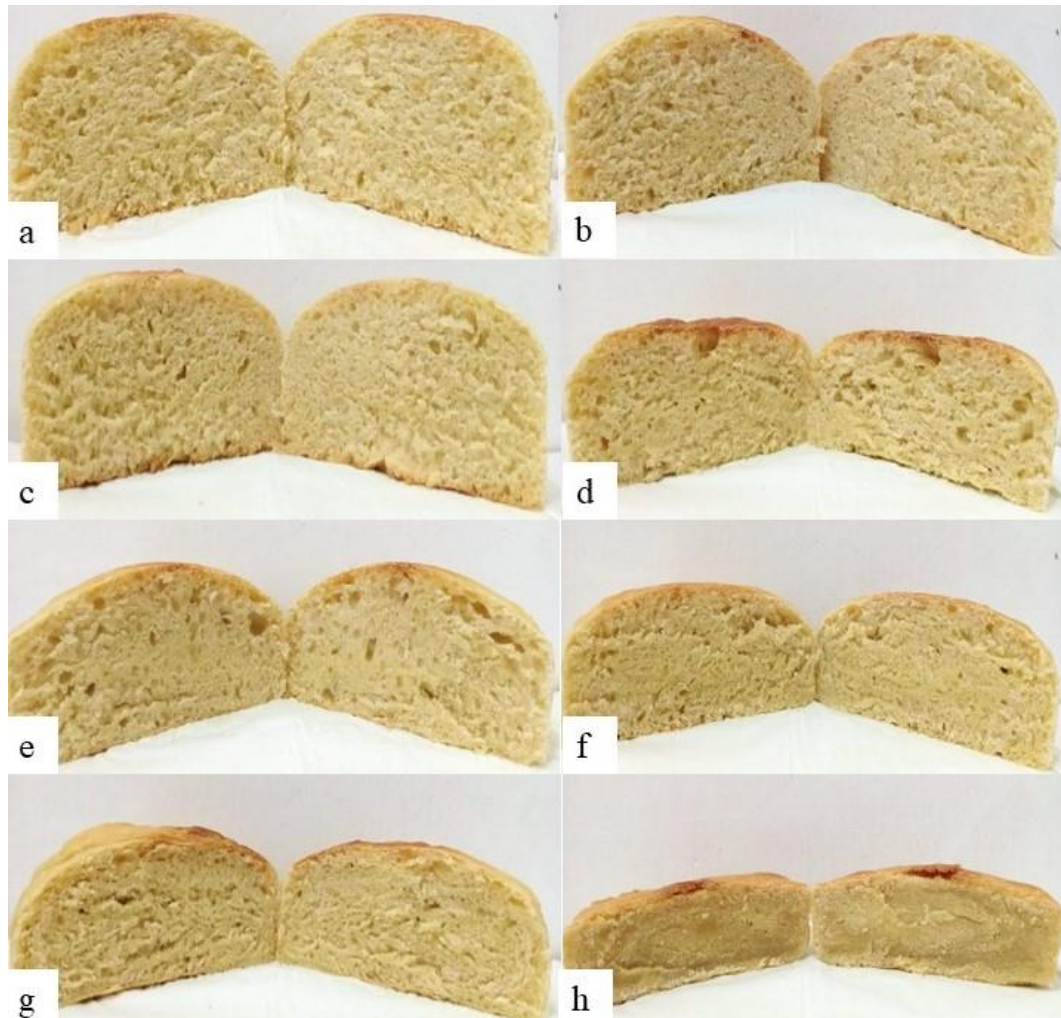
$$\% \text{ pengembangan} = \frac{300.60 - 266.57}{266.57} \times 100\% = \mathbf{12,77\%}$$

Menit ke-	Persentase Pengembangan (%)							
	YIS-3 + urea 0,05%	YIS-4 + urea 0,05%	YIS-7 + urea 0,05%	YIS-3 + urea 0%	YIS-4 + urea 0%	YIS-7 + urea 0%	K+	K-
30	12.77	13.64	7.14	18.18	11.11	0	17.78	0
60	13.21	4	6.67	23.08	24	0	41.51	0
90	28.33	17.31	4.17	14.06	14.52	17.02	20	0
120	14.28	14.75	14	16.44	12.67	0	5.55	0
150	10.23	14.29	0	7.06	6.25	16.36	6.32	0
180	8.25	11.25	5.26	6.59	5.88	12.5	0	0
210	12.38	15.73	8.33	8.25	0	0	0	0
240	1.7	6.8	7.69	4.76	0	8.33	0	0
270	0	2.73	7.14	3.64	5.55	0	0	0
300	0	1.77	4	5.26	5.26	6.41	8.91	0
330	0	4.35	2.56	4.17	0	0	9.09	0
360	16.67	0	0	0	0	0	0	0
390	0	0	0	0	0	0	0	0
420	0	0	0	0	0	0	0	0
450	0	0	0	0	0	0	0	0
480	0	0	0	0	0	0	0	0
510	0	0	0	0	0	0	0	0
540	0	0	0	0	0	0	0	0
570	0	0	0	0	0	0	0	0
600	0	0	0	0	0	0	0	0

Lampiran 8. Warna permukaan roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan



Lampiran 9. Tekstur roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan



Keterangan: (a) YIS-3 urea 0,05%; (b) YIS-3 urea 0%; (c) YIS-4 urea 0,05%; (d) YIS-4 urea 0%; (e) YIS-7 urea 0,05%; (f) YIS-7 urea 0%; (g) Kontrol positif; (h) Kontrol negatif

Lampiran 10. Hasil uji Kruskal-Wallis

Test Statistics^{a,b}

	rasa	warna	tekstur	aroma
Chi-Square	87.833	61.440	71.460	68.740
df	7	7	7	7
Asymp. Sig.	.000	.000	.000	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

Lampiran 11. Hasil uji lanjut Mann-Whitney

Test Statistics^a

	warna	rasa	tekstur	aroma
Mann-Whitney U	258.500	313.000	187.000	322.000
Wilcoxon W	723.500	778.000	652.000	787.000
Z	-2.953	-2.135	-4.057	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003	.033	.000	.046

a. Grouping Variable: perlakuan

Warna

P1 ≠ P2	P2 = P3	P3 = P4	P4 = P5	P5 = P6	P6 ≠ P7	P7 ≠ P8
P1 = P3	P2 = P4	P3 = P5	P4 = P6	P5 ≠ P7	P6 ≠ P8	
P1 ≠ P4	P2 = P5	P3 = P6	P4 ≠ P7	P5 ≠ P8		
P1 ≠ P5	P2 = P6	P3 ≠ P7	P4 ≠ P8			
P1 ≠ P6	P2 ≠ P7	P3 ≠ P8				
P1 ≠ P7	P2 ≠ P8					
P1 ≠ P8						

Rasa

P1 = P2	P2 = P3	P3 ≠ P4	P4 = P5	P5 = P6	P6 ≠ P7	P7 ≠ P8
P1 = P3	P2 = P4	P3 ≠ P5	P4 = P6	P5 ≠ P7	P6 ≠ P8	
P1 ≠ P4	P2 = P5	P3 ≠ P6	P4 ≠ P7	P5 ≠ P8		
P1 ≠ P5	P2 = P6	P3 ≠ P7	P4 ≠ P8			
P1 ≠ P6	P2 ≠ P7	P3 ≠ P8				
P1 ≠ P7	P2 ≠ P8					
P1 ≠ P8						

Tekstur

P1 = P2	P2 = P3	P3 = P4	P4 = P5	P5 = P6	P6 ≠ P7	P7 ≠ P8
P1 = P3	P2 = P4	P3 = P5	P4 = P6	P5 ≠ P7	P6 ≠ P8	
P1 ≠ P4	P2 ≠ P5	P3 = P6	P4 ≠ P7	P5 ≠ P8		
P1 ≠ P5	P2 = P6	P3 ≠ P7	P4 ≠ P8			
P1 ≠ P6	P2 ≠ P7	P3 ≠ P8				
P1 ≠ P7	P2 ≠ P8					
P1 ≠ P8						

Aroma

P1 = P2	P2 = P3	P3 = P4	P4 = P5	P5 = P6	P6 ≠ P7	P7 ≠ P8
P1 = P3	P2 ≠ P4	P3 ≠ P5	P4 = P6	P5 ≠ P7	P6 ≠ P8	
P1 ≠ P4	P2 ≠ P5	P3 = P6	P4 ≠ P7	P5 ≠ P8		
P1 ≠ P5	P2 ≠ P6	P3 ≠ P7	P4 ≠ P8			
P1 ≠ P6	P2 ≠ P7	P3 ≠ P8				
P1 ≠ P7	P2 ≠ P8					
P1 ≠ P8						

Keterangan: Tanda (=) menunjukkan tidak berbeda nyata; Tanda (≠) menunjukkan berbeda nyata

Lampiran 12. Bukti Konsultasi Pembimbing 1



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh
NIM : 17620023
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/ 2021
Pembimbing : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Sumber Nitrogen Terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi dari Khamir Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.).

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	21 Januari 2021	Presentasi Proposal 1	
2.	13 Februari 2021	revisi Proposal	
3.	4 Maret 2021	konsultasi bab 1-3	
4.	6 Maret 2021	revisi bab 1-3	
5.	8 Maret 2021	revisi bab 3	
6.	10 Maret 2021	Acc Proposal	
7.	22 Juni 2021	konsultasi hasil Penelitian	
8.	24 Juni 2021	konsultasi hasil pengamatan	
9.	29 Juni 2021	konsultasi hasil pengamatan roti	
10.	14 Agustus 2021	Presentasi bab 4	
11.	21 Agustus 2021	konsultasi bab 4	
12.	7 September 2021	Acc naskah skripsi	

Pembimbing Skripsi,

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

Malang, 27 Agustus 2021
Ketua Program Studi,

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

Lampiran 13. Bukti Konsultasi Pembimbing 2



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nuzul Furoida Imarotu Zahroh
NIM : 17620023
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/ 2021
Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.
Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Sumber Nitrogen Terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi dari Khamir Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.).

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	10 Maret 2021	Konsultasi bab I	
2.	12 Maret 2021	Konsultasi bab II	
3.	15 Maret 2021	Pengumpulan revisi bab I & II	
4.	15 Maret 2021	Acc Proposal Skripsi	
5.	30 Agustus 2021	Acc Naskah Skripsi	
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			
11.			
12.			

Pembimbing Skripsi,

Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.
NIP. 197312121998031008

Malang, 27 Agustus 2021
Ketua Program Studi,

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