

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

**SKRIPSI**

Oleh:

**YUANITA REFA KUSUMA**

**NIM. 17620074**



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

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

**SKRIPSI**

Oleh:  
**YUANITA REFA KUSUMA**  
**NIM. 17620074**

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 FOSFAT TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KUALITAS ROTI  
HASIL FERMENTASI KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK (*Salacca edulis*  
*Reinw.*)

SKRIPSI

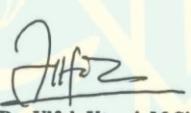
Oleh:

Yuanita Refa Kusuma

NIM. 17620074

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,



  
Dr. Gita Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002

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

**SKRIPSI**

Oleh:  
**YUANITA REFA KUSUMA**  
**NIM. 17620074**

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

<b>Ketua Pengaji</b>	<b>Ir. Liliek Harianie, M.P.</b> NIP. 19620901 199803 2 001	
<b>Anggota Pengaji I</b>	<b>Dr. Nur Kusmivati, M.Si</b> NIP. 19890816 2016080 1 2061	
<b>Anggota Pengaji II</b>	<b>Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si.</b> NIP. 19650509 199903 2 002	
<b>Anggota Pengaji III</b>	<b>Dr. Ahmad Barizi, M.A.</b> NIP. 19731212 199803 1008	

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi  
**LIN Maulana Malik Ibrahim Malang**



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

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Kupersembahkan skripsi ini kepada orang-orang tersayang yang telah memberikan motivasi dan dukungannya, khususnya untuk :

1. Kedua orang tua saya tercinta, Papa Isman Yudi dan Mama Renny Liestyorini yang telah membesar, merawat dan selalu mendoakan penulis hingga pada detik ini.
2. Kakak saya Risma Ditalistya, Eko Prasetyo dan Adik saya Rafif Jendra Atmaja, serta keponakan tersayang Kautsar Tama Praditya yang selalu memberi dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi.
3. Pakde Harianto dan Bude Indinah Winarni yang telah mensupport saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Sahabat saya Farida Qudsiyyah yang selalu ada disaat penulis berkeluh kesah.
5. Tim khamir, Nuzulul Furoida, Riefki Pratama, Hanifah Nur F, Anindita Mahesa, Pati Indriani dan Mbak Aldilla yang senantiasa berjuang bersama di laboratorium

Semoga Allah *Subhanahu Wa Ta'alla* memberikan balasan kebaikan yang berlimpah. Aamiin

## MOTTO

“Cukuplah Allah menjadi Penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik

Pelindung.”—**Q.S Ali Imran: 173**



## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuanita Refa Kusuma  
NIM : 17620074  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Pengaruh Fosfat terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi 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,



Yuanita Refa Kusuma  
NIM. 17620074

## 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 FOSFAT TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KUALITAS ROTI HASIL FERMENTASI KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK PONDOH

(*Salacca edulis* Reinw.)

Yuanita Refa Kusuma, Ulfah Utami, Ahmad Barizi

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

### ABSTRAK

Produk pengembang roti yang digunakan di Indonesia merupakan produk hasil impor dari beberapa negara. Hasil isolasi khamir banyak dilakukan di Indonesia tetapi belum mampu digunakan dalam skala industri. Peningkatan khamir hasil isolasi sangat diperlukan dengan cara menambahkan nutrisi berupa sumber fosfat yaitu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pada media YPG (*Yeast Peptone Glucose*). Hasil isolasi khamir dari buah salak pondoh (*Salacca edulis*) didapatkan 3 isolat yang sangat berpotensi dalam mengembangkan roti yaitu YIS-3, YIS-4 dan YIS-7. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh penambahan nutrisi fosfat dalam pertumbuhan isolat YIS-3, YIS-4, dan YIS-7 dan mengetahui kualitas roti terhadap karakteristik volume, warna, tekstur, aroma dan rasa roti hasil fermentasi menggunakan khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 hasil penambahan nutrisi fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, menggunakan pendekatan kuantitatif dengan menghitung pertumbuhan sel yang meliputi biomassa dan jumlah sel. Mengukur volume roti selama 12 jam setiap 30 menit dan uji organoleptik yang meliputi karakteristik warna, tekstur, aroma dan rasa dengan 30 panelis. Hasil didapatkan YIS-3 penambahan fosfat 0,01% memiliki jumlah sel terbanyak dan YIS-7 penambahan fosfat 0,01% memiliki biomassa terberat. Volume roti tertinggi dihasilkan YIS-3 penambahan fosfat 0,01% dan uji organoleptik karakteristik warna YIS-4 perlakuan fosfat 0,01% paling disukai sedangkan tekstur, aroma, dan rasa YIS-3 perlakuan fosfat 0,01% paling disukai oleh panelis.

Kata Kunci: fermentasi, khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis*), kualitas roti, nutrisi fosfat, pertumbuhan sel

**THE EFFECT OF PHOSPHATE ON THE GROWTH AND QUALITY OF  
BREAD FROM ENDOPHYTIC YEAST FERMENTATION OF SALAK  
PONDOH FRUIT (*Salacca edulis* Reinw.)**

Yuanita Refa Kusuma, Ulfah Utami, Ahmad Barizi

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

**ABSTRACT**

Baker's yeast products which used in Indonesia are imported products. Isolated yeast is mostly done in Indonesia but have not able to used on an industrial scale. It is necessary to increase the isolated yeast by adding nutrients in the form of a phosphate source, namely  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on YPG (Yeast Peptone Glucose) media. The results of the isolation of endophytic yeasts from salak pondoh fruit (*Salacca edulis*) obtained in 3 isolates that have the potential to develop bread. The research objective is to determine the effects of nutrient enrichment of phosphate in the growth of isolates YIS-3, YIS-4, and YIS-7 and knowing the quality of bread on the characteristics of volume, color, texture, and taste of bread fermented using yeast YIS-3, YIS-4 and YIS-7 results from the addition of phosphate nutrients ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). On the characteristics of volume, color, texture, aroma, and taste of bread which fermented using YIS-3, YIS-4 and YIS-7 yeasts that are resulted from the addition of phosphate nutrients ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). This research is an experimental research uses a quantitative approach by calculating cell growth which includes biomass and cell number. Measuring the volume of bread for 12 hours every 30 minutes and organoleptic tests which include of characteristics of color, texture, aroma and taste with 30 panelists. The results showed that YIS-3 with 0.01% phosphate addition had the highest number of cells and YIS-7 with 0.01% phosphate addition had the heaviest biomass. The highest bread volume was produced by YIS-3 with 0.01% phosphate addition and the organoleptic test of color characteristics YIS-4 with 0.01% phosphate treatment has the most preferred while the texture, aroma, and taste of YIS-3 0.01% phosphate treatment is most favored by the panelists.

Keywords: *fermentation, endophytic yeast of salak pondoh fruit (*Salacca edulis*), bread quality, phosphate nutrition*

## تأثير الفوسفات على نمو وجودة الخبز من تخم إنديفينا فاكهة SALAK PONDOH (*Salacca edulis Reinw.*)

بوانيا رفا كوسوما، أولفة أوتامي، أحمد بريزي

### مستخلص

الخميرة هي كائن حي دقيق يستخدم في القطاع الصناعي، وخاصة كمطهور للخبز. إن منتجات المخابز المستخدمة في إندونيسيا هي منتجات مستوردة. إن الخميرة هي مطهور لعجينة الخبز يساعد في عملية التخمير. أسفرت نتائج عمل الخمائر الداخلية من فاكهة سلاك بوندوه (*Salacca edulis*) عن 3 عزلات لديها القدرة على إنتاج الطحين. من الضروري زيادة الخميرة من نتيجة العزلة لاحتاج إلى إضافة العناصر الغذائية على شكل مصدر فوسفات، وهي KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Yeast Peptone Glucose) على وسائط (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).

كان المدفأة لهذا البحث هو لمعرفة تأثير إضافة مغذيات الفوسفات على نمو عزلات YIS-7, YIS-4, YIS-3، ولمعرفة جودة الخبز على خصائص الحجم، اللون، الملمس، الرائحة وطعم الخبز المخمر باستخدام الخميرة Yis-7، Yis-4، YIS-3 من إضافة مغذيات الفوسفات (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).

إن هذا البحث يختبر تجريبياً باستخدام المنهج الكمي من خلال حساب نمو الخلايا التي تشمل على الكتلة الحيوية ورقم الخلية. قياس الحجم للخبز لمدة 12 ساعة في كل 30 دقيقة والاختبارات الحسية التي تشمل على خصائص اللون والملمس والرائحة والطعم بثلاثين (30) عضواً. ومن نتائج المهمة له أن Yis-3 مع إضافة 0,01٪ فوسفات كان له أكبر عدد من الخلايا وأن Yis-7 بإضافة 0,01٪ فوسفات كان له أقل كتلة حيوية. وكان أرفع الحجم للخبز ينتج بواسطة Yis-3 بإضافة 0,01٪ فوسفات وكان الاختبار الحسي لخصائص اللون معالجة 0,01٪ فوسفات هو الأكثر تفضيلاً بين مانسيج، رائحة وطعم Yis-3 معاملة فوسفات 0,01٪ كانت الأكثر تفضيلاً.

الكلمات المفتاحية : التخمير ، الخميرة الداخلية لفاكهه سلاك بوندوه (*Salacca edulis*)، جودة الخبز ، تغذية الفوسفات، نمو الخلايا

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT, Dzat yang telah melimpahkan nikmat dan karunia kepada kita semua, khususnya kepada peneliti sehingga mampu menyelesaikan skripsi dengan judul Pengaruh Fosfat terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.). Shalawat serta salam tetap tercurah kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW, yang telah membawa kita ke jalan terang benderang yaitu agama Islam. Selanjutnya penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada batas kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A, 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 Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Dr. Ahmad Barizi, M.A selaku dosen pembimbing yang penuh kesabaran dan keikhlasan telah memberikan bimbingan, dan pengarahan dalam penyusunan skripsi.
5. Ir. Hj. Liliek Harianie A.R, M.P dan Dr. Nur Kusmiyati, M.Si selaku pengujinya yang telah memberikan nasihat, saran, dan dukungan dalam membenahi skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Suyono, M.P, selaku dosen wali yang telah memberi dukungan dalam bidang akademik.
7. Segenap dosen, laboran, dan staf Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah menyampaikan pengajaran dan membimbing dengan ikhlas.
8. Kepada orang tua saya, Papa Isman Yudi dan Mama Renny Liezytorini yang selalu menjadi sumber kekuatan saya dalam penulisan skripsi ini.
9. Terimakasih untuk seluruh seluruh petugas keamanan dan kebersihan Fakultas Sains dan Teknologi yang sabar menunggu aktivitas penelitian saya dilaboratorium.
10. Semua pihak yang ikut membantu terselesaiannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan masih banyak kekurangan. Oleh karena itu kritik dan saran dari berbagai pihak sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca sebagai khazanah ilmu pengetahuan.

Malang, September 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	iii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	iv
<b>MOTTO .....</b>	v
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>	vi
<b>ABSTRAK .....</b>	viii
<b>ABSTRACT .....</b>	ix
<b>مستخلص.....</b>	x
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	xi
<b>DAFTAR ISI.....</b>	xii
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	xiv
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	1
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	1
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	5
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	5
<b>1.5 Batasan Masalah.....</b>	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	7
<b>2.1 Khamir Endofit Buah Salak Pondoh .....</b>	7
<b>2.2 Fosfat .....</b>	13
<b>2.3 Pertumbuhan Sel Khamir.....</b>	15
<b>2.4 Fermentasi pada Adonan Roti .....</b>	19
<b>2.5 Karakteristik Warna, Tekstur, Aroma dan Rasa Roti .....</b>	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	25
<b>3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....</b>	25
<b>3.2 Variabel Penelitian .....</b>	25

3.2.1 Variabel Bebas .....	25
3.2.2 Variabel Terikat .....	26
3.3 Waktu dan Tempat.....	26
3.4 Alat dan Bahan .....	26
3.4.1 Alat Penelitian.....	26
3.4.2 Bahan Penelitian .....	27
3.5 Prosedur Penelitian .....	27
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	27
3.5.2 Pembuatan Media.....	27
3.5.3 Peremajaan Isolat Khamir .....	29
3.5.4 Penambahan Sumber Fosfat .....	29
3.5.5 Pertumbuhan Khamir .....	29
3.5.6 Pembuatan adonan roti.....	31
3.5.7 Pengujian Kualitas Roti.....	32
3.6 Analisis Data .....	33
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
4.1 Pertumbuhan Sel Khamir .....	34
4.2 Kualitas Roti .....	39
4.2.1 Volume (cm <sup>3</sup> ).....	40
4.2.2 Uji Organoleptik .....	46
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>53</b>
5.1 Kesimpulan .....	53
5.2 Saran.....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>63</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Berbagai macam bentuk sel khamir (Rini, 2017) .....	8
Gambar 2.2. Morfologi makroskopis isolat YIS-3.....	10
Gambar 2.3. Morfologi makroskopis isolat YIS-4.....	10
Gambar 2.4. Morfologi makroskopis isolat YIS-7 .....	11
Gambar 2.5. Struktur kimia dua dimensi <i>potassium dihydrogen phosphate</i> (PubMed, 2021) .....	14
Gambar 3.1. Pola perhitungan metode counting chamber.....	31
Gambar 4.1. Pengaruh media fosfat terhadap biomassa sel khamir.....	35
Gambar 4.2. Perbedaan sel khamir hidup dan sel khamir mati. ....	37
Gambar 4.3. Pengaruh media fosfat terhadap jumlah sel hidup khamir..	39
Gambar 4.4. Persentase pengembangan roti setiap 30 menit selama 12 jam	45
Gambar 4.5. Volume akhir roti hasil pemanggangan setelah fermentasi 12 jam .....	46

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 3.1. Desain Penelitian .....</b>	25
<b>Tabel 4.1. Perbedaan Kesukaan Terhadap Karakteristik Organoleptik Antar Jenis Khamir .....</b>	
46Error! Bookmark not defined.	

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kegiatan Penelitian.....	63
Lampiran 2. Hasil perhitungan pertumbuhan sel .....	66
Lampiran 3. Organoleptik roti .....	70
Lampiran 4. Persentase pengembangan adonan pada semua perlakuan tiap 30 menit selama 12 jam.....	86
Lampiran 5. Bukti Konsultasi .....	87

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Di Indonesia, khamir telah banyak digunakan sebagai agen pengembang roti. Penggunaan khamir atau ragi yang digunakan merupakan hasil impor dari berbagai negara. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sari (2020) dihasilkan 3 isolat khamir hasil isolasi dari buah salak pondoh (*Salacca edulis*) yang sangat berpotensi dalam mengembangkan roti, namun isolat khamir yang dihasilkan tidak diketahui jumlah pastinya. Hal ini dikarenakan pada penelitian Sari (2020) pelet yang dihasilkan sedikit sehingga sulit dalam pengambilan pelet untuk ditimbang. Hal ini yang mendasari perlunya peningkatan pelet khamir yang meliputi biomasa dan jumlah sel khamir.

Peningkatan jumlah sel khamir sangat dibutuhkan dalam penggunaan isolat dalam proses fermentasi roti. Peningkatan jumlah sel dapat dilakukan dengan penambahan nutrisi pada media pertumbuhan. Komposisi media memiliki peran penting dalam peningkatan komposisi biomassa (Kolouchova *et al.*, 2016). Media dapat dijelaskan sebagai suatu bahan dengan nutrisi yang digunakan oleh pertumbuhan mikroorganisme (Wachid & Mutia, 2019). Fitria & Lindasari (2021) menambahkan kebutuhan nutrisi yang tercukupi akan mengoptimalkan fermentasi yang terjadi.

Media *Yeast Peptone Glucose* (YPG) merupakan media kaya yang umum digunakan dalam pertumbuhan khamir. Media ini memberikan metabolit esensial yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel yang optimal. Media YPG memiliki

komponen *yeast extract*, pepton dan glukosa (Azzaz *et al.*, 2020). Pepton dan glukosa berupa makromolekul yang merupakan makronutrien yang dibutuhkan pada pertumbuhan khamir. Makronutrien dibutuhkan dalam jumlah milimolar dan terdiri atas sumber karbon, sumber nitrogen dan sumber mineral (Walker, G. M., & Stewart, G. G., 2016). Komponen media khamir untuk fermentasi harus memenuhi kebutuhan elemen dasar untuk pembentukan biomassa dan produk fermentasi. Sumber karbon dan sumber nitrogen telah terpenuhi pada media YPG, sehingga perlu zat tambahan dalam media fermentasi berupa sumber mineral. Salah satu sumber mineral yang digunakan adalah fosfat.

Allah berfirman dalam Al-Quran surah Fussilat [41] : 39 yang berbunyi:

وَمِنْ ۝ ءَالْيَهُ أَتَكَ تَرَىٰ أَلْ ۝ أَرْ ۝ حَسْ ۝ خُشْعَةٌ ۝ فَإِذَا ۝ أَنْزَلْ ۝ عَلَيْ ۝ هَا أَلْ ۝ مَا ۝ أَهْ ۝ تَرَزَّتْ ۝  
وَرَبَّتْ ۝ إِنَّ اللَّهَ يَ ۝ أَحْ ۝ يَا ۝ لَهَا لَمْحَ ۝ يِ ۝ أَلْ ۝ مَوْتَىٰ ۝ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْ ۝ قَدِيرٌ ۝ ۲۹

Artinya: “Dan sebagian dari tanda-tanda (kebesaran)-Nya, engkau melihat bumi itu kering dan tandus, tetapi apabila Kami turunkan hujan di atasnya, niscaya ia bergerak dan subur. Sesungguhnya (Allah) yang menghidupkannya pasti dapat menghidupkan yang mati;sesungguhnya Dia Mahakuasa atas segala sesuatu.” (QS: Fussilat [41]: 39).

Ayat diatas memaparkan tentang fosfat yang terkandung didalam air hujan mampu bertindak sebagai nutrisi bagi makhluk hidup. Kata الماء dalam *tafsir Ibnu Katsir* (2003) menjelaskan bahwa Air yang mampu memberikan kehidupan sehingga menghidupkan makhluk hidup yang diperlukan oleh manusia dalam kehidupan. Air merupakan komponen penting bagi makhluk hidup. Air hujan mengandung elemen penting seperti fosfat, yang dihasilkan oleh air yang menguap dari air laut membawa bahan organik hasil merevitalisasi tanah. Tidak hanya tumbuhan yang memerlukan fosfat sebagai garam mineral yang dibutuhkan dalam pertumbuhan tanaman. Fosfat juga merupakan ion anorganik sebagai

makronutrien esensial yang diperlukan untuk fungsi dan regulasi seluler khamir (Samyn, D, & Persson, B. L., 2016).

Fosfat dibutuhkan khamir untuk biosintesis nukleotida (Yadav *et al.*, 2016). Salah satu rangka utama nukleotida terdiri dari gugus fosfat dan gula yang berselang-seling (Fazrin dkk., 2019). Hal ini yang mendasari perlunya penambahan senyawa fosfat dibandingkan senyawa yang lainnya. Berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan dengan konsentrasi 0,01% didapatkan hasil biomassa tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Pada penelitian Ahmed, S *et al.*, (2010) dengan penambahan fosfat 0,01%, mampu meningkatkan biomassa khamir *Arachniotus* sp., dan *Candida utilis* dibandingkan khamir tanpa penambahan fosfat pada media. Hal ini diperkuat dengan penelitian Oudrago *et al.*,(2018) bahwa pada *Candida utilis* dengan penambahan fosfat 0,01% mengalami kenaikan 3 g/L. Syafiq *et al*, (2002) melaporkan khamir *Saccharomyces cerevicae* dengan penambahan 0,01% dihasilkan biomassa 4,03 g/L.

Penggunaan fosfat yang digunakan *Potassium dihydrogen Phosphate* ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) yang merupakan jenis fosfat yang banyak ditemukan di alam.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  memiliki sifat toksik dengan kadar berlebihan pada khamir. Penelitian Quan (2001) melaporkan bahwa dengan penambahan 0,3 g/L menyebabkan khamir *Candida utilis* tidak mampu melakukan *budding*.

Hasil isolat khamir yang didapatkan, dicampurkan dalam adonan roti. Khamir yang dimasukkan akan merombak gula yang akan membentuk karbondioksida dan alkohol. Gas karbondioksida ini yang akan terperangkap pada adonan yang menyebabkan adonan mengembang dan menghasilkan roti yang

empuk (Sitepu, 2019). Sedangkan alkohol berperan dalam terbentuknya aroma dan cita rasa pada roti (Munteanu *et al.*, 2019). Keberhasilan proses fermentasi dapat dilihat dengan mengukur kenaikan volume adonan fermentasi akibat hasil dari CO<sub>2</sub> sedangkan adanya alkohol dapat dinilai dari aroma dan rasa yang terbentuk dari roti dengan pengujian hedonik (kesukaan) dengan melibatkan panelis (Sitepu, 2019). Penelitian pembuatan roti menggunakan isolat khamir endofit buah salak pondoh dengan penambahan nutrisi fosfat belum pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Khamir yang digunakan adalah 3 isolat yang sangat berpotensi yaitu yang telah dibuktikan dalam serangkaian uji pada penelitian Sari (2020) yaitu strain YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 dengan dihasilkan sedikit pelet, sehingga belum mampu untuk memenuhi hasil yang diinginkan. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka perlu dilakukan suatu penelitian penambahan nutrisi media isolat sel khamir hasil isolasi buah salak pondoh yang berpotensi untuk meningkatkan pertumbuhan sel khamir serta dilakukan pengukuran volume adonan roti dan sifat organoleptik roti melalui fermentasi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah

1. Bagaimanakah pengaruh penambahan Fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) dalam pertumbuhan biomassa dan jumlah sel YIS-3, YIS-4, YIS-7?
2. Bagaimanakah pengaruh khamir Yis-3, Yis-4 dan Yis-7 dengan penambahan nutrisi Fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) pada media pertumbuhan terhadap kualitas roti (volume, rasa, aroma, warna, dan tekstur)?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui pengaruh penambahan fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dalam pertumbuhan isolat YIS-3, YIS-4, YIS-7
2. Mengetahui pengaruh khamir Yis-3, Yis-4 dan Yis-7 dengan penambahan nutrisi Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) pada media pertumbuhan terhadap kualitas roti (volume, rasa, aroma, warna, dan tekstur).

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberikan pengetahuan dengan penambahan nutrisi Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) mampu meningkatkan biomassa sel khamir dan kualitas roti
2. Penelitian ini diharapkan dapat memanfatkan ragi alami yang diperoleh untuk proses pengembangan roti di Indonesia dan diproduksi dalam skala besar sehingga mendapatkan hasil roti yang lebih baik.

### 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Khamir yang digunakan dalam penelitian ini adalah khamir koleksi laboratorium mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang hasil isolasi buah salak pondoh dengan kode YIS-3, YIS-4, YIS-7
2. Media peremajaan khamir adalah YMEA (*Yeast Malt Extract Agar*), YMB (*Yeast Malt Broth*). Media penambahan nutrisi adalah YPG (*Yeast Pepton Glucose*)

3. Sumber fosfat digunakan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
4. Sumber Fosfat dengan konsentrasi 0,01%
5. Parameter uji yang dilakukan yaitu pertumbuhan sel (biomassa dan jumlah sel) dan kualitas roti meliputi pengukuran volume dan uji organoleptik (karakterisasi rasa, warna, tekstur dan aroma)
6. Kontrol positif untuk uji pengembang roti adalah ragi roti merk *fermipan*.
7. Perhitungan sel khamir menggunakan metode *hemocytometer*
8. Lama fermentasi pada media YMB selama 24 jam
9. Lama fermentasi pada media YPG selama 48 jam
10. Lama fermentasi adonan selama 12 jam.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Khamir Endofit Buah Salak Pondoh

Khamir merupakan uniseluler, memiliki bentuk bulat, lonjong atau silindris dengan diameter rata rata 8  $\mu\text{m}$ . Rini (2017) sel khamir memiliki bentuk yang beraneka macam, yaitu bulat, oval, spheroid, silinder, oginal, triangular, botol, apikulat dan membentuk pseudohifa atau miselium (pseudomiselium), (Gambar 2.1). Sel khamir terkandung dua layer dinding sel yang mana sel khamir mampu menyerap nutrisi dan mengeluarkan metabolit (Heitmann *et al.*, 2018). Khamir terbagi atas 2 filum yaitu ascomycetes dan basidiomycetes (Jaques & Casaregola, 2008). Ascomycota dalam kondisi tertentu membentuk askospora dalam sel sedangkan basidiomycota memiliki spora yang berkembang secara eksternal. *Single* sel khamir dapat melakukan *budding* dan *fission*. Khamir merupakan mikroorganisme yang mampu hidup pada buah dan sayuran (Oudrago *et al.*, 2017). Keberadaan khamir sebagai salah satu kelompok mikroorganisme yang hidup di bumi sebagaimana disebutkan dalam firman Allah Swt surat Saba' [34] :

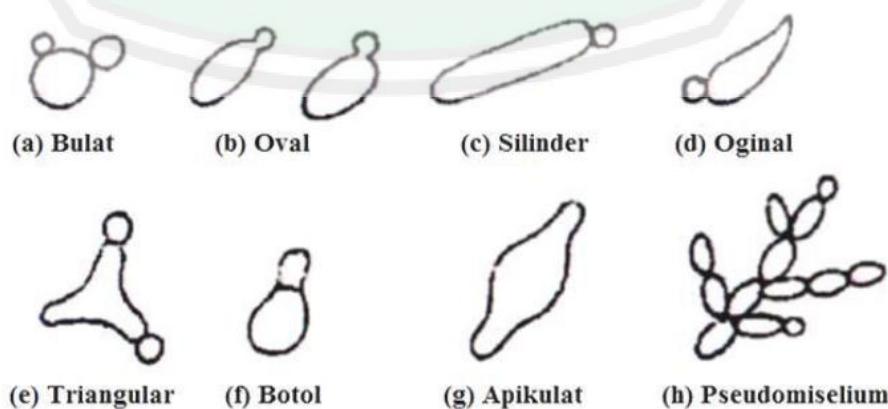
3:

وَقَالَ الَّذِينَ كَفَرُوا لَا تَأْتِنَا السَّاعَةُ ۖ قُلْ بَلَىٰ وَرَبِّي لَتَأْتِنَّكُمْ عَالَمُ الْغَيْبِ ۖ لَا يَعْزُبُ عَنْهُ مِثْقَالُ ذَرَّةٍ  
 فِي السَّمَاوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَلَا أَصْعَرُ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرُ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُّبِينٍ

Artinya: "Dan orang-orang yang kafir berkata: "Hari berbangkit itu tidak akan datang kepada kami". Katakanlah: "Pasti datang, demi Tuhanmu Yang Mengetahui yang ghaib, sesungguhnya kiamat itu pasti akan datang kepadamu. Tidak ada tersembunyi daripada-Nya sebesar zarrahpun yang ada di langit dan yang ada di bumi dan tidak ada (pula) yang lebih kecil dari itu dan yang lebih besar, melainkan tersebut dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)." (Q.S Saba' 34:3)

Ayat diatas menjelaskan bahwa segala sesuatu yang ada di bumi sudah pasti tercatat di lauh mahfuzh. Muhammad Quraish Shihab dalam *tafsir Quraish Shihab* menjelaskan bahwa segala yang ada di alam ini, baik yang lebih kecil atau lebih besar dari atom, semuanya tertulis dalam sebuah buku yang menjelaskannya secara sempurna. Kata نَرْةٌ menunjuk pada suatu benda amat kecil, seukuran anak semut atau debu halus. Frase مِنْقَلْ نَرْةٌ pada ayat ini berarti 'seberat atom'. Ini mengisyaratkan adanya suatu senyawa yang berat jenisnya lebih ringan dari atom. Salah satunya adalah khamir yang berukuran sangat kecil.

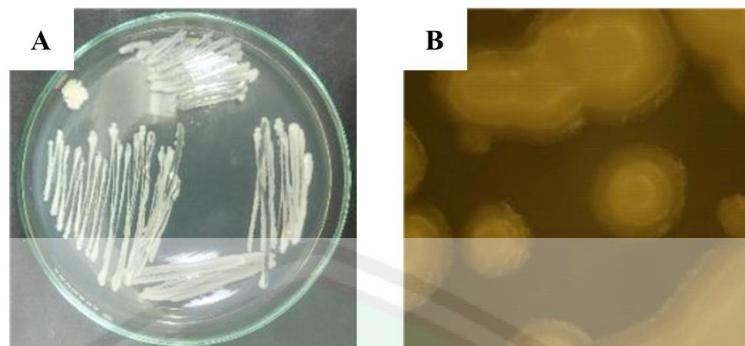
Khamir endofit yang telah mampu diisolasi pada penelitian sebelumnya adalah isolat dari buah-buah lokal Indonesia yang telah diteliti oleh Ridawati & Alsuhendra (2016), dalam penelitian tersebut buah-buah yang digunakan yaitu buah melon, jambu biji, papaya, kedondong, semangka, anggur merah, bengkoang, terong belanda, ciremai, mentimun dan mangga. Penelitian Sari (2020) melaporkan khamir endofit yang telah diisolasi dari daging buah salak pondoh dihasilkan 8 buah isolat yang telah diuji, dengan 3 isolat yang berpotensi sebagai pengembang roti yaitu YIS-3, YIS-4 dan YIS-7.



Gambar 2.1. Berbagai macam bentuk sel khamir (Rini, 2017)

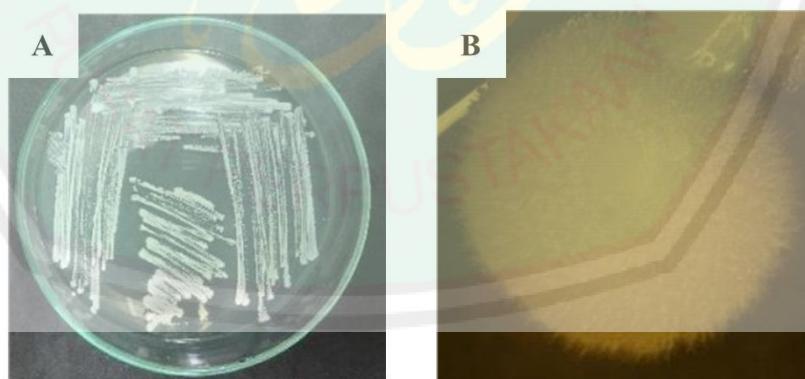
Pengamatan isolat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis dilakukan pengamatan tekstur, warna, permukaan, bentuk dan tepi sedangkan secara mikroskopis dilakukan pengamatan bentuk sel, ukuran sel dan reproduksi aseksual dengan perbesaran 10x100 kali. Hasil isolat diamati memiliki kemiripan dengan kelas ascomycetes hal ini dilihat dari karakteristik khamir yaitu warna dan kemampuan khamir dalam melakukan reproduksi. Karakteristik khamir kelas Ascomycota tidak memiliki warna (Webster & Weber,2007).

Isolat YIS-3 diamati secara makroskopis memiliki warna koloni putih krem, dengan tekstur halus, dan permukaannya kusam (Gambar 2.2a). Isolat YIS-3 terlihat bentuk koloni yang tidak beraturan dengan elevasi yang timbul. (Gambar 2.2b) secara mikroskopis dengan perbesaran 1000 x, sel khamir memiliki bentuk oval dengan ukuran panjang sel khamir  $7,92 \mu\text{m}$  dan lebar  $5,81\mu\text{m}$ . Reproduksi seksualnya askospora dan tidak memiliki hifa sejati ataupun pseudohifa sedangkan repsoduksi aseksual dengan pembentukan tunas (*budding*). *Budding* merupakan reproduksi aseksual yang dilakukan khamir dengan pembentukan sel baru dari sel induk dengan ukuran lebih kecil yang disebut sel anak (Yeong, 2005). Jenis pertunasan khamir YIS-3 adalah tunas multirateral. Tunas jenis ini mampu tumbuh dari berbagai tempat pada permukaan khamir (Kurtzman & Fell., 1998).



**Gambar 2.2. Morfologi makroskopis isolat YIS-3.(a)** Koloni isolat YIS-3;(b) Morfologi koloni isolat YIS-3 (perbesaran 1x)(Sari, 2020)

Isolat Khamir YIS-4 memiliki ciri berkilau berwarna putih bening dengan tekstur kental seperti mentaga (Gambar 2.3a). Khamir ini memiliki permukaan tidak halus warna, bentuk koloni berbentuk oval dengan elevasi dan tepi serabut (Gambar 2.3b). Gambar mikroskopis isolat digunakan 1000x menunjukkan bahwa bentuk yang dimiliki lonjong dengan ukuran  $7,87 \mu\text{m}$  dan lebar sel  $6,17 \mu\text{m}$ . Reproduksi vegetatif dengan cara *budding*.



**Gambar 2.3. Morfologi makroskopis isolat YIS-4.(a)**Koloni isolat YIS-4;(b) Koloni makroskopis isolat YIS-4 (perbesaran 1 kali)(Sari, 2020)

Isolat YIS-7 memiliki ciri berbentuk *circular*, tekstur kental seperti mentega dan berwarna krem (Gambar 2.4a). Koloni khamir ini memiliki

permukaan tidak halus, tepi filamen dan elevasi timbul (Gambar 2.4b). Khamir YIS-7 ini memiliki bentuk yang lonjong dengan panjang sel 9,39  $\mu\text{m}$  dan lebar 4,59  $\mu\text{m}$ . Pada pengamatan sebelumnya, khamir jenis YIS-7 ini memiliki kemampuan reproduksi aseksual pertunasan multilateral, sedangkan reproduksi seksual dengan askospora dan memiliki pseudohifa.



**Gambar 2.4. Morfologi makroskopis isolat YIS-7.(a)Koloni isolat YIS-7;(b) Koloni makroskopis isolat YIS-7 (perbesaran 1 kali)(Sari, 2020)**

Berbagai peran penting dari khamir dalam kehidupan, beberapa khamir dapat dimanfaatkan dalam bidang industri. Salah satunya adalah dalam bidang fermentasi makanan (Suryaningsih dkk., 2018). Secara umum, khamir yang digunakan untuk industri roti harus memenuhi persyaratan sehubungan dengan aplikasi dan karakteristik pengolahannya, seperti produksi gas yang memadai untuk memastikan adonan, toleransi terhadap berbagai macam pH, suhu dan konsentrasi garam/gula, serta pembentukan senyawa aroma yang diinginkan (Heitmann *et al.*, 2018).

Ketiga isolat telah dilakukan uji kemampuan fermentasi, toleransi terhadap konsentrasi glukosa, etanol, suhu, kandungan *hydrogen sulfide* dan uji

kemampuan flokulasi. Ketiga isolat menghasilkan gelembung gas yang merupakan salah satu hasil dari fermentasi. Gas karbondioksida sangat penting dalam mengembangkan adonan tepung, sehingga dipilih khamir yang menghasilkan gas sebagai pengembang roti (Karkiet *et al.*, 2017). Uji glukosa 50% juga dilakukan, dihasilkan kepadatan sel setelah 48 jam. Khamir YIS-3 dan Yis-7 mengalami penurunan pada hari 48 jam, sedangkan isolat YIS-4 terjadi peningkatan nilai *Optical Density*. Penelitian Karki *et al.*, (2017) menunjukkan terdapat penurunan yang signifikan pada semua isolat khamir dalam konsentrasi glukosa 50%. Hasil pengamatan Sari (2020) menunjukkan isolat YIS-4 lebih baik dari penelitian sebelumnya karena memiliki toleransi terhadap tekanan osmotik gula 50%. Asyikeen *et al.*, (2013) menambahkan dari hasil penelitiannya bahwa isolat khamir yang telah diuji kualitatif mampu digunakan sebagai pengembang roti dengan toleransi konsentrasi glukosa 20% (m/v).

Uji flokulasi yang dilakukan pada penelitian Sari (2020) membuktikan 3 isolat khamir mampu memisahkan dari media pertumbuhan. Pembentukan flokulasi menunjukkan adanya jumlah sel khamir yang relatif tinggi (Kevin, 2005). Penggunaan media *Lead acetate Agar* membuktikan khamir tidak terbentuk *hydrogen sulfida*. Pembentukan senyawa ini mampu menghasilkan efek toksik pada makanan. Isolat YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 mengalami peningkatan sel pada suhu 30 °C dan 37 °C. Talukder *et al.*, (2016) menambahkan isolat khamir yang mampu tumbuh dalam suhu 28-30 °C dapat dimanfaatkan dalam membantu fermentasi etanol yang prosesnya digunakan dalam pengembangan roti. Toleransi

etanol pada isolat YIS-3 dan YIS-4 memiliki toleransi 10% dibuktikan dengan penurunan nilai kerapatan pada toleransi etanol 13%.

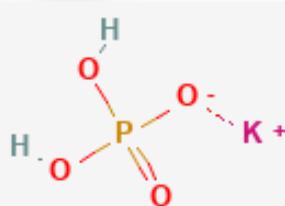
Isolat YIS-7 mengalami kenaikan dua kali lipat dari masa inkubasi 24 jam hingga 72 jam, sehingga YIS-7 memiliki toleransi etanol sebesar 15. Pengujian oleh Akbar (2019) terjadi penurunan dan kenaikan kepadatan sel pada konsentrasi 13% dan 15%. Karki *et al* (2017) menambahkan ragi komersial hanya mampu hidup pada toleransi etanol 10%. Ragi komersial dengan konsentrasi etanol 10% memiliki nilai 0,1 (Negara, dkk 2017). Hal ini membuktikan bahwa isolat khamir hasil isolasi buah salak pondoh memiliki kemampuan toleransi etanol yang lebih baik dari penelitian sebelumnya dengan nilai OD Yis-7 1,023 .

## 2.2 Fosfat

Fosfat yang digunakan merupakan anorganik fosfat yang berperan sebagai makronutrien esensial yang diperlukan untuk fungsi dan regulasi seluler khamir (Samyn, D, & Persson, B. L., 2016). Nutrisi fosfat akan mempengaruhi sinyal pertumbuhan khamir (Hardianto, 2018). Fosfat dalam konsentrasi kecil akan menutrisi khamir untuk tumbuh dan akan bekerja lebih cepat. Khamir menjadikan fosfat sebagai sumber ATP yang akan mengubahnya menjadi bentuk dipolimerasi fosfat yang sering ditemukan dalam mitokondria sel-sel khamir (Wykoff & O'shea, 2001). Fosfat juga memainkan peran penting dalam menjaga sistem transport dalam keadaan homeostasis (Persson *et al.*, 2003). Anorganik fosfat pada ragi terikat pada fosfolipid, nuklotida, fosfoprotein, dan polifosfat. Ragi saat mengalami *phosphate starvation* akan merespon *budding* dengan berbagai cara.

Khamir dapat hidup dalam media cair maupun permukaan media padat. Khamir mampu tumbuh dalam media minimal mengandung dextrose (glukosa) sebagai sumber karbon dan garam mineral berupa fosfat dan logam. Khamir dari genus *Candida*, *Saccharomyces*, *Torulopsis* dan *Lipomyces* mampu mentransfer sumber karbon berupa karbohidrat menjadi lipid. Peningkatan kadar elektrolit anorganik pada media tumbuh cair mempengaruhi aktifitas ragi. Pertama terjadi peningkatan biomassa hasil fermentasi berupa *acetaldehyde*, *glycerol* dan lainnya. Kedua pada khamir *Candida utilis* telah digunakan dalam memproduksi matrial yang berguna seperti asam amino, RNA, glutathione, NAD, dan koenzim A (Ouedrago, 2017).

*Potassium dihydrogen phosphate* merupakan salah satu fosfat anorganik yang juga diketahui sebagai *Potassium monophosphate* (Gambar 2.5). Pada JECFA atau *Evaluations of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* memiliki rumus  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang memiliki fungsi salah satunya adalah sebagai nutrisi pada yeast.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  berbentuk kristal tidak memiliki bau dan tidak berwarna (O'neil, 2006). Memiliki densitas 2.34 g/cu cm (Lide et al., 2005). Memiliki Ph 4,4 hingga 4,7 (O'neil, 2006).



**Gambar 2.5. Struktur kimia dua dimensi *potassium dihydrogen phosphate* (PubMed, 2021)**

Konsentrasi  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  awal media fermentasi terhadap pertumbuhan dan kinetika produksi biomassa khamir strain yeast, konsentrasi  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  digunakan antara 0,1 dan 0,5 g L<sup>-1</sup> (Ibrahim & Lee, 1993). Ouedraogo *et al.*, (2017) menambahkan pada penelitiannya menunjukkan bahwa garam mineral dapat menunjukkan efek peningkat atau penghambat tergantung pada konsentrasi. Dalam kebanyakan kasus, konsentrasi garam mineral yang lebih tinggi menghambat pembentukan biomassa.

### 2.3 Pertumbuhan Sel Khamir

Pertumbuhan dapat diartikan sebagai penambahan jumlah sel dengan bertambahnya protein, air, DNA dan RNA dalam sel. Pengukuran pertumbuhan sel dapat dilakukan perhitungan secara kuantitatif yaitu dengan cara menghitung jumlah sel dan biomasa sel (Mahereni & Sunhery, 2011). Perhitungan sel khamir dapat dilakukan menggunakan metode langsung dan tidak langsung. Parameter yang diamati selama proses fermentasi berlangsung adalah pola pertumbuhan khamir dengan mengukur jumlah sel menggunakan metode perhitungan langsung untuk mengetahui fase (lag, log, stasioner, dan kematian) selama proses fermentasi berlangsung (Tortora Funke, 2002). Menurut Fardiaz (1994) pengukuran jumlah sel khamir dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

1. Perhitungan jumlah sel (Perhitungan mikroskopik; hitungan cawan; MPN)
2. Perhitungan massa sel secara langsung (Gravitimeter; kekeruhan).

Sedangkan menurut Nester *et al.*, (2001) pengukuran jumlah sel khamir dapat dilakukan dengan:

1. perhitungan sel secara langsung (menggunakan bantuan mikroskop atau alat penghitung sel)
2. perhitungan sel hidup (hitungan cawan, dengan membrane filtrasi dan MPN)
3. perhitungan biomassa (turbidimetri, perhitungan berat total)
4. Perhitungan produk-produk yang dihasilkan ( $\text{CO}_2$ ).

Hitungan cawan dilakukan dengan menumbuhkan khamir pada media agar sehingga khamir akan berkembang biak dan membentuk koloni-koloni. Keuntungan menggunakan metode ini adalah hanya sel yang masih hidup yang dihitung, sedangkan kelemahan metode ini adalah hasil perhitungan tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya karena sel yang berdekatan mungkin membentuk satu koloni, media dan kondisi inkubasi yang berbeda mungkin menghasilkan nilai yang berbeda, memerlukan persiapan dan waktu inkubasi yang cukup lama sehingga pertumbuhan koloni dapat dihitung (Fardiaz, 1992).

Perhitungan sel menggunakan mikroskop atau disebut perhitungan mikroskopik. Perhitungan dilakukan dengan bantuan kotak skala dimana dalam setiap ukuran skala seluas  $1 \text{ mm}^2$ . Terdapat 25 kotak dengan luas  $0,04 \text{ mm}^2$  dan tiap kotak memiliki 16 kotak kecil. Hitungan metode ini memiliki keuntungan dapat diketahui secara langsung jumlah khamir yang ada namun juga memiliki kelemahan yaitu tidak bisa membedakan khamir yang masih hidup dan yang sudah mati (Fardiaz, 1992). Kelemahan metode mikroskopik dapat diatasi dengan penggunaan *methylen blue*. Penambahan *methylene blue* dilakukan untuk

membedakan antara sel khamir yang hidup dan yang mati. *Methylene blue* akan masuk melalui membran sel khamir (Suryaningsih dkk., 2018). Edwards (2007) *methylene blue* akan menghasilkan warna ketika terjadi reaksi reduksi oksidasi. Reduksi menyebabkan warna memudar dan oksidasi menyebabkan munculnya warna biru. Sel khamir yang hidup memiliki kemampuan untuk mereduksi pewarna *methylene blue* sehingga warna memudar. Sel khamir yang mati tidak mampu mereduksi *methylene blue*, sehingga *methylene blue* teroksidasi dan muncul warna biru.

Biomassa khamir pada bidang industri merupakan material yang mengandung senyawa yang cocok terhadap produksi makanan, pakan dan biokimia (Ferreira *et al.*, 2010). Komposisi kimia khamir bergantung pada strain, media pertumbuhan dan kondisi pertumbuhan, dan keadaan setelah proses fermentasi (Overland & Skrede, 2017). Biomassa ragi biasanya ditemukan dalam bentuk bubuk, serpihan, tablet (kapsul), atau dalam bentuk cair (Jach & Serefko, 2018).

Biomassa khamir terdiri atas dinding sel, membran plasma, nukleus mitokondria dan vakuola. Dinding sel terdiri atas karbohidrat 76-84 %, hexoseamin 1-2 %, protein 7% dan lipids. Pada plasma membran, terkandung lipid 5-39 %, Total Nitrogen 1.1-9.1 %, total karbohidrat 4-6 % total fosfat 0.07-1.21 % dan sterols 0.5-0.6 %. Inti dari khamir dikelilingi oleh selubung yang ditandai dengan adanya pori. Mikrotubulus adalah organel penting yang diperlukan untuk mengatur sitoskeleton. Karakteristik utama pada mitokondria adalah terdapat membran dalam dan membrane luar. Ukuran, bentuk, jumlah dan

komposisi mitokondria sangat bervariasi dalam kondisi pertumbuhan yang berbeda. Saat kondisi pertumbuhan anaerobik, kandungan asam lemak tak jenuh dalam fosfolipid mitocondrial digantikan oleh asam lemak dan kandungan sterol. Vakuola merupakan organel subseluler dalam khamir yang mengandung berbagai enzim hidrolitik seperti protease yang mampu mendegradasi organel intraseluler (Halász, A. & Lásztity, R., 2017).

Biomassa khamir mengandung lemak, karbohidrat, asam nukleat, vitamin dan mineral (Jach & Serefko, 2018). Hietmann *et al.*,(2018) menambahkan khamir pengembang roti mengandung 30-33% material kering, 40,6-58,0% protein, 35-45 % karbohidrat, 5- 7,5 % mineral dan 4-6 % lipid dan beberapa vitamin. Khamir mampu mensintesis konsituen makromolekul seperti protein dan asam nukleat dari gula dan nutrisi penting seperti nitrogen, fosfat anorganik dan sulfat, serta mineral dan vitamin tambahan. Kandungan protein bervariasi antara 40% sampai 55% bahan kering termasuk kandungan asam nukleat (Overland & Skrede,2017). Kualitas hasil produk fermentasi khamir berdasarkan jenis mikroorganisme yang terlibat dalam proses. Beberapa senyawa terbentuk selama fermentasi termasuk asam organik misalnya, asam palmitat, piruvat, laktat, asetat, propionate dan butirat), alkohol (terutama entanol) aldehida dan keton (Malik, 2016). Jumlah sel berbanding lurus dengan jumlah enzim yang diproduksi. Peningkatan suhu berpengaruh terhadap penghambatan produksi kerja enzim dan kerusakan struktur sel singga pertumbuhan akan terhambat (Tortoro *et al.*, 2016).

## 2.4 Fermentasi pada Adonan Roti

Khamir merupakan eukariotik dalam kingdom fungi yang mana mampu untuk melakukan fermentasi gula menjadi alkohol dan karbondioksida (Heitmann *et al.*, 2018). Khamir telah digunakan dalam pembuatan roti sejak zaman dulu dan memiliki peran yang penting dalam sejarah dan nutrisi manusia (Carbonetto *et al.*, 2018). Fermentasi adonan yang telah diberi ragi merupakan fase penting dalam proses pembuatan roti. Kinerja fermentasi sel ragi selama fermentasi sangat penting untuk kualitas akhir roti, hal ini karena sel khamir menghasilkan CO<sub>2</sub> dan metabolit lain yang berpengaruh pada adonan, tekstur, volume dan rasa roti (Struyf *et al.*, 2017). Selama fermentasi, ragi/khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang ditambahkan pada proses pembuatan roti akan menghasilkan gas CO<sub>2</sub> hasil dari metabolisme glukosa. Gas CO<sub>2</sub> yang terbentuk akan meningkatkan pertumbuhan gelembung udara pada roti. Semakin lama waktu fermentasi, gas CO<sub>2</sub> yang terbentuk akan semakin banyak dan berdifusi ke dalam gelembung gas dalam adonan yang mengakibatkan gelembung bertambah banyak dan memperluas adonan (Cauvin., 2012; Nur'utami *et al.*, 2020).

Karki *et al.*, 2017 melaporkan, penggunaan 0.6 g pelet khamir dalam mengembangkan roti membutuhkan 50 g tepung terigu, 1 % garam yang dicampur dengan tepung. 6 % gula yang dicairkan pada air hangat. Khamir direndam dengan larutan gula terlebih dahulu untuk aktivasi. Terdapat 3 sumber gula pada adonan roti: a) gula alami yang terkandung dalam tepung (glukosa, sukrosa, fruktosa, dan maltosa), b) penambahan gula pada adonan, dan c) maltosa yang dihasilkan oleh pemecahan amilolitik pada pati. Pati yang terkandung dalam

tepung akan mengalami kerusakan akibat proses penggilingan, memungkinkan mengembang dalam air dan mudah terhidrolisis oleh  $\alpha$ -amylase (Declour *et al.*, 2010; Carbonetto *et al.*, 2018).

Khamir merupakan anaerob fakultatif yang mampu hidup dengan adanya oksigen ataupun tidak. Secara umum khamir mempu mengubah gula menjadi CO<sub>2</sub> dan energi dalam keadaan aerob. Dalam keadaan kurang oksigen khamir mengubah gula menjadi etanol, karbondioksida dan gliserol. Hasil dominan dalam fermentasi sangat mempengaruhi kualitas roti adalah karbondioksida dan etanol (Trevelyan & Harrison, 1952; Pronk *et al.*, 1996; Heitmann *et al.*, 2018).

Allah berfirman dalam surat An-Nahl [16]: 67 yang berbunyi

وَمِنْ ثَمَرَتِ الْتَّحِيلِ وَأَلْأَعْنَابِ تَسْخِدُونَ مِنْهُ سَكَرٌ وَرِزْقًا حَسَنَاً إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً يَعْلَمُ بِهِمْ يَقُولُونَ ٦٧

Artinya : “Dan dari buah kurma dan anggur, kamu buat minuman yang memabukkan dan rezeki yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang memikirkannya” (QS: An-Nahl [16]: 67).

Kalimat لِتَخِيلِ وَالْأَعْنَابِ menjelaskan tentang buah buahan kurma dan anggur.

Berdasarkan *tafsir Qurais Shihab* menjelaskan dari buah kurma dan anggur yang telah kami karuniakan, kalian dapat membuat minuman yang buruk dan memabukkan atau makanan lainnya yang baik dan halal. Sesungguhnya pada karunia itu terdapat pertanda kekuasan dan kasih sayang Allah bagi kaum yang mau menggunakan akal pikiran mereka.

Ayat diatas menyebutkan bahwa buah buahan yaitu anggur dan kurma mampu untuk menghasilkan makanan yang halal dan haram seperti alkohol. Ibnu Abbas telah mengatakan sehubungan dengan makna firman-Nya: ....minuman yang memabukkan dan rezeki yang baik.....

Minuman yang memabukkan ialah minuman haram yang terbuat dari keduanya (kurma dan anggur), sedangkan yang dimaksud dengan rezeki yang baik ialah hal-hal yang dihalalkan dari hasil keduanya. Hasil fermentasi berupa alkohol dihalalkan dalam kadar yang tidak memabukkan.

Alkohol merupakan hasil dari fermentasi anaerobik dari khamir. Khamir yang telah digunakan merupakan hasil isolasi dari buah salak pondoh yang mengandung karbohidrat seperti anggur dan kurma yang merupakan substrat pertumbuhan khamir. Khamir yang digunakan dalam mengembangkan roti mampu berdampak pada struktur, warna, rasa dan ph pada roti yang dihasilkan (Heitmann *et al.*, 2018).

Hasil volume roti yang diharapkan dengan fermentasi khamir dapat dihasilkan apabila lingkungan yang menguntungkan untuk khamir dan pembentukan matrik gluten yang memungkinkan penekanan gas maksimum (Heitmann *et al.*, 2018). Kemampuan roti mengembang berkaitan erat dengan kemampuan adonan dalam membentuk dan menahan gas yang dihasilkan selama fermentasi (Yasa *et al.*, 2016). Ukuran volume roti yang dihasilkan ditentukan oleh fermentasi yang dilakukan sebelum adonan dipanggang. Apabila selama fermentasi adonan mengembang dengan baik maka roti yang dihasilkan memiliki pengembangan volume yang besar pula (Wulandari & Lembong, 2016). Protein pada tepung apabila dicampurkan dengan air maka akan membentuk massa elastis yang disebut gluten. Sifat elastis dari gluten memungkinkan adonan dapat menahan gas hasil dari fermentasi, hal itu yang memungkinkan terjadinya pengembangan pada adonan roti (Wahyudi, 2003).

## 2.5 Karakteristik Warna, Tekstur, Aroma dan Rasa Roti

Mutu pada roti pada umumnya tergantung pada 4 faktor, yaitu warna, tekstur, aroma, dan rasa. Secara visual warna sangat penting dalam menentukan indikator kematangan, baik tidaknya pencampuran atau pengolahan ditandai dengan warna yang merata (Saepudin dkk., 2017). Warna dijadikan parameter pertama yang dinilai oleh panelis. Warna roti yang menarik sangat menentukan derajat penerimaan dari suatu bahan pangan (Saepudin dkk., 2017). Warna kecoklatan pada roti disebabkan adanya reaksi *maillard* dan adanya karamelisasi gula saat pemanggangan berlangsung. Reaksi *maillard* merupakan reaksi yang terjadi antara gugus amin yang ada pada asam amino dengan gula pereduksi sehingga menimbulkan warna kecoklatan (Andragogi dkk., 2018).

Aroma merupakan salah satu atribut sensori yang dinilai menggunakan indera penciuman dengan kriteria roti tawar yang baik memiliki aroma harum (khas roti) (Maulida dkk., 2019). Aroma dan rasa merupakan parameter kualitas penting pada roti. Hal ini dipengaruhi oleh bahan dan fermentasi sekunder produk yang diproduksi oleh ragi dan dihasilkan di bawah kondisi memanggang. Senyawa yang paling berpengaruh adalah senyawa volatil seperti alkohol, aldehyda dan keton serta senyawa nonvolatil seperti asam, ester, gula, senyawa fenolik asam lemak bebas, dan lipid (Hui, 2006; Hietmann *et al.*, 2018). Senyawa nonvolatil bertindak terutama sebagai prekursor untuk reaksi yang membentuk senyawa rasa baru. Aroma adalah bau yang ditimbulkan oleh rangsangan kimia yang terciptakan oleh syaraf-syaraf olfaktori yang berada didalam rongga hidung ketika makanan masuk ke mulut (Peckham, 1969; Adiluhung dkk., 2019). Gula

yang tersisa dari fermentasi berpengaruh pada aroma karena reaktivitasnya yang tinggi dalam reaksi *Maillard* (Nilsson *et al.*, 1987; Hietmann *et al.*, 2018). Reaksi *Maillard* adalah mekanisme kompleks antara gula pereduksi seperti maltosa, glukosa, dan fruktosa serta asam amino seperti leusin dan fenilalanin, peptida dan atau protein selama memanggang, memengaruhi warna, rasa, dan sifat nutrisi produk yang dipanggang (O'Brien *et al.*, 1989; Hietmann *et al.*, 2018).

Tekstur merupakan komponen penting dalam menentukan kualitas roti. Hal ini berpengaruh terhadap rasa pada waktu mengunyah, bahan memiliki cita rasa dari bahan pangan sesungguhnya yang terdiri atas 3 komponen yaitu bau, rasa dan rangsangan mulut (Saepudin, 2017). Tingkat kesukaan panelis terhadap tekstur roti dipengaruhi oleh kelembutan dari roti (Anggarawati *et. al.*, 2019). Pusuma *et al.* (2018) menambahakan bahwa panelis menyukai roti tawar yang lunak dan elastis. Tekstur roti dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu danya kandungan protein, kadar air dan lemak dari bahan baku pembuatan roti (Choiriyah & Dewi, 2020).

Rasa merupakan faktor yang paling penting dalam menentukan keputusan bagi konsumen untuk menerima atau menolak suatu makanan ataupun produk pangan (Saepudin dkk., 2017). Hasil uji organoleptik terhadap rasa bertujuan untuk mengetahui tingkat respon dari penelis mengenai kesukaannya terhadap roti pada masing-masing perlakuan. Menurut Sitepu (2019) konsentrasi sangat mempengaruhi rasa dalam roti. Nilai panelis terbaik pada konsentrasi 2%. Semakin banyak khamir yang digunakan maka semakin banyak perombakan gula menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> hal ini yang menyebabkan perasa pada gula berkurang.

Karakteristik warna, tekstur, aroma dan rasa digunakan dalam uji organoleptik. Uji organoleptik merupakan suatu penilaian produk dengan panca indra (Surono dkk., 2017). Salah satu metode yang digunakan adalah metode hedonik yang melibatkan panelis atau konsumen (Sitepu, 2019). Uji hedonik merupakan salah satu jenis uji penerimaan (*acceptable test*) terhadap suatu produk. Uji hedonik telah banyak dilakukan untuk mengukur tingkat kesukaan terhadap produk. Parameter yang diuji pada uji hedonik meliputi rasa dan aroma dengan tingkat kesukaan berupa skala hedonik (Adihulung dkk., 2018).



### **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 & Jayantika, 2018). Dalam hal ini dilakukan manipulasi pada jenis khamir yang diberi perlakuan penambahan fosfat 0,01% pada media pertumbuhan. Adapun rancangan penelitian yang digunakan 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	Aroma	Warna	Tekstur
YIS-3	0,01%	RP3	AP3	WP3	TP3
YIS-4		RP4	AP4	WP4	TP4
YIS-7		RP7	AP7	WP7	TP7

#### **3.2 Variabel Penelitian**

Variabel yang digunakan pada penelitian ini yaitu:

##### **3.2.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah isolat khamir YIS-3, YIS-4, 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 fosfat 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 ependorf 15 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, *shaker incubator*, timbangan analitik, batang pengaduk, Bunsen, pipet tetes, cover glass, *Haemocytometer*, mikroskop, penggaris, botol kaca, pH meter, hotplate, mixer, oven, vortex, *incubator*, *microtube*, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, sentrifuge, alat tulis, dan kamera.

### **3.4.2 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Isolat khamir (YIS3, 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,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , media pengembangan adonan roti (gula (sukrosa), garam, tepung terigu, mentega (Watanabe *et al.*, 2016), ragi komersil (Fermipan), alumunium foil, plastik, tisu, kertas wrap, kertas, dan label.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian dilakukan sterilisasi alat dengan cara dibungkus alat-alat kaca dengan kertas dan dimasukkan pada plastik tahan panas ukuran 1 kg, kemudian dimasukkan kedalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inchi) selama 15 menit.

#### **3.5.2 Pembuatan Media**

##### **3.5.2.1 Media Yeast Ekstract 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* dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Ditambahkan antibiotik Sodium DL-Lactose sebanyak 120  $\mu\text{l}$  pada saat suhu media 50°C (Biomedical

Engineering, 2015; Citra, 2019). 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 digunakan bahan media 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). Larutan media dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan dipanaskan diatas hot plate. Ditambahkan antibiotik Sodium DL-Lactose sebanyak 120 µl pada saat suhu media 50°C (Biomedical Engineering, 2015; Citra, 2019). Media yang homogen ditutup mulut labu erlenmeyer dengan menggunakan kasa dan kapas. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

### **3.5.2.3 Media Yeast Peptone Glucose (YPG)**

Media YPG dibuat dengan komposisi yeast extract 3 g/L, pepton 5 g/L, dan glukosa 20g/L. Bahan dilarutkan dalam 1000 ml akuades pada labu Erlenmeyer. Media dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan dipanaskan diatas *hot plate* untuk mempercepat kelarutan. Media yang homogen ditutup pada mulut labu erlenmeyer menggunakan kapas yang dibalut dengan kasa. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit (Murad *et al.*, 2019).

### **3.5.3 Peremajaan Isolat Khamir**

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

### **3.5.4 Penambahan Sumber Fosfat**

Sumber fosfat yang digunakan berupa  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dengan konsentrasi 0,01% (Ahmed *et.al*, 2010). Konsentrasi ditambahkan pada 300 ml media YPG. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 120 °C selama 15 menit. Setelah dilakukan sterilisasi, media ditunggu hingga dingin kemudian diinokulasikan dengan 10% isolat khamir Yis-3 Yis-4 dan Yis-7 hasil perbanyakan dalam media YMB secara aseptik didalam *Laminar Air Flow* (LAF) kedalam tabung eppendorf yang berisi media YPG dengan total volume 10 ml (Nancib *et al*, 1997). Diinkubasi pada shaker pada 140 rpm selama 48 jam suhu 33 °C (Zohri *et al.*, 2017). Setelah diinkubasi kemudian dilakukan pengujian pertumbuhan sel khamir.

### **3.5.5 Pertumbuhan Khamir**

#### **3.5.5.1 Penentuan Biomassa Sel**

Biomassa sel atau pelet yang akan ditimbang, terlebih dulu dipisahkan dengan media menggunakan sentrifuge pada kecepatan 4.000 rpm selama 30

menit. Media dibuang dan pelet ditimbang untuk menentukan produksi biomassa dalam pembuatan adonan roti (Modifikasi Karki *et al.*, 2017). Penimbangan biomassa dilakukan pada setiap tabung eppendorf. Masing-masing tabung eppendorf yang berisi biomassa dikurangi tabung eppendorf kosong yang sebelumnya sudah ditimbang. Hasil selisih yang didapatkan merupakan berat biomassa yang digunakan, dapat ditulis rumus (Yuliana, 2008 dimodifikasi):

$$B = TB - TK$$

Keterangan

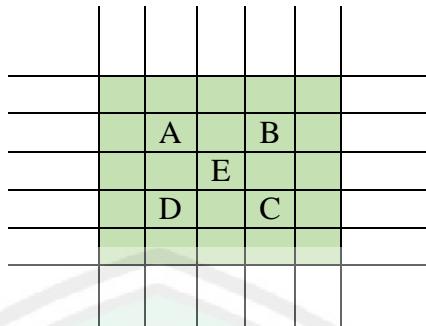
TK : Tabung Kosong

TB : Tabung + Biomassa

B : Hasil Biomassa

### 3.5.5.2 Penentuan Jumlah Sel

Penentuan jumlah sel dilakukan berdasarkan Mahardika (2019) yang dimodifikasi. *Haemocytometer* dan *cover glass* yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. *Cover glass* yang telah dibersihkan, diletakkan di atas permukaan *chamber* pada *Haemocytometer*. Inokulum khamir diambil 100  $\mu\text{L}$  ditambah 100  $\mu\text{L}$  pewarna *methylene blue* kemudian diencerkan dengan akuades steril hingga volume akhir 1 ml dan dihomogenkan menggunakan vortex. Suspensi khamir yang telah diencerkan diambil 20  $\mu\text{L}$  untuk diamati pada mikroskop. 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* (Dok. Pribadi)**

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

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

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

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

keterangan :

$10^4$  = konversi 0,1  $\mu\text{L}$  dalam 1 mL dari volume 1 kotak dalam *chamber Haemocytometer*.

### 3.5.6 Pembuatan adonan roti

Proses pembuatan roti digunakan pengembang adonan berupa biomassa (pelet) khamir yang telah didapatkan pada perlakuan 3.5.5.1. Takaran bahan yang digunakan sesuai dengan Watanabe *et al.*, (2016) yang dimodifikasi. Pembuatan adonan roti diawali dengan menimbang bahan yang digunakan, terdiri dari 200 gr tepung terigu, 3 gr garam, 15 gr gula, 16 gr mentega, 1,2% (2,4 gr) pelet khamir, dan 110 ml akuades. Semua bahan dicampurkan dan diulenai hingga menjadi adonan yang kalis. Maryam *et al.*, (2017), menyatakan pada pengujian ini

dilengkapi dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif digunakan ragi komersial *Fermipan*. Kontrol negatif tidak ditambahkan pelet khamir pada adonan roti. Masing-masing sampel adonan, ditimbang sebanyak 300 gr dan dimasukkan dalam silinder ukur. Adonan diinkubasi pada suhu ±30 °C serta diamati volume pengembangan adonan kemudian dilakukan proses pemanggangan dengan 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 (diameter dan tinggi), serta rasa, aroma, warna, dan tekstur (Watanabe *et al.*, 2016).

#### 3.5.7.2 Pengukuran Volume Adonan

Pengukuran volume pada adonan roti dilakukan dengan cara mengukur kenaikan volume (Daya kembang roti) (Pusuma dkk., 2017; Ayati *et.al*, 2017). Pengukuran daya kembang dilakukan dengan membandingkan volume roti setelah diinkubasi pada waktu adonan akhir dengan adonan awal dilakukan tiap interval waktu 30 menit selama 12 jam. Proses pengukuran volume adonan dilakukan didalam cetakan yang sebelumnya telah diketahui ukurannya. Tinggi adonan diukur secara manual dengan menggunakan penggaris. Setiap pengamatan dihitung volume dengan rumus tabung  $V = \pi \times r \times r \times t$  atau sesuai dengan cetakan yang digunakan.

### 3.5.7.3 Aroma, Rasa, Warna, dan Tekstur Roti

Pengujian aroma, rasa, warna dan tekstur pada roti dilakukan secara organoleptik dengan metode hedonik, yaitu pengujian tingkat kesukaan yang melibatkan 30 penelis atau konsumen. Panelis diminta memberikan penilaian berdasarkan tingkat kesukaan dengan menggunakan skoring 1-5 dengan keterangan 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = agak suka, 4 = suka dan 5 = sangat suka (Choiriyah dan 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 grafik dan diagram batang. Sedangkan untuk data hasil uji organoleptic dianalisis dengan uji Kruskal Wallis karena data berupa non parametrik. Jika terdapat perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut Mann Whitney dengan taraf signifikansi 5%. Data diolah dengan bantuan program SPSS (Lestari dkk., 2019).

## BAB IV

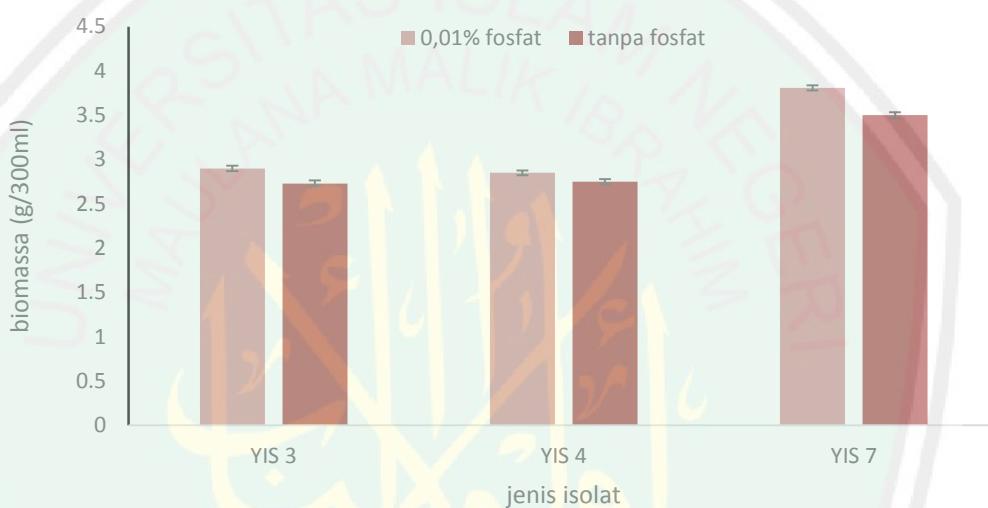
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pertumbuhan Sel Khamir

Pertumbuhan ragi melibatkan transportasi dan asimilasi nutrisi diikuti dengan integrasi ke dalam berbagai komponen seluler agar sel-sel meningkatkan biomassa dan akhirnya membelah (Walker *et al.*, 2016). Hasil uji pertumbuhan khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 berdasarkan biomassa sel dan jumlah sel khamir. Sel khamir setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28 °C, ditimbang dan didapatkan hasil pada Gambar 4.1. Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui jumlah biomassa terbanyak. Pada 48 jam dan suhu 28 °C didapatkan biomassa lebih banyak dari waktu inkubasi 24 jam dan 72 jam pada media YPG. Hal ini sesuai dengan Anggrayeni & Kusdiyantini (2019) bahwa inokulasi khamir dilakukan pada media *Yeast Glucose Peptone* (YPG) membutuhkan waktu 48 jam dengan suhu 28 °C.

Hasil biomassa dengan penambahan fosfat pada media pertumbuhan memiliki hasil yang lebih tinggi daripada tanpa penambahan fosfat pada media pertumbuhan. Hasil tertinggi didapatkan oleh YIS-7 dengan perlakuan fosfat 0,01% (Yis-7P). Penambahan fosfat 0,01% mampu meningkatkan biomassa khamir dibandingkan khamir tanpa penambahan fosfat pada media (Ahmed, S *et al.*, 2010). Penambahan mineral berdampak signifikan terhadap biomassa dan etanol (Slininger *et al.*, 2006). Fosfat dibutuhkan dalam biosintesis asam nukleat, fosfolipid dan ATP. Kandungan fosfat dalam khamir sekitar 3-5 % dari berat kering yang akan bertindak sebagai substrat dan enzim efektor (Walker *et al.*,

2016). Penambahan fosfat pada media pertumbuhan akan menginduksi *osmotic stress*. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup khamir bergantung terhadap kemampuan masing-masing genus dalam bertahan terhadap kondisi tekanan osmotik (Reyes *et al.*, 2016). YIS-7 pada penelitian sebelumnya diduga merupakan golongan *Pichia* sp. Golongan *Pichia* sp tekanan osmotik akan mengalami peningkatan metabolit (Reyes *et al.*, 2016).



**Gambar 4.1. Pengaruh media fosfat terhadap biomassa sel khamir**

Media yang digunakan dalam pengujian biomassa digunakan sumber karbon berupa glukosa, pepton dan *yeast extract*. Menurut Walker *et al.* (2016) selain sumber gula dan nitrogen dalam media fermentasi, khamir juga membutuhkan suplai mineral yang sering diabaikan sebagai penentu penting dari kinerja fermentasi khamir, terlepas dari sifat dan konsentrasi ion logam yang digunakan dalam media pertumbuhan dapat memiliki dampak yang signifikan pada fermentasi ragi. Fosfat merupakan salah satu mineral yang dibutuhkan dalam konsentrasi milimolar. Sebagaimana firman Allah dalam Surah Yunus [10]: 101

فِي أَنْظُرُوا مَاذَا فِي السَّمَاوَاتِ وَأَلْأَرَضِ ۝ وَمَا تُعْلَمُ بِهِ أَلْأَيْتُ وَاللَّذُرُ عَنْ قَوْمٍ لَا يُؤْمِنُونَ ۖ ۱۰۱

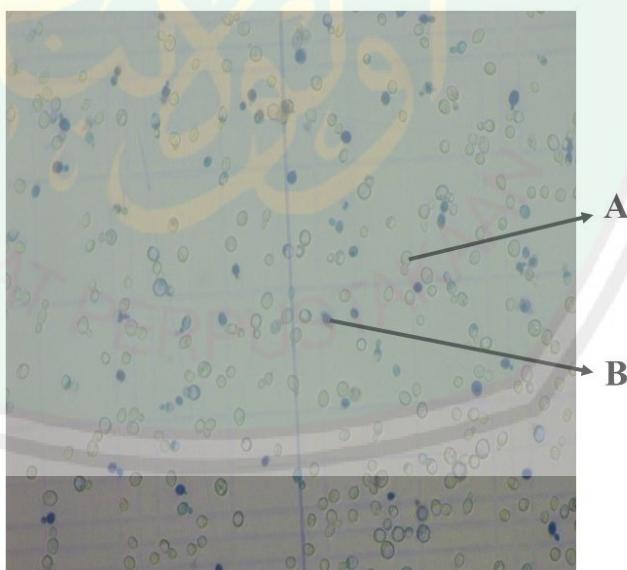
*Artinya: "Katakanlah (Nabi Muhammad), "Perhatikanlah apa saja yang ada di langit dan di bumi!" Tidaklah berguna tanda-tanda (kebesaran Allah) dan peringatan-peringatan itu (untuk menghindarkan azab Allah) dari kaum yang tidak beriman." (QS: Yunus [10]: 101).*

Kata **الْأَيْتُ** dapat menjelaskan tentang bagaimana tanda-tanda kebesaran

Allah yang ada di bumi dan di langit. Dalam *tafsir Ibnu Katsir* (2003) Allah memberikan petunjuk kepada hamba-hamba-Nya untuk merenungkan tanda-tanda kekuasaan-Nya dan semua makhluk yang diciptakan Allah di langit dan di bumi, yang semuanya itu mengandung tanda-tanda yang jelas yang menunjukkan akan kekuasaan Allah Yang Maha besar bagi orang-orang yang berakal. Iryani (2017) menjelaskan pada surat Yunus ayat 101 tentang sindiran, perintah dan anjuran untuk melakukan penelitian secara intensif mengenai apa yang ada di langit dan di bumi. Hal ini yang melatarbelakangi bahwa dengan penambahan media fosfat pada YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 mampu meningkatkan pertumbuhan biomassa yang dilakukan dengan penelitian. Hal ini sesuai dengan *tafsir Al Mishbah* (2002) dijelaskan bahwa ayat ini, mendorong umat manusia untuk mengembangkan ilmu pengetahuan melalui kontemplasi, eksperimentasi dan pengamatan. Alam raya yang diciptakan untuk kepentingan manusia ini, hanya dapat dieksplorasi melalui pengamatan indrawi. Sebab, ketika orang-orang kafir itu memutuskan untuk tidak beriman, mereka pun tidak akan bersedia melakukan perenungan dan pengamatan terlebih dahulu. Sehingga ayat ini juga mengajak untuk menggali pengetahuan yang berhubungan dengan alam raya beserta isinya.

Pertumbuhan sel tidak hanya dilihat dari berat biomassa yang dihasilkan.

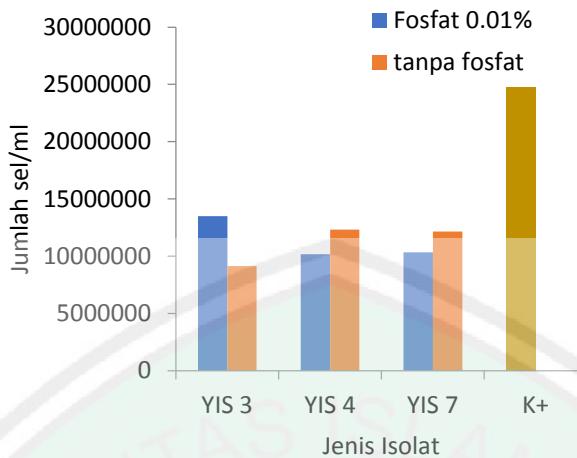
Gambar 4.3 menunjukkan hasil perhitungan jumlah sel hidup dengan perhitungan langsung melalui metode *hemocytometer*. Perhitungan mikroskopik dilakukan dengan perbesaran 40x10 menggunakan bantuan pewarna *methylene blue*. Penambahan *methylene blue* dilakukan untuk membedakan antara sel khamir hidup dan sel khamir mati (Gambar 4.2). Menurut Suryaningsih dkk., (2018) *methylene blue* akan menghasilkan warna ketika terjadi reaksi oksidasi dan reduksi. Sel khamir yang hidup memiliki kemampuan untuk mereduksi pewarna *methylene blue* sehingga akan dihasilkan warna memudar. Sel khamir yang mati tidak mampu untuk mereduksi *methylene blue*, sehingga *methylene blue* teroksidasi memunculkan warna biru.



**Gambar 4.2. Perbedaan sel khamir hidup dan sel khamir mati.**(a) Sel khamir hidup yang mereduksi *methylene blue*;(b) Sel khamir mati yang tidak mampu mereduksi *methylene blue*. (Perbesaran 40x10) (Dok. Pribadi)

Penambahan 0,01% fosfat didapatkan jumlah sel hidup tertinggi dalam 1 ml media oleh YIS-3 dengan hasil  $135 \times 10^5$ , diikuti oleh YIS-7 dengan jumlah  $103,4 \times 10^5$  dan paling sedikit YIS-4 dengan  $101,8 \times 10^5$ . Jumlah sel YIS-3 dengan fosfat 0,01% (YIS-3P) memiliki jumlah sel hidup lebih banyak dibandingkan dengan tanpa penambahan fosfat (YIS-3K) sedangkan YIS-4 dan YIS-7 dengan fosfat 0,01% (YIS-4P dan YIS-7P) memiliki jumlah sel yang lebih sedikit dibandingkan tanpa penambahan fosfat (YIS-4K dan Yis-7K).

Hasil pertumbuhan sel khamir yang didapatkan diketahui besarnya biomassa tidak berbanding lurus dengan banyaknya jumlah sel. Hal ini dibuktikan dalam penelitian Robert *et al.*, (2020) bahwa optimasi media yang dilakukan hanya meningkatkan jumlah sel yang lebih tinggi tanpa diikuti meningkatnya biomassa sel. YIS-3 dengan media fosfat 0,01% (YIS-3P) didapatkan jumlah sel hidup lebih tinggi dibandingkan YIS-3 tanpa penambahan fosfat (YIS-3K). Hal ini berbanding terbalik dengan jumlah sel YIS-4 dan YIS-7, yang mana YIS-4 dan Yis-7 tanpa penambahan fosfat (YIS-4K dan YIS-7K) memiliki jumlah sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan YIS-4 dan YIS-7 dengan fosfat 0,01% (YIS-4P dan YIS-7P). Semakin banyak jumlah sel hidup maka semakin tinggi proses fermentasi yang dilakukan. Hal ini sesuai dengan Akbar dkk., (2019) bahwa jumlah sel yang tumbuh pada media uji berkaitan erat dengan proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir.



**Gambar 4.3. Pengaruh media fosfat terhadap jumlah sel hidup khamir**

#### 4.2 Kualitas Roti

Kualitas roti sangat berpengaruh terhadap daya terima di masyarakat. Menurut Indrawijaya (2002) menambahkan bahwa kualitas suatu produk, menjadi pertimbangan konsumen dalam hal kualitas roti yang dilihat dari rasa dan tampilan produk. Berdasarkan hal tersebut, di dalam al-Qur'an sudah dijelaskan secara tegas bahwa manusia sudah diperintahkan untuk memilih makanan yang akan dikonsumsinya, baik dari sisi kualitas maupun kehalalan makanan tersebut. sebagaimana yang terdapat dalam Q.S. Al. Baqarah ayat 168.

يٰ أَيُّهَا النَّاسُ كُلُّمَا فِي الْأَرْضِ حَلَلٌ طَيِّبٌ وَلَا تَتَّقِعُوا عَلَىٰ خُطُوبِ الشَّيْطَنِ إِنَّ اللَّهَ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِينٌ ١٦٨

Artinya: "Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan; karena Sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu." (QS: Al-Baqarah [2]: 168).

Ayat tersebut menjelaskan tentang perintah yang ditunjukkan kepada manusia untuk memilih dan memilih makanan yang hendak dikonsumsi, yaitu makanan tersebut harus bersifat halal. Karena kehalalan suatu makanan merupakan

unsur terpenting yang wajib diperhatikan oleh umat Islam terutama dalam hal kebaikan. Kalimat طيّباً حلالاً dalam *tafsir Min Fathil Qadir* dapat menjelaskan tentang makanan selain yang diharamkan oleh Allah atas kalian, adapun kata *Thayyib* berarti yang dinikmati. Hamka menjelaskan bahwa dalam kata-kata baik itu terkandung makna kesehatan jiwa dan rasa yang terdapat dari barang tersebut. Hamka menegaskan bahwa syarat untuk bisa mengkonsumsi makanan dan minuman tidak hanya halal tetapi juga harus baik (Amrullah, 1983). Makanan yang baik itu menurut *tafsir al-Maraghi* adalah yang sedap dimakan, tidak kotor, baik karena zatnya sendiri maupun karena rusak atau merubah akibat terlalu lama disimpan (al-Maraghi, 1974). Untuk itu dilakukan uji kualitas roti terhadap roti hasil fermentasi khamir hasil perlakuan fosfat yang mana dapat diterima masyarakat atau tidak.

#### 4.2.1 Volume (cm<sup>3</sup>)

Volume roti termasuk dalam kualitas roti sebagai salah satu pengaruh kemampuan khamir hasil perlakuan dalam fermentasi. Berdasarkan lampiran 3 menunjukkan hasil kemampuan khamir dalam menghasilkan CO<sub>2</sub> hasil dari proses fermentasi pada setiap 30 menit. Yasa dkk., (2016) menjelaskan bahwa daya kembang roti berkaitan dengan kemampuan adonan dalam menahan dan membentuk CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dalam proses fermentasi.

Berdasarkan hasil perhitungan persentase pengembangan roti yang dibandingkan dengan volume adonan awal menunjukkan khamir dengan penambahan nutrisi fosfat 0,01% menghasilkan volume pengembangan lebih tinggi dibandingkan dengan khamir dengan tanpa penambahan nutrisi fosfat. Hal

ini karena penggunaan khamir dengan penambahan 0,01% fosfat menghasilkan biomassa protein lebih tinggi daripada khamir tanpa pemberian nutrisi fosfat (Ahmed *et al.*, 2010). Andragogi dkk., (2018) menambahkan bahwa dengan protein yang dihasilkan akan menambah jumlah salah satu komponen protein yaitu gluten yang dapat membentuk struktur jaringan yang kuat dalam menahan terjadinya proses penguapan gas sehingga roti akan mengembang. Jaringan gluten merupakan jaringan elastis yang mampu menahan gas CO<sub>2</sub> saat proses fermentasi dan akan membentuk adonan roti.

Pada perlakuan 0,01% fosfat, persentase tertinggi dihasilkan oleh YIS-3 (Gambar 4.4) memiliki selisih hasil yang tinggi yang mempengaruhi nilai presentase pengembangan hingga lebih dari 20%, lebih tinggi dari perlakuan YIS yang lainnya. Hal ini sejalan dengan jumlah sel yang dimiliki oleh YIS-3P yang memiliki jumlah sel terbanyak apabila dibandingkan dengan YIS perlakuan dan kontrol yang lain (kecuali kontrol positif). Hal ini sesuai dengan Akbar dkk., (2019) bahwa jumlah sel yang tumbuh pada media uji berkaitan erat dengan proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir. Semakin banyak khamir yang terfermentasi akan semakin banyak gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan sehingga volume roti akan semakin meningkat.

YIS-3P memiliki persen pengembangan tertinggi pada jam ke 3. Di 2 jam pertama YIS-3P (Gambar 4.4) tidak begitu besar persen pengembangannya, lebih rendah dari YIS-3K (Gambar 4.4). Namun setelah jam ke 3, YIS-3K semakin menurun persen pengembangannya jika dibandingkan dengan YIS-3P yang lebih fluktuatif dan memiliki persen pengembangan yang lebih besar. Pada jam ke-7

Kontrol + dan YIS-3K sudah tidak mampu untuk mengembang lagi, sedangkan YIS-3P pada jam ke- 9.

Persen pengembangan YIS-4P (Gambar 4.4) di 1 jam pertama lebih rendah dibandingkan YIS-4K, namun mulai meningkat pada 48 dengan memiliki persen pengembangan 20%, yang merupakan persen pengembangan tertinggi selama waktu fermentasi 12 jam. YIS-4K mengalami penurunan setelah jam ke 2 hingga berhenti mengembang pada jam ke 9, sedangkan YIS-4P dan kontrol (+) berhenti mengembang setelah 8 jam (Gambar 4.4). YIS-7P mengalami pengembangan yang lebih lambat dibandingkan jenis khamir yang lain. Pada 30 menit ke 5 memiliki persen pengembangan terbaik hanya dengan 20%. Hal ini lebih rendah dibandingkan dengan YIS-7K yang memiliki persen pengembangan tertinggi 29%.

Isolat YIS-7 diduga merupakan khamir dari golongan *Pichia* sp. Khamir *Pichia* sp, *Candida stellata*, dan *Metschnikowia pulcherrimam* memiliki kemampuan fermentasi alkohol yang kurang baik jika dibandingkan dengan khamir dari golongan *Saccharomyces* (Mane *et al.*,2017). Mohapatra *et al.*, (2018) menambahkan bahwa khamir dari golongan *Pichia* sp. memiliki kemampuan lebih baik dalam fermentasi pentosa dari pada glukosa.

Berdasarkan data yang diperoleh (Gambar 4.4) diketahui YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 memiliki pola pengembangan yang sama antara fosfat 0,01% dan tanpa fosfat, namun dengan waktu yang berbeda. Pada fosfat 0,01 % memiliki waktu yang lebih lambat dibandingkan dengan tanpa fosfat. Pada 30 menit pertama YIS-3P memiliki peningkatan persen volume yang lebih rendah dibandingkan Yis-4P

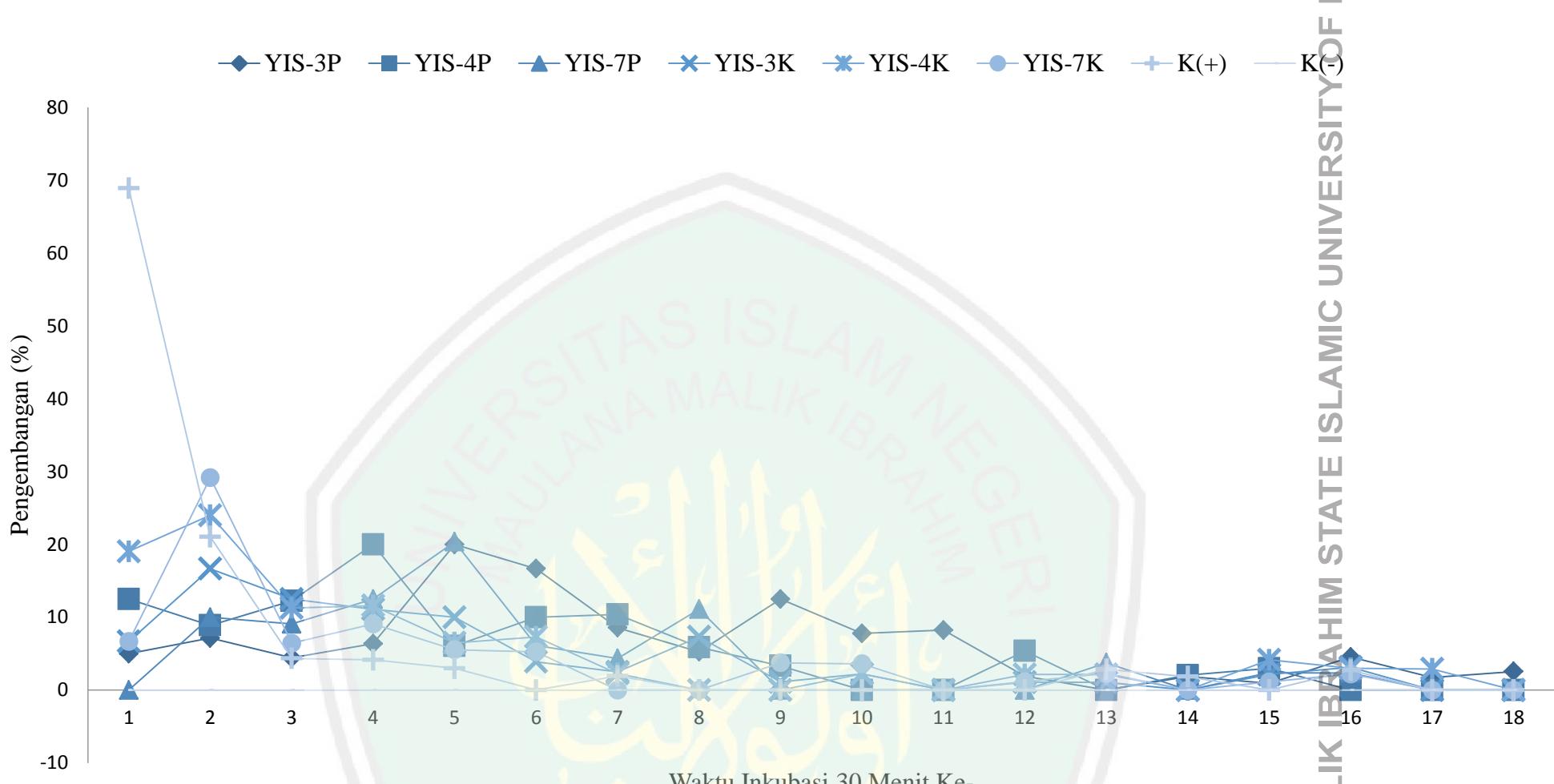
dan YIS-7P belum mampu untuk mengembang. Sedangkan pada YIS tanpa fosfat masing-masing jenis YIS sudah mampu untuk mengembang pada 30 menit pertama. Hal ini sesuai dengan Rothstein *et al.*, (1957) bahwa dengan tidak adanya penambahan nutrisi fosfat dalam media pertumbuhan sel, akan menunjukkan percepatan diawal fermentasi dibandingkan dengan penambahan fosfat. Penambahan nutrisi fosfat juga mempengaruhi kemampuan fermentasi untuk menghasilkan volume yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan nutrisi fosfat.

Volume roti yang dihasilkan juga berpengaruh terhadap penilaian kualitas roti. Hasil roti setelah di oven, dapat dilihat perbedaan volumenya. Dengan diameter dan berat yang sama, dapat dibandingkan dengan tinggi dari masing-masing roti dengan jenis khamir yang berbeda (Gambar 4.5). YIS-3P memiliki volume roti tertinggi dibandingkan dengan YIS-3K, kontrol (+) dan Kontrol (-). Roti dengan penggunaan khamir YIS-3P memiliki volume akhir  $813.89 \text{ cm}^3$ , untuk YIS-3K memiliki volume  $576.5 \text{ cm}^3$  namun YIS-3K tidak mampu melebihi volume kontrol + yaitu  $678,24 \text{ cm}^3$  (Gambar 4.5a).

Volume roti akan berpengaruh terhadap tekstur suatu roti (Maligan dkk.,2018). Roti dengan penggunaan khamir YIS-4, antara perlakuan tanpa fosfat maupun 0,01 % fosfat memiliki tinggi roti yang hampir sama dengan kontrol + (Gambar 4.5b). Volume akhir YIS-4P sekitar  $644.3 \text{ cm}^3$ , sedangkan YIS-4K memiliki volume  $633,02 \text{ cm}^3$ . Roti dengan Penggunaan YIS-4P dan YIS-4K masih belum mampu menyamai volume dari roti kontrol (+), yaitu  $678.24 \text{ cm}^3$ . Hal ini Karena jumlah sel dalam massa yang sama ternyata memiliki jumlah yang

berbeda sehingga mempengaruhi volume roti. YIS-7P memiliki volume yang sama dengan roti yang menggunakan khamir kontrol(+) yaitu  $678.24\text{ cm}^3$ , sedangkan lebih besar dibandingkan dengan YIS-7K yang memiliki volume  $587.81\text{cm}^3$ .





**Gambar 4.4. Persentase pengembangan roti setiap 30 menit selama 12 jam.** Keterangan :

YIS-3P = Isolat Khamir YIS-3 dengan penambahan nutrisi fosfat 0,01 %

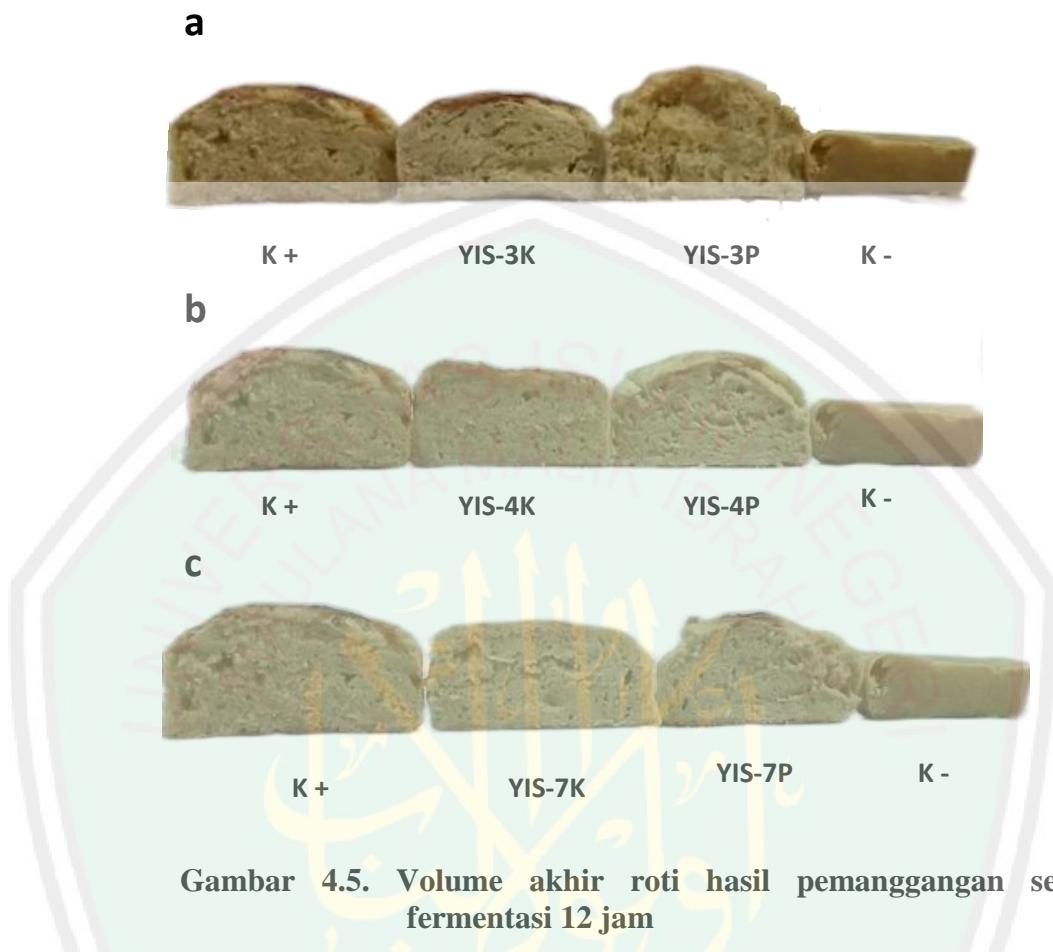
YIS-4P = Isolat Khamir YIS-4 dengan penambahan nutrisi fosfat 0,01 %

YIS-7P = Isolat Khamir YIS-7 dengan penambahan nutrisi fosfat 0,01 %

YIS-3K = Isolat Khamir YIS-3 dengan tanpa penambahan nutrisi fosfat

YIS-4K = Isolat Khamir YIS-3 dengan tanpa penambahan nutrisi fosfat

YIS-7K = Isolat Khamir YIS-3 dengan tanpa penambahan nutrisi fosfat



**Gambar 4.5.** Volume akhir roti hasil pemanggangan setelah fermentasi 12 jam

#### 4.2.2 Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan uji yang sangat penting pada produk pangan, yang mana pengujinya cenderung melakukan penilaian kesukaan (Kartika *et al.*, 1998). Selera manusia sangat menentukan penerimaan suatu produk. Uji hedonik digunakan sebagai petunjuk pengembangan produk baru (Breteernitz *et al.*, 2017). Berdasarkan uji Mann whitney menunjukkan bahwa penggunaan khamir perlakuan penambahan nutrisi fosfat terhadap kualitas roti berpengaruh nyata terhadap uji hedonik warna, aroma, rasa dan tekstur. Pada penelitian ini dilakukan uji hedonik untuk mengetahui penilaian masing masing panelis terhadap kualitas

roti hasil fermentasi isolat khamir dengan penambahan media fosfat. Tanggapan terhadap kesukaan dilakukan dengan memberi skor tertentu sesuai dengan rentangan skala yang ditetapkan. Penilaian yang dilakukan berdasarkan skor tertentu dapat memberi gambaran diterimanya produk oleh konsumen (Moore *et al.*, 2019).

Mutu pada roti pada umumnya tergantung pada 4 faktor, yaitu warna, rasa, aroma, dan tekstur. Secara visual warna sangat penting dalam menentukan indikator kematangan, baik tidaknya pencampuran atau pengolahan ditandai dengan warna yang merata (Saepudin dkk., 2017). Warna dijadikan parameter pertama yang dinilai oleh panelis. Warna roti yang menarik sangat menentukan derajat penerimaan dari suatu bahan pangan (Saepudin dkk., 2017).

**Tabel 4.1. Perbedaan kesukaan terhadap karakteristik organoleptik antar jenis khamir**

Jenis Khamir	Warna	Tekstur	Aroma	Rasa
YIS-3P	3.47±1.008 <sup>ab</sup>	4.07±0.740 <sup>a</sup>	3.70±0.877 <sup>a</sup>	3.53±1.008 <sup>a</sup>
YIS-4P	3.50±0.777 <sup>b</sup>	3.03±0.809 <sup>bc</sup>	3.50±0.820 <sup>ac</sup>	3.33±0.959 <sup>ab</sup>
YIS-7P	3.43±0.935 <sup>ab</sup>	2.83±0.950 <sup>c</sup>	3.23±0.971 <sup>abcd</sup>	3.37±0.765 <sup>bcd</sup>
YIS-3K	2.97±1.033 <sup>a</sup>	3.03±0.765 <sup>b</sup>	3.20±0.887 <sup>ce</sup>	3.03±0.809 <sup>c</sup>
YIS-4K	3.47±0.571 <sup>ab</sup>	3.33±0.922 <sup>b</sup>	3.13±0.776 <sup>be</sup>	2.83±0.913 <sup>bc</sup>
YIS-7K	3.13±0.937 <sup>b</sup>	3.10±0.803 <sup>b</sup>	2.90±0.803 <sup>de</sup>	3.07±0.740 <sup>cd</sup>
Kontrol +	2.33±0.606 <sup>c</sup>	3.67±0.959 <sup>a</sup>	2.00±0.788 <sup>f</sup>	2.37±0.964 <sup>e</sup>
Kontrol -	2.43±0.898 <sup>d</sup>	2.17±1.020 <sup>c</sup>	3.03±1.033 <sup>g</sup>	2.20±0.887 <sup>f</sup>

**Keterangan:**

YIS-3P = Isolat Khamir YIS-3 dengan penambahan nutrisi fosfat 0,01 %

YIS-4P = Isolat Khamir YIS-4 dengan penambahan nutrisi fosfat 0,01 %

YIS-7P = Isolat Khamir YIS-7 dengan penambahan nutrisi fosfat 0,01 %

YIS-3K = Isolat Khamir YIS-3 dengan tanpa penambahan nutrisi fosfat

YIS-4K = Isolat Khamir YIS-3 dengan tanpa penambahan nutrisi fosfat

YIS-7K = Isolat Khamir YIS-3 dengan tanpa penambahan nutrisi fosfat

- Angka dengan *superscript* yang berbeda antar baris menunjukkan adanya perbedaan nyata pada tingkat kepercayaan 95% ( $p<0,05$ ) berdasarkan uji Kruskal Wallis, dilanjutkan dengan uji Mann Whitney

Tingkat kesukaan terhadap warna roti berdasarkan hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan warna roti dengan jenis khamir perlakuan media fosfat berpengaruh nyata terhadap tingkat kesukaan panelis. Panelis memilih roti dengan penggunaan jenis khamir YIS-4P dengan nilai rerata tertinggi. Hal ini dimungkinkan hasil warna roti yang dihasilkan memiliki warna yang sesuai dengan preferensi panelis. YIS-4P memiliki warna yang lebih cerah dibandingkan dengan roti hasil khamir yang lain. Roti dengan penggunaan khamir kontrol (+) memiliki nilai rerata yang rendah. Hal ini dikarenakan roti penggunaan Kontrol (+) memiliki warna yang lebih gelap dibandingkan produk roti lainnya sehingga panelis kurang menyukai karena dianggap gosong. Warna sangat mempengaruhi nilai kesukaan produk, produk yang tidak sesuai akan mendapatkan nilai yang rendah (Mahony, 2001).

Warna kecoklatan pada roti disebabkan adanya reaksi *maillard* dan adanya karamelisasi gula saat pemanggangan berlangsung. Reaksi *maillard* merupakan reaksi yang terjadi antara gugus amin yang ada pada asam amino dengan gula pereduksi sehingga menimbulkan warna kecoklatan (Andragogi dkk., 2018). Suhu pemanggangan pada penelitian ini yaitu 180 °C dalam waktu 30 menit. Warna kecoklatan yang terjadi pada bahan makanan ketika mengalami proses pemanasan pada suhu diatas 115 °C. Berdasarkan pengujian organoleptik dari segi warna sampel yang paling banyak disukai adalah perlakuan khamir YIS-4 perlakuan fosfat. Hal ini diakibatkan fosfat meningkatkan produksi protein yang berguna dalam proses reaksi *maillard* yaitu kondensasi gula pereduksi yang mengandung

gugus karbonil dengan grup amin bebas dari asam amino, peptida atau protein (Catrien *et al.*, 2008). Faktor lain yang mempengaruhi proses pencoklatan roti adalah alat pemanggang yang panasnya tidak merata sehingga sulit menyamakan waktu pemanggangan (Sitepu, 2019).

Tekstur merupakan komponen penting dalam menentukan kualitas roti. Hal ini berpengaruh terhadap rasa pada waktu mengunyah bahan memiliki cita rasa dari bahan pangan sesungguhnya yang terdiri atas 3 komponen yaitu bau, rasa dan rangsangan mulut (Saepudin, 2017). Penambahan perlakuan fosfat pada media khamir meningkatkan jumlah sel yang mempengaruhi kemampuan khamir dalam mengembangkan roti. Berdasarkan hasil analisis data (Tabel 4.1) diketahui bahwa nilai rata-rata tekstur tertinggi adalah YIS-3P dengan nilai 4,07 dan rata-rata paling rendah yaitu kontrol negatif yaitu 2,17. Panelis menyukai roti yang lunak dan elastis (Pusuma *et al.*, 2018). Tingkat kesukaan panelis terhadap tekstur roti dipengaruhi oleh kelembutan dari roti (Anggarawati et. al., 2019). Pusuma *et al.* (2018) menambahkan bahwa panelis menyukai roti tawar yang lunak dan elastis.

Tekstur roti dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu danya kandungan protein, kadar air dan lemak dari bahan baku pembuatan roti (Choiriyah & Dewi, 2020). YIS-3P memiliki volume yang lebih baik dibandingkan dengan jenis khamir yang lain. Volume yang tinggi diakibatkan adanya pori-pori pada roti diakibatkan adanya udara masuk kedalam adonan dan terdispersi menjadi gelembung-gelembung yang halus pada saat pengulenan tepung dan air. Hal ini karena protein pada tepung membentuk gluten ketika terdapat air dan perlakuan

mekanis (Nuraini, 2011). Menurut Fennema (1985) bahwa gula berfungsi sebagai humektan yang membantu pembentukan tekstur.

Roti dengan nilai rerata terendah yang dipilih oleh panelis adalah roti penggunaan khamir kontrol (-). Dapat diketahui pada gambar 4.5 kontrol (-) memiliki tekstur yang bantat dan keras. Hal ini dikarenakan tidak adanya khamir yang diberikan sehingga tidak adanya pori-pori yang dihasilkan akibat adanya  $\text{CO}_2$  hasil fermentasi khamir. Peningkatan volume roti akan berdampak meningkatnya kelembutan roti (Nuru'tami dkk.,2020). Guardado *et al.*, (2020) menambahkan bahwa produk roti yang berstruktur rongga-rongga akan bertekstur lembut dan elastis sehingga dapat diketahui roti tanpa penambahan khamir/kontrol (-) memiliki tekstur yang keras dan kaku karena volume yang dihasilkan tidak meningkat.

Hasil analisis sidik ragam (Tabel 4.1) menunjukkan bahwa perbedaan aroma roti dengan jenis khamir perlakuan media fosfat berpengaruh nyata terhadap tingkat kesukaan panelis. Panelis memilih roti dengan khamir YIS-3P sebagai nilai rerata tertinggi. Hal ini karena aroma yang dihasilkan sesuai dengan preferensi panelis. Roti dengan rerata aroma terendah yang dipilih oleh panelis adalah roti penggunaan khamir kontrol (+). Beberapa panelis menilai bahwa roti berbau sangat asam dibandingkan yang roti yang lainnya. Menurut Sitepu (2019) semakin banyak jumlah ragi yang diberikan maka semakin banyak bahan yang difermentasikan sehingga berpengaruh terhadap pembentukan senyawa-senyawa seperti asam, aldehid dan ester.

Pemberian perlakuan fosfat akan menurunkan pH bahan makanan tersebut. Diketahui pH dari adonan roti setelah 12 jam fermentasi yaitu YIS-3P 6,3; YIS-4P 6,4; YIS-7P 6; YIS-3K 6,5; YIS-4K 6,6; YIS-7K 6,3; Kontrol (+) 5,8; dan Kontrol (-) 6,7. Kontrol (+) memiliki pH yang lebih rendah dibandingkan yang lainnya. Semakin lama fermentasi dilakukan maka akan terjadi penurunan pH yang terus menerus, karena pada saat fermentasi akan mengalami proses biosintesis piruvat yang menghasilkan produk asam sehingga membuat pH akan terus menerus menurun dan menjadi asam (Utama *et al.*, 2013). Sehingga perlu dilakukan pengecekan pH setiap pengukuran volume roti. Menurut Doorman & Deans (2000), ion H<sup>+</sup> yang dilepaskan akan menyebabkan nilai pH semakin rendah. Senyawa yang paling berpengaruh terhadap rasa dan aroma adalah senyawa seperti alkohol, aldehida dan keton (senyawa volatil) serta senyawa seperti asam, ester, gula, fenolik, senyawa asam lemak bebas, dan lipid (non volatil) (Hui, 2006).

Rasa merupakan kualitas yang penting dalam produk roti. Berdasarkan apek rasa dapat diketahui (Tabel 4.1) bahwa rasa roti dengan jenis khamir perlakuan media fosfat berpengaruh nyata terhadap tingkat kesukaan penelis. Rerata rasa tertinggi adalah YIS-3P. Hal ini dapat dikarenakan roti hasil fermentasi YIS-3P memiliki rasa yang sesuai dengan preferensi mengenai rasa roti. Rasa roti yang dihasilkan selain disebabkan oleh rasa bahan penyusun dalam pembuatan roti, juga disebabkan oleh rasa yang ditimbulkan selama proses fermentasi adonan seperti alkohol, asam, dan ester-ester yang merupakan hasil fermentasi karbohidrat (Saepudin., 2017). Hal ini diperkuat oleh Birch *et al.*,

(2013) bahwa rasa dipengaruhi oleh bahan penyusun dan hasil fermentasi sekunder *nonvolatile* seperti ester, senyawa fenolik dan lipid. Gula yang digunakan berpengaruh memberikan rasa melalui reaksi pencoklatan dan memberi rasa manis (Angraeni dkk., 2017). Ragi berfungsi sebagai pengembang roti dengan mengkonversi pati menjadi gula kemudian gula yang dihasilkan di konversi menjadi alkohol dan gas CO<sup>2</sup> (Sitepu, 2019).

Hasil roti dengan nilai rerata terendah yaitu Kontrol (+) dan Kontrol (-). Menurut pendapat beberapa panelis kontrol (+) memiliki rasa yang asam dibandingkan roti yang lainnya sedangkan kontrol (-) memiliki tekstur yang bantat dan keras sehingga mempengaruhi penilaian rasa yang rendah. Semakin banyak khamir yang digunakan dalam pembuatan roti maka semakin banyak perombakan gula yang dilakukan menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> hal inilah yang menyebabkan rasa khas roti berkurang dan menjadi rasa asam (Astiari, 2016). Menurut Yang (2006) CO<sub>2</sub> yang dihasilkan oleh khamir tidak hanya berdampak terhadap peningkatan volume, namun juga mengurangi nilai pH dalam adonan. Penambahan media fosfat berpengaruh terhadap kandungan metabolit protein pada khamir (Ahmed *et al.*, 2010). Protein yang hasilkan tidak berkontribusi langsung terhadap rasa, tetapi bereaksi dengan gula pereduksi selama proses pemanggangan yang menghasilkan produk reaksi maillard yang mempengaruhi rasa dan warna (Kokawa *et al.*, 2017).

## BAB V PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Penambahan fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dengan konsentrasi 0,01% pada media pertumbuhan khamir dapat meningkatkan jumlah sel dan biomassa sel khamir. Rata-rata jumlah sel pada YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 penambahan fosfat 0,01% dihasilkan YIS-3P sejumlah  $135 \times 10^5$  sel/ml, YIS-4P sejumlah  $101,8 \times 10^5$ , YIS-7P sejumlah  $103,4 \times 10^5$ . Sedangkan biomassa sel YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 penambahan fosfat 0,01% didapatkan YIS-3P sejumlah 2,90 gram/300ml, YIS-4P sejumlah 2,85 gram/300ml, dan YIS-7 sejumlah 3,81 gram/300ml.
2. Hasil pengamatan kualitas roti diketahui dengan penambahan nutrisi media fosfat 0,01% mempengaruhi presentase pengembangan secara signifikan jika dibandingkan dengan kontrol (+). Berdasarkan uji lanjut Mann Whitney pada atribut warna, tekstur, aroma dan rasa menunjukkan bahwa panelis lebih menyukai roti dengan hasil khamir perlakuan media fosfat 0,01%. Sedangkan perlakuan yang paling banyak tidak disukai oleh panelis adalah kontrol (+) untuk atribut warna, aroma dan rasa sedangkan kontrol (-) untuk tekstur.

### 5.2 Saran

Penelitian ini masih memiliki kekurangan. Penulis memiliki saran untuk peneliti selanjutnya. Saran dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan pengukuran pH pada setiap 30 menit pengamatan volume adonan roti
2. Perlu dilakukan identifikasi secara molekuler khamir yang diuji agar dapat diketahui jenis khamir yang dilakukan dalam penelitian
3. Perlu dilakukan uji lanjut perbedaan kandungan biomassa dari khamir dengan media fosfat 0,01% dengan tanpa fosfat.

## 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*.
- Ahmad Mustafa al-Maraghi, *Tafsir al-Maraghi*, (Mesir: Mustafa al-Babi al-Halabi, 1974)
- Ahmed, S., Ahmad, F., & Hashmi, A. S. (2010). Production of microbial biomass protein by sequential culture fermentation of *Arachniotus* sp. and *Candida utilis*. *Pakistan Journal of Botany*, 42(2), 1225-1234.
- Andragogi, V., Bintoro, V. P., & Susanti, S. (2018). Pengaruh Berbagai Jenis Gula Terhadap Sifat Sensori dan Nilai Gizi Roti Manis. *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(2), 163-167.
- Anggarawati, N.K.A., Ekawati, I.G.A. Wiadnyani, A.A.I.S. pengaruh substitusi tepung ubi jalar ungu termodifikasi (*Ipomoea Batatas* var *Ayamurasaki*) terhadap karakteristik waffle. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 8 (2):160-170.
- Anggraeni, M. C., Nurwantoro, N., & Abduh, S. B. M. (2016). Sifat Fisikokimia Roti yang Dibuat Dengan Bahan Dasar Tepung Terigu yang Ditambah Berbagai Jenis Gula. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(1).
- Anggrayeni, Y. T., Wijanarka, W., & Kusdiyantini, E. Isolasi dan Identifikasi Morfologi serta Biokimia Khamir Hasil Isolasi dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum*) yang Berpotensi menghasilkan Bioetanol. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 21(1), 16-24.
- Arsa, M. (2016). Proses Pencoklatan (Browning Process) Pada Bahan Pangan. *Universitas Udayana*.
- Astuti, R. M. (2015). Pengaruh penggunaan suhu pengovenan terhadap kualitas roti manis dilihat dari aspek warna kulit, rasa, aroma dan tekstur. *TEKNOBUGA: Jurnal Teknologi Busana dan Boga*, 2(2).
- Ayati, S. V., Hamdami, N., & Le-Bail, A. (2017). Frozen Sangak dough and bread properties: Impact of pre-fermentation and freezing rate. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 782-791
- Azzaz, H.H., H.A. Murad, E.N. Hoss, S.M.A. Elh, A.G. Abu-El and M.O. Zahra, 2020. Yeast biomass production from milk permeate with enrichment application of dairy animals diets. *Int. J. Dairy Sci.*, 15: 134-141
- Barnett JA. 1975. The entry of D-ribose into some yeasts of the genus *Pichia*". *Journal of General Microbiology*. Vol. 90 (1).

- Barth, M., Hankinson, T. R., Zhuang, H., & Breidt, F. (2010). Microbiological Spoilage of Fruits and Vegetables. *Food Microbiology and Food Safety*, 135-174.
- Bekatorou, A., Psarianos, C., Koutinas, A.A., 2006. Production of food grade yeasts. *Food Technol. Biotechnol.* 44, 407–415.
- Bergman, L. W. (2001). Growth and maintenance of yeast. In *Two-hybrid systems* (pp. 9-14). Humana Press.
- Bernardin, et.al, 1987.Gluten protein interactionwith small molecules and ion-the control of flour properties.*Baker's Dig.* (52) 4
- Birch, A. N., Petersen, M. A., & Hansen, Å. S. (2013). The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2), 480-488.
- Breternitz, N.R., Bolini, H.M.A, Hubinger, M.D. 2017. Sensory acceptance evaluation of a new food flavoring produced by microencapsulation of a mussel (*Perna perna*) protein hydrolysate. *LWT-Food Science and Technology* 83: 141-149.
- Carbonetto, B., Ramsayer, J., Nidelet, T., Legrand, J., & Sicard, D. (2018). Bakery yeasts, a new model for studies in ecology and evolution. *Yeast*, 35(11), 591-603.
- Catrien, Y., Surya, S., Ertanto, T. 2008. Reaksi Maillard Pada Produk Pangan. Penulisan Ilmiah. Program Kreativitas Mahasiswa. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Castrillon, maurico Ramirez, Luisa M. Usman, Lina M, Silva Bedoya, and Esteban Osorio Cadavid. 2019. Dominant yeast Asociated to Mango(*Magifera indica*) and Rose Apple (*Syzygium malaccense*) Fruit Pulp Investigated by Culture Based Methods. *Annals of The Nrazilian Academy of Sciencesi*. Vol. 91 (4).
- Cauvain, S.P., Young, L.S., 2007. Technology of Breadmaking, 2nd ed, Technology of Breadmaking. Springer.
- Choiriyah, N. A., & Dewi, I. C. (2020). Daya Terima Roti Tawar Mocaf dan Ubi Jalar pada Santriwati Pesantren X. *Media pertanian*, 5(1).
- Citra, Y. I. F. (2019). *Isolasi dan identifikasi khamir pada bunga Pisang Klutuk (Musa balbisiana) serta kemampuannya dalam fermentasi karbohidrat* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Danno and hoseye, R.C. 1982. Effect of sodium chloride and sodium dodecile sulfate on mixograph properties. *Cereal chem.*..52
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi PanganI*. Jakarta:Gramedia Pustaka Utama
- Fennema, O.W. 1985. *Principle of Food Science*. Food Chemistry 2nd (ed). Marcel Dekker Inc. New York.
- Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Vieira, E., & Tavarela, J. G. (2010). Brewer's Saccharomyces yeast biomass: characteristics and potential applications. *Trends in food science & technology*, 21(2), 77-84.
- 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.
- Guardado-Félix, D., Lazo-Vélez, M.A., Pérez-Carrilloa, E., Panata-Saquicilib, D.E., Serna-Saldívara, S.E. 2020. Effect of partial replacement of wheat flour with sprouted chickpea flours with or without selenium on physicochemical, sensory, antioxidant and protein quality of yeast-leavened breads. *LWT-Food Science and Technology* 129 (109517). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109517>
- Haji Abdulmalik Abdulkarim Amrullah. 1983. *Tafsir al-Azhar, juz. VII*. Jakarta: Pustaka Panjimas
- Halász, A., & Lásztity, R. (2017). *Use of yeast biomass in food production*. Routledge.
- Hara, K. Y., Kobayashi, J., Yamada, R., Sasaki, D., Kuriya, Y., Hirono-Hara, Y. & Kondo, A. (2017). Transporter engineering in biomass utilization by yeast. *FEMS yeast research*, 17(7).
- Hasanah, N. W. N. M., & Ilmi, M. (2020). Penapisan Enzim Invertase dari Khamir Asal Nektar dan Madu Hutan. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 37(3).
- Hayek, S.A., Salam A. Ibrahim, 2013, Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria: A Review, *Food and Nutrition Sciences*, 4: 73-87
- Heitmann, M., Zannini, E., & Arendt, E. (2018). Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites produced during fermentation on bread quality parameters: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(7), 1152-1164.
- Hendrasty, Henny Krissetiana. 2013. *Bahan Produk Bakery*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Hui, Y. (2006). *Bakery Products: Science and Technology*, 1st ed. Blackwell Publishing Professional, Iowa
- Hutton T. 2002. Sodium technological functions of salt in the manufacturingof food and drink products. *Br Food J* 104:126–52
- Indrawijaya, S. (2012). Pengaruh kualitas produk dan word of mouth terhadap keputusan konsumen dalam pembelian roti manis pada industri kecil di kabupaten sarolangun. *Jurnal Manajemen Terapan dan Keuangan*, 1(3), 193-208.
- Jach, M. E., & Serefko, A. (2018). Nutritional yeast biomass: characterization and application. In *Diet, Microbiome and Health* (pp. 237-270). Academic Press.
- Jacques, N., & Casaregola, S. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the hemiascomycetous yeasts. *International journal of food microbiology*, 126(3), 321-326.
- Jayaram VB, Cuyvers S, Lagrain B, Verstrepen KJ, Delcour JA, Courtin CM. 2013. Mapping of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites in fermenting wheat straight-dough reveals succinic acid as pH-determining factor. *Food Chem* 136:301–8.
- Jinzhong Xi, et.al. 2020. Effect of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> on quality and volatile compounds of steamed bread fermented with yeast or sourdough. *Food Chemistry* 324.

- Kanti, A. 2005. Keragaman khamir tanah asal taman nasional klimutu dan taman wisata alam rutenf nusa tenggara timur. Laporn penelitian bidang zoology.*Pusat penelitian Biologi-Lipi*.Bogor.
- 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.
- Kartika,B.1988. *Pedoman Uji InderawiBahan Pangan*. Yogyakarta.
- Kiran Shafiq, Sikander Ali and Ikram-ul-Haq, 2002.Effect of Different Mineral Nutrients on Invertase Production by *Saccharomyces cerevisiae* GCB-K5. *Biotechnology*, 1: 40-44.
- Kokawa, M., Maeda, T., Morita, A., Araki, T., Yamada, M., Takeya, K., & Sagara, Y. (2017).The effects of mixing and fermentation times on chemical and physical properties of white pan bread. *Food Science and Technology Research*, 23(2), 181-191.
- Kolouchová, I., Maťátková, O., Sigler, K., Masák, J., & Řezanka, T. (2016). Lipid accumulation by oleaginous and non-oleaginous yeast strains in nitrogen and phosphate limitation. *Folia microbiologica*, 61(5), 431-438.
- Kurtzman, C.P 1998. *Pichia EC Hansen emend. The yeast fourth edition*. (pp. 273-352)
- Kurtzman, C.P& Fell.J.W.2006.Yeast systematic and phylogeny implication of molecular identification methods for studies in ecology.Biodiversity and ecophysiology of yeast (pp.11-30) Springer. Berlin Heidelberg
- 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).
- Lide, D.R. CRC *Handbook of Chemistry and Physics 86TH Edition 2005*.
- Lien-Te Yeh, et.al.2009. A Novel Bread Making Process Using Salt-Stressed Baker's Yeast.*Journal of Food Science—Vol. 74, Nr. 9*.
- M. Quraish Shihab, Tafsir al Misbah, *Pesan, Kesan dan keserasian al-Qur'an*, Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- 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.
- Mahreni, M., & Sri Suhenny, 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.
- Malik, H. (2016). *Utilization of agro-industrial wastes for the biomass production of baker" s yeast* (Doctoral dissertation, M. Sc. Thesis, Punjab Agricultural University, Punjab).
- Manfaati, R. 2011. *Pengaruh Komposisi Media Fermentasi terhadap Produksi Asam Sitrat oleh Aspergillus Niger*. Jurnal Fluida Vol. VII, No. 1, Mei (2011) hal 23-27. Politeknik Negeri Bandung.

- Maryam, B. M., Mohammed, S. S. D., & Ayodeji, O. A. (2017). Screening of Fermentative Potency of Yeast Isolates from Indigenous Sources for Dough Leavening. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2(1), 12.
- Matz, S.A. 1992. *water and salt:Bakery technology and engineering. III edition*.AVI, Newyork
- Maulida, Z., Aini, N., Sustriawan, B., & Sumarmono, J. (2019). Formulasi Roti Bebas Gluten Berbasis Tepung Sorgum Dengan Penambahan Pati Garut Dan Gum Arab. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 16(2), 90-98.
- Maya, F. N., & Alami, N. H. (2019). Uji Potensi Isolat Khamir dari rizosfer Mangrove Wonorejo dan Gunung Anyar sebagai Agen Penghasil IAA. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 8(1).
- Moore,C.J; Lindke, A.B.S; Cox, G.O. 2019. Research article using sensory science to evaluate consumer acceptance of recipes in a nutrition education intervention for limited resource populations. *Journal of Nutrition Education and Behavior*. <https://doi.org/10.1016/j.jneb.2019.07.012>
- 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.
- Nancib, N., Nancib, A., & Boudrant, J. (1997). Use of waste date products in the fermentative formation of baker's yeast biomass by *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*, 60(1), 67-71.
- Negara, J. K., Sio, A. K., Rifkhan, R., Arifin, M., Oktaviana, A. Y., Wihansah, R. R. S., & Yusuf, M. (2016). Aspek mikrobiologis, serta Sensori (Rasa, Warna, Tekstur, Aroma) Pada Dua Bentuk Penyajian Keju yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 4(2), 286-290.
- 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).
- Nur'utami, D. A., Fitriilia, T., & Oktavia, D. (2020). Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Sensori dan Daya Kembang Roti Mocaf (Modified Cassava Flour). *JURNAL AGROINDUSTRI HALAL*, 6(2), 197-204.
- Nurcholis, M., Fernando, D., Zubaidah, E., & Maligan, J. M. (2020). Isolasi dan Identifikasi Khamir Thermotolerant dan Ethanoltolerant Penghasil Bioetanol pada Buah Lokal Indonesia. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 8(3), 122-133.
- O'Neil, M. J., Heckelman, P. E., Koch, C. B., & Roman, K. J. (2006). An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. *Merck & Co, Whitehouse Station, NJ*.
- 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.

- Øverland, M., & Skrede, A. (2017). Yeast derived from lignocellulosic biomass as a sustainable feed resource for use in aquaculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 733-742.
- Persson, B. L., Lagerstedt, J. O., Pratt, J. R., Pattison-Granberg, J., Lundh, K., Shokrollahzadeh, S., & Lundh, F. (2003). Regulation of phosphate acquisition in *Saccharomyces cerevisiae*. *Current genetics*, 43(4), 225-244.
- Purba, J. A. (2017). *Potensi Antagonis Khamir Terhadap Colletotrichum gloeosporioides Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Buah Mangga* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- 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.
- Quan, C., Zhang, L., Wang, Y., & Ohta, Y. (2001). Production of phytase in a low phosphate medium by a novel yeast *Candida krusei*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 92(2), 154-160.
- Randez-Gil F, C'orcoles-S'aez I, Prieto JA. 2013. Genetic and phenotypic characteristics of baker's yeast: relevance to baking. *Annu Rev Food Sci Technol* 4:191-214
- Rini, Anjas Wida Elistia. 2017. Skripsi. "Isolasi Dan Identifikasi Khamir ToleranAlkohol Dari Molases." Universitas Jember.
- Roberts, T. M., Kaltenbach, H. M., & Rudolf, F. (2020). Development and optimisation of a defined high cell density yeast medium. *Yeast*, 37(5-6), 336-347.
- Rothstein, A., Jennings, D. H., Demis, C., & Bruce, M. (1959). The relationship of fermentation to cell structure in yeast. *Biochemical Journal*, 71(1), 99.
- Saepudin, L., Setiawan, Y., & Sari, P. D. (2017). Pengaruh perbandingan substitusi tepung sukun dan tepung terigu dalam pembuatan roti manis. *AGROSCIENCE (AGSCI)*, 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.
- Samyn, D. R., & Persson, B. L. (2016). Inorganic phosphate and sulfate transport in *S. cerevisiae*. *Yeast Membrane Transport*, 253-269.
- 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).
- Schulz, B, and Boyle C. 2005. The Endophytic Continuum. *Mycol.* Vol. 109.
- Shafiq, K., Ali, S., Ikram-ul-Haq, 2003, Time Course Studi for Yeast Invertase Production by Submerged Fermentation, *Journal of Biology Sciences*, 3 (11), 984-988
- Sitepu, K. M. (2019). Penentuan Konsentrasi Ragi Pada Pembuatan Roti (Determining of Yeast Concentration on Bread Making). *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Agrokompleks*, 71-77.
- Slininger, P. J., Dien, B. S., Gorsich, S. W., & Liu, Z. L. (2006). Nitrogen source and mineral optimization enhance D-xylose conversion to ethanol by the

- yeast *Pichia stipitis* NRRL Y-7124. *Applied microbiology and biotechnology*, 72(6), 1285-1296.
- Struyf, N., Van der Maelen, E., Hemande, S., Verspreet, J., Verstrepen, K. J., & Courtin, C. M. (2017). Bread dough and baker's yeast: An uplifting synergy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 850-867.
- Subagyo, dkk. 2015. Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen Dan Fosfor pada Medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid. *Jurnal Kelautan Tropis* Desember 2015 Vol. 18(3)
- Surono, D. I., Nurali, I. E. J., & Moningka, I. J. S. (2017, January). Kualitas fisik dan sensoris roti tawar bebas gluten bebas kasein berbahan dasar tepung komposit pisang goroho (*Musa acuminate* L.). In *COCOS* (Vol. 1, No. 1).
- Sutrisno, Koswara. "Teknologi Pengolahan Roti" Ebook Pangan.com. 2009.
- Suryaningsih dkk. 2018. Katakteristik morfologi, biokimia, dan molekul isolate khamir IK-2 hasil isolasi dari jus buah sirsak. *Jurnal Biologi*, Volume 7 No 1
- Suryaningsih, V., Ferniah, R. S., dan Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler Isolat Khamir Ik-2 Hasil Isolasi dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Biologi*, 7(1), 18-25.
- Sutriyono, A., Kusnandar, F., & Muhandri, T. (2016). Karakteristik Adonan dan Roti Tawar dengan Penambahan Enzim dan Asam Askorbat pada Tepung Terigu. *Jurnal Mutu Pangan: Indonesian Journal of Food Quality*, 3(2), 103-110.
- Thapa, Sandeep, Rajani Shrestha, Anjali Tibrewal, Arjun Sharma and Yuvraj KC. 2015. Isolation of Yeast from Soil and Different Food samples and Its Characterization Based on Fermentation. *Nepal Journal of Biotechnology*. Vol.3 (1)
- Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L., 2002, *Microbiology an Introduction*, 173-174, 179, 780-781, Pearson Education Inc
- 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).
- Utami, Tania Rema. "Kadar Protein, Kadar Kalsium, Dan Tingkat Kesukaan Susu Kental Manis Kacang Hijau Dengan Penambahan Tepung Azolla (*Azolla Pinnata*) Dan Tepung Cangkang Telur Ayam". Artikel Penelitian Program Study Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2015.
- Vadkertiová, R., Molnárová, J., Vránová, D., & Sláviková, E. 2012. Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Canadian journal of microbiology*. Vol.58 (12).
- Volk dan Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jasad* V. Jakarta: Erlangga
- Wachid, M., & Mutia, P. (2019). Optimasi Media Kulit Singkong pada Pertumbuhan *Sacharomyces Cerreviseae*. *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 4(2), 92-101.

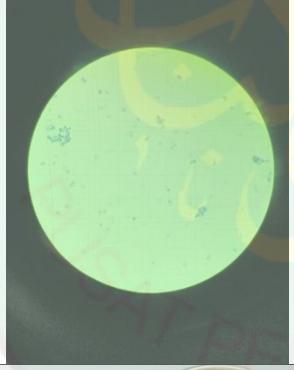
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4), 30.
- Watanabe, M., Uchida, N., Fujita, K., Yoshino, T., & Sakaguchi, T. (2016). Bread and Effervescent Beverage Productions with Local Microbes for The Local Revitalization. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 6(3), 381-384.
- Wahyudi.2003.*Memproduksi Roti*. Jakarta:Dektorat Menengah Kejuruan
- Wulandari, E., dan Lembong, E. 2016.Karakteristik Roti Komposit Ubi Jalar Ungu dengan Penambahan  $\alpha$ -amilase dan Glukoamilase. *Jurnal Penelitian Pangan*. 1(1):1-6.
- Wykoff, D. D., & O'Shea, E. K. (2001). Phosphate transport and sensing in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 159(4), 1491-1499.
- Xiong L, Schumaker KS, Zhu J-K. 2002. Cell signaling during cold,drought, and salt stress. *Plant Cell* 14:S165–S83.
- Yadav, K. K., Singh, N., & Rajasekharan, R. (2016). Responses to phosphate deprivation in yeast cells. *Current genetics*, 62(2), 301-307.
- Yang, C. H. (2006). Fermentation. In “Bakery products - science and technology” ed. by Y. H. Hui. Blackwell Publishing, Iowa, USA, pp. 261-272.
- Yasa, I. W. S., Zainuri, Z., Zaini, M. A., & Hadi, T. (2017). Mutu Roti Berbahan Dasar Mocaf:“Formulasi dan Metode Pembuatan Adonan”. *Pro Food*, 2(2).
- Yeong, F. M. (2005). Severing all ties between mother and daughter: cell separation in budding yeast. *Molecular microbiology*, 55(5), 1325-1331.
- Yuliana, N. (2012). Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolat T5 yang berasal dari tempoyak. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 13(2), 108-116.
- Yuliati, Ninis, and Evi Kurniawati. 2017. Analisis kadar Vitamin C dan Fruktosa pada Buah Mangga (*Mangifera indica L.*) Varietas Podang Urang danpodang Lumut Metode Spektrofotometri *Uv-vis*. *Jurnal Wiyata*. Vol 4 (1).
- Zohri, A. A., Fadel, M., Hmad, M., & El-sharkawy, 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. Kegiatan Penelitian

Gambar	Keterangan
	Peremajaan sampel
	Inokulasi Khamir pada media YMB sebanyak 80ml
	Hasil Inkubasi khamir pada media YMB pada shaker selama 24 jam. Media yang terdapat khamir memiliki warna yang keruh setelah diinkubasi.
	Inokulasi khamir pada media YPG + fosfat 0,01% dari khamir yang telah diinkubasi pada media YMB. masing-masing khamir di inokulasikan 1ml ke dalam media YPG 9ml pada tabung 15 ml

	<p>Media YPG yang telah diinokulasikan khamir disentrifuge selama 48 jam dengan kecepatan 140 RPM</p>
	<p>Hasil sentrifugasi khamir+media YPG dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit</p>
	<p>hasil pelet yang telah dibuang supernatannya</p>
	<p>Penimbangan tabung berisi pelet khamir</p>

	Aktivasi khamir masing masing isolat 20 ml air hangat
	Perhitungan jumlah sel menggunakan mikroskop
	Hasil pengamatan
	Pembuatan roti

### Lampiran 2. Hasil perhitungan pertumbuhan sel

#### a. Jumlah sel

	3P	4P	7P	3K	4K	7K	K+
Viable Cell	83%	66%	73%	61%	73%	94%	94%
Jumlah Sel Hidup	675	509	517	457	617	608	618
Jumlah sel hidup/kotak	A : 146 B : 133 C : 130 D : 126 E : 140	A : 119 B : 92 C : 113 D : 100 E : 85	A : 97 B : 131 C : 114 D : 77 E : 98	A : 93 B : 101 C : 92 D : 90 E : 81	A : 132 B : 134 C : 132 D : 109 E : 110	A : 133 B : 123 C : 125 D : 111 E : 116	A : 138 B : 119 C : 118 D : 132 E : 111
Rata Rata Sel Hidup/Kotak	135	101.8	103.4	91.4	123.4	121.6	123.6
Dilution Faktor	10	10	10	10	10	10	20
Konsentrasi Sel Hidup/ml	135x10 <sup>5</sup>	101,8x10 <sup>5</sup>	103,4x10 <sup>5</sup>	91,4x10 <sup>5</sup>	123,4x10 <sup>5</sup>	121,6x10 <sup>5</sup>	247,2 x10 <sup>5</sup>

Rumus perhitungan :

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

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

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

(10<sup>4</sup> = konversi 0,1 μL dalam 1 mL)

$$\text{rata - rata sel} = \frac{675}{5 \text{ kotak}} = 135$$

$$\text{faktor pengencer} = \frac{1000 \mu\text{L}}{100 \mu\text{L}} = 10$$

$$\text{jumlah sel} \left( \frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = 135 \times 10 \times 10^4 = 135 \times 10^5$$

### b. Biomassa sel

Contoh perhitungan Biomassa sel

1. YIS-3 dengan Fosfat 0,01% tabung 1

$$B = TB - TK$$

$$B = 6,41 - 6,31$$

$$B = 0,01$$

Hasil perhitungan biomassa per tabung

YIS-3P				YIS-4P				YIS-7P			
no	TK	TB	B	no	TK	TB	B	no	TK	TB	B
1	6,31	6,41	0,10	31	6,36	6,44	0,08	61	6,35	6,48	0,13
2	6,33	6,40	0,07	32	6,48	6,55	0,07	62	6,33	6,45	0,12
3	6,33	6,43	0,10	33	6,36	6,45	0,09	63	6,4	6,5	0,1
4	6,41	6,60	0,19	34	6,35	6,43	0,08	64	6,3	6,4	0,1
5	6,33	6,42	0,09	35	6,43	6,51	0,08	65	5,95	6,11	0,16
6	6,82	6,91	0,09	36	6,69	6,77	0,08	66	6,4	6,53	0,13
7	6,29	6,39	0,10	37	6,34	6,42	0,08	67	6,33	6,44	0,11
8	6,32	6,42	0,10	38	6,46	6,59	0,13	68	6,36	6,45	0,09
9	6,31	6,40	0,09	39	6,31	6,40	0,09	69	6,32	6,47	0,15
10	6,47	6,60	0,13	40	6,50	6,65	0,15	70	6,36	6,48	0,12
11	6,44	6,55	0,11	41	6,48	6,57	0,09	71	6,36	6,47	0,11
12	6,51	6,60	0,09	42	6,29	6,40	0,11	72	6,34	6,49	0,15
13	6,39	6,44	0,05	43	6,33	6,41	0,08	73	6,33	6,45	0,12
14	6,34	6,43	0,09	44	6,28	6,36	0,08	74	6,32	6,45	0,13
15	6,33	6,42	0,09	45	6,29	6,43	0,14	75	6,35	6,46	0,11
16	6,33	6,41	0,08	46	6,41	6,49	0,08	76	6,36	6,47	0,11
17	6,41	6,51	0,10	47	6,17	6,24	0,07	77	6,3	6,4	0,1
18	6,35	6,43	0,08	48	6,32	6,43	0,11	78	6,46	6,61	0,15
19	6,45	6,56	0,11	49	6,36	6,50	0,14	79	6,32	6,44	0,12
20	7,22	7,30	0,08	50	6,36	6,42	0,06	80	6,35	6,49	0,14
21	6,47	6,50	0,03	51	6,41	6,50	0,09	81	6,42	6,57	0,15
22	6,44	6,62	0,18	52	6,43	6,53	0,10	82	6,38	6,49	0,11
23	6,34	6,43	0,09	53	6,35	6,42	0,07	83	6,35	6,52	0,17
24	6,36	6,42	0,06	54	6,33	6,42	0,09	84	6,29	6,4	0,11
25	6,29	6,39	0,10	55	6,45	6,53	0,08	85	6,34	6,4	0,06
26	6,31	6,41	0,10	56	6,42	6,56	0,14	86	6,31	6,51	0,2
27	6,33	6,45	0,12	57	6,34	6,42	0,08	87	6,36	6,49	0,13
28	6,32	6,43	0,11	58	6,28	6,35	0,07	88	6,69	6,81	0,12
29	6,71	6,76	0,05	59	6,41	6,55	0,14	89	6,76	6,95	0,19

30	7,19	7,30	0,11	60	6,33	6,43	0,10	90	6,32	6,44	0,12
Total				Total				Total			3,81

## 2. YIS-3 tanpa fosfat tabung 1

$$B = TB - TK$$

$$B = 6,44 - 6,42$$

$$B = 0,02$$

Hasil perhitungan biomassa per tabung

YIS-3K				YIS-4K				YIS-7K			
no	TK	TB	B	no	TK	TB	B	no	TK	TB	B
91	6,42	6,44	0,02	121	7,18	7,31	0,13	151	6,27	6,4	0,13
92	6,3	6,41	0,11	181	7,2	7,26	0,06	152	6,34	6,52	0,18
93	6,29	6,38	0,09	123	6,33	6,42	0,09	153	6,33	6,43	0,1
94	6,49	6,61	0,12	124	7,18	7,24	0,06	154	6,28	6,42	0,14
95	6,48	6,58	0,1	125	6,46	6,53	0,07	155	6,33	6,45	0,12
96	6,6	6,67	0,07	126	6,7	6,77	0,07	156	6,33	6,44	0,11
97	6,14	6,24	0,1	127	6,77	6,83	0,06	157	6,45	6,57	0,12
98	6,32	6,45	0,13	128	6,69	6,78	0,09	158	6,29	6,42	0,13
99	6,34	6,42	0,08	129	7,19	7,28	0,09	159	6,29	6,40	0,11
100	7,16	7,25	0,09	130	7,19	7,24	0,05	160	6,37	6,5	0,13
101	6,5	6,68	0,18	131	6,35	6,44	0,09	161	6,38	6,52	0,14
102	6,43	6,48	0,05	132	6,35	6,47	0,12	162	6,46	6,56	0,1
103	6,77	6,84	0,07	133	6,4	6,5	0,1	163	6,42	6,44	0,02
104	7,2	7,27	0,07	134	6,28	6,4	0,12	164	6,4	6,49	0,09
105	7,19	7,26	0,07	135	6,3	6,38	0,08	165	6,34	6,48	0,14
106	7,17	7,3	0,13	136	6,45	6,64	0,19	166	6,27	6,38	0,11
107	6,45	6,58	0,13	137	6,32	6,41	0,09	167	6,41	6,54	0,13
108	6,98	7	0,02	138	6,48	6,57	0,09	168	6,43	6,55	0,12
109	6,35	6,41	0,06	139	6,4	6,48	0,08	169	6,28	6,39	0,11
110	6,8	6,87	0,07	140	6,42	6,49	0,07	170	6,32	6,44	0,12
111	6,48	6,59	0,11	141	6,27	6,36	0,09	171	6,32	6,44	0,12
112	6,42	6,51	0,09	142	6,45	6,53	0,08	172	6,4	6,53	0,13
113	6,35	6,45	0,1	143	6,34	6,48	0,14	173	6,39	6,52	0,13
114	6,61	6,75	0,14	144	6,45	6,54	0,09	174	6,39	6,5	0,11
115	6,3	6,39	0,09	145	6,34	6,44	0,1	175	6,37	6,48	0,11
116	6,49	6,58	0,09	146	6,28	6,39	0,11	176	6,27	6,4	0,13
117	7,16	7,25	0,09	147	6,33	6,41	0,08	177	6,39	6,4	0,01
118	6,32	6,41	0,09	148	6,42	6,51	0,09	178	6,29	6,43	0,14
119	6,3	6,4	0,1	149	6,3	6,42	0,12	179	6,43	6,53	0,1

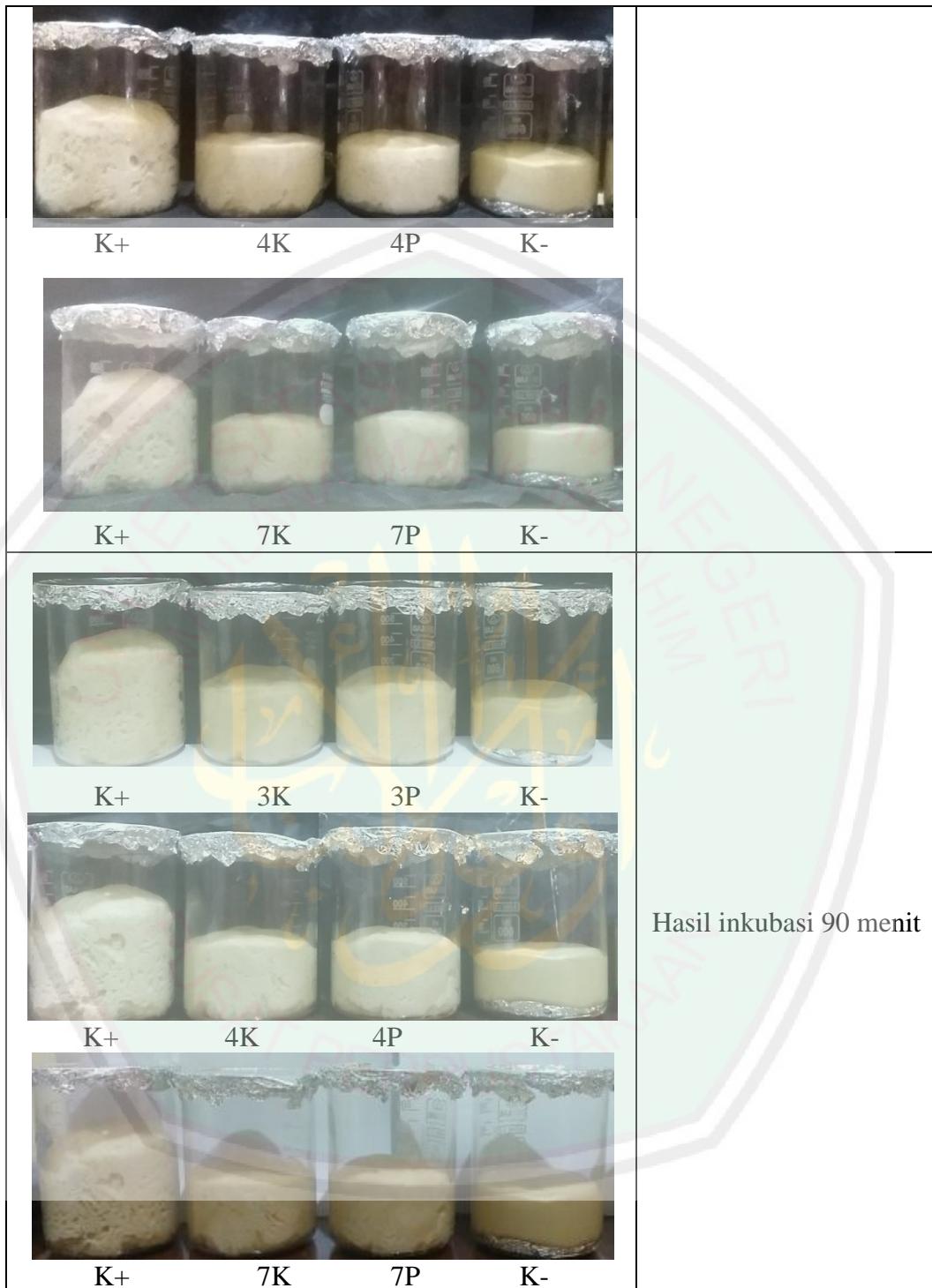
120	6,34	6,4	0,06	150	6,4	6,48	0,08	180	6,42	6,59	0,17
Total			2,72	Total			2,78	Total			3,5

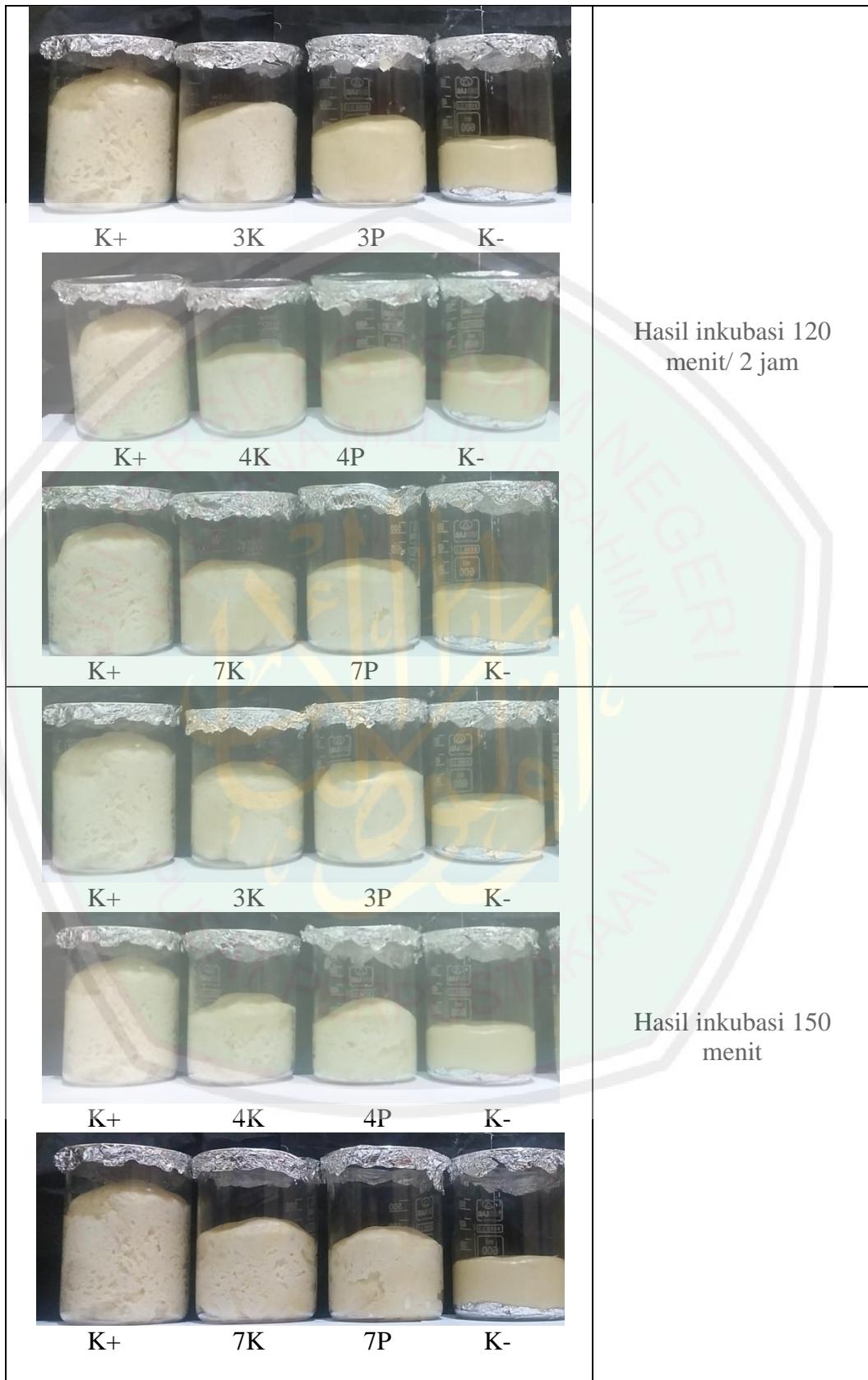


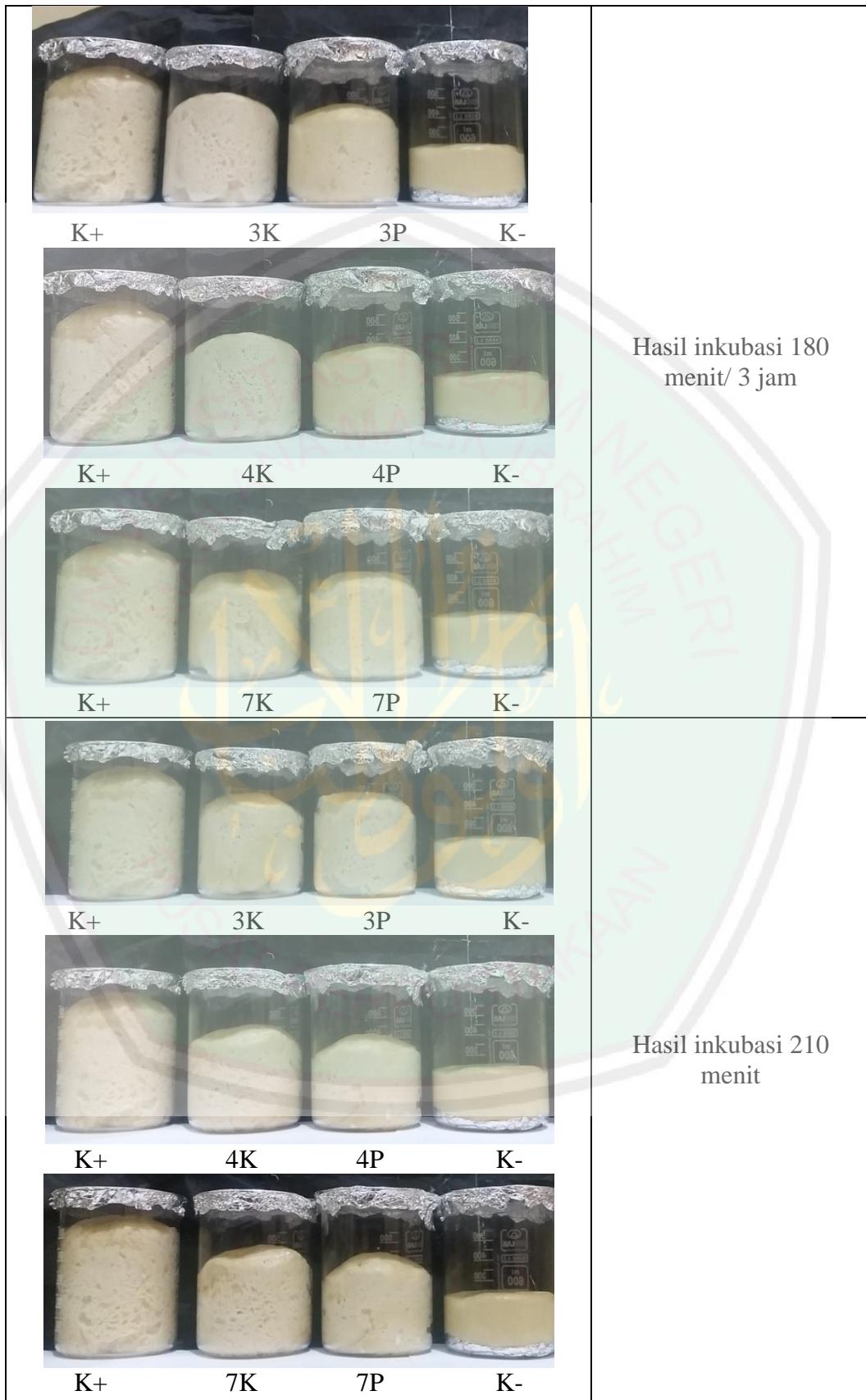
### Lampiran 3. Organoleptik roti

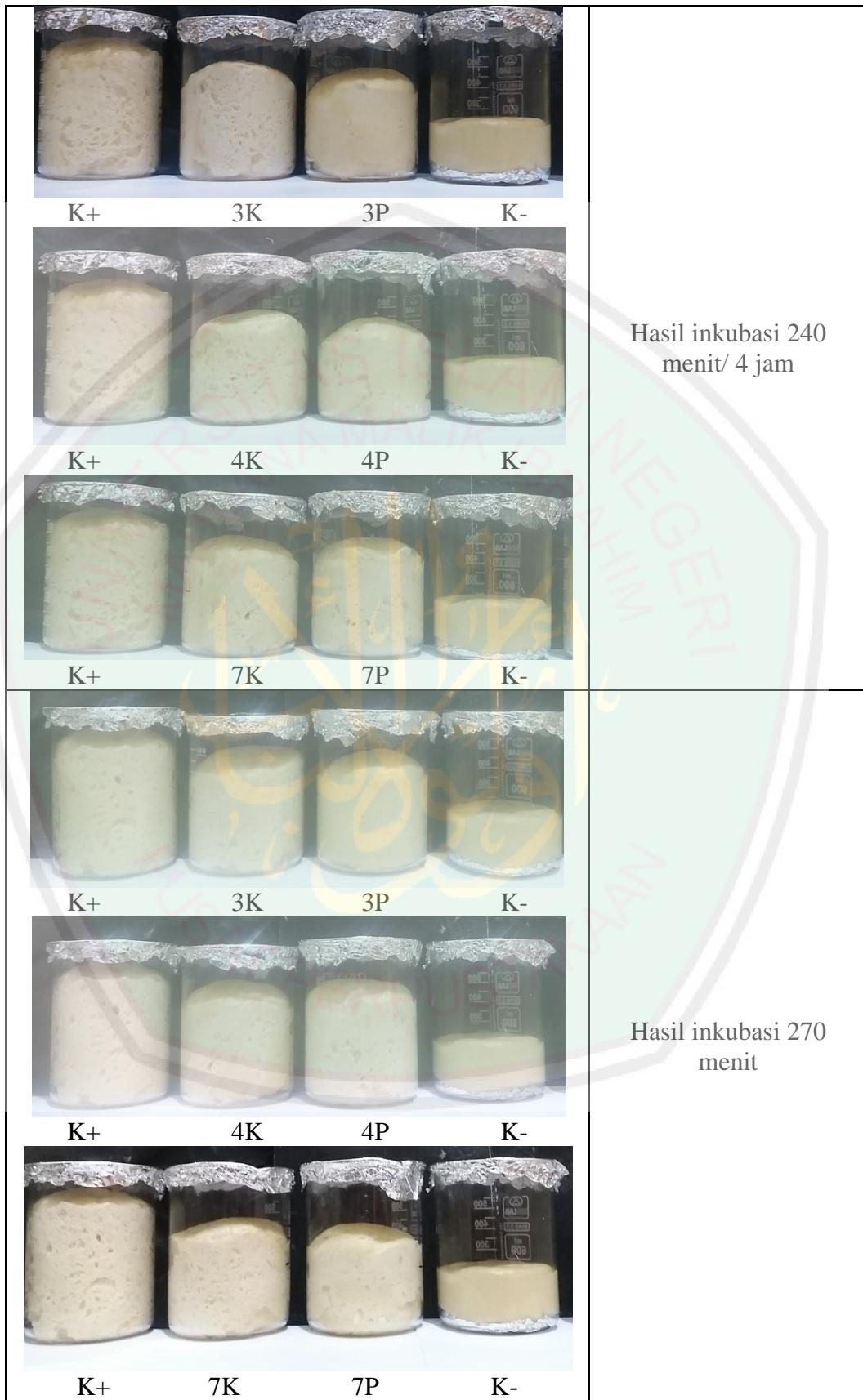
a. Gambar adonan setiap 30 menit

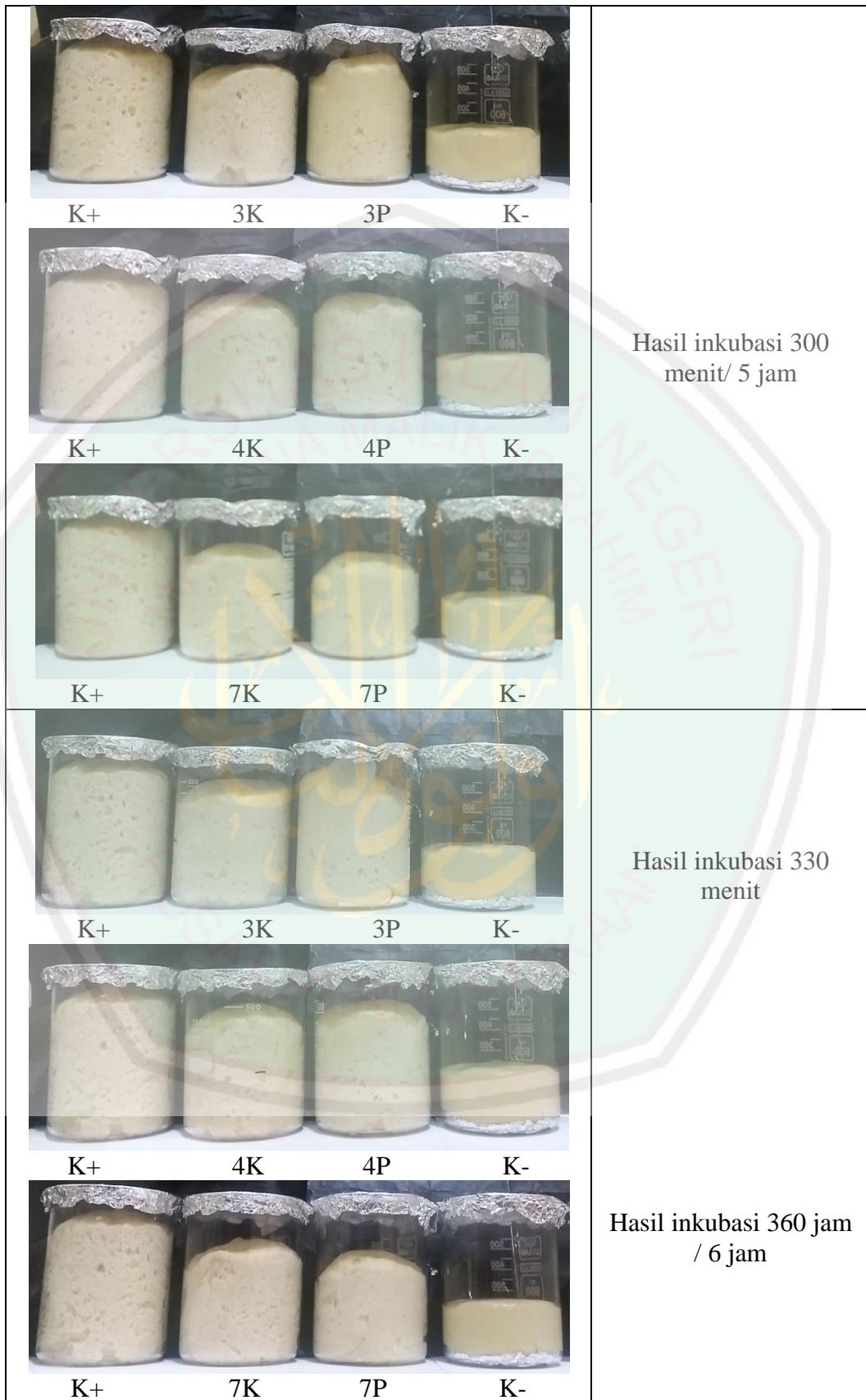
Adonan	Keterangan
 K+      3K      3P      K-	
 K+      4K      4P      K-	Hasil inkubasi selama 30 menit
 K+      7K      7P      K-	
 K+      3K      3P      K-	Hasil inkubasi selama 60 menit/ 1 jam



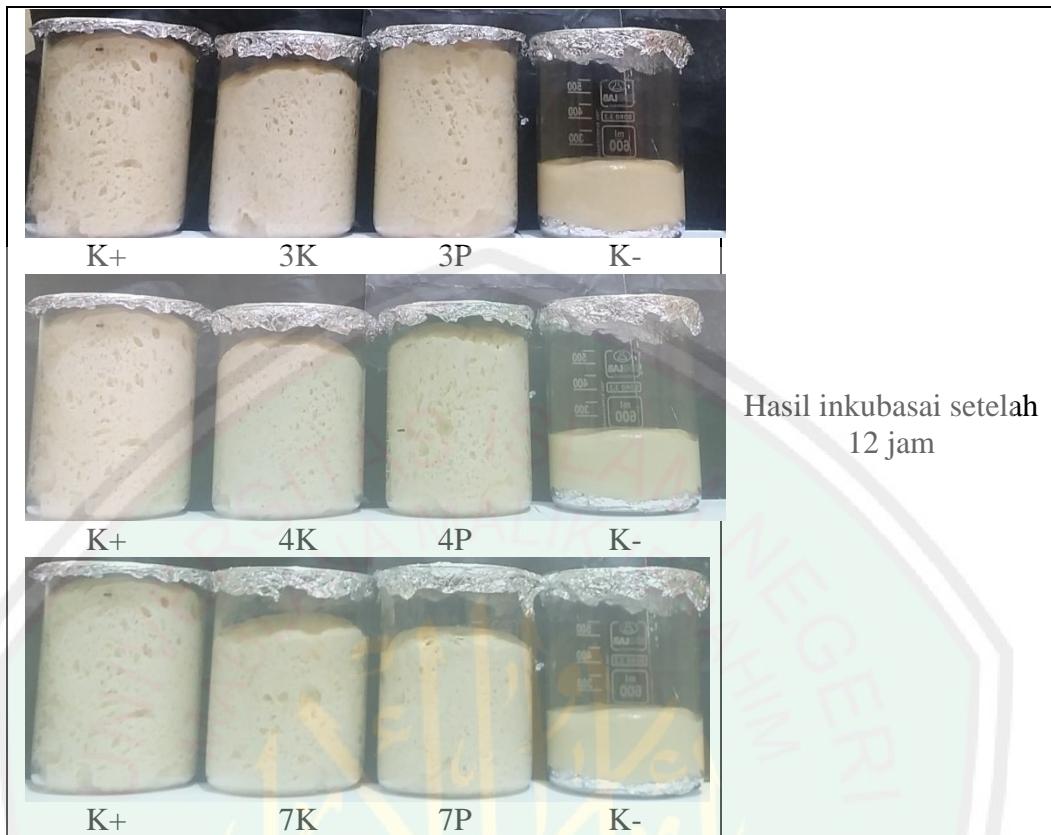












b. Volume adonan setiap menit

1. YIS-3 Perlakuan Fosfat

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	awal	4	4.25	3.14	226.87
17:00	1	4.2	4.25	3.14	238.21
17:30	2	4.5	4.25	3.14	255.22
18:00	3	4.7	4.25	3.14	266.57
18:30	4	5	4.25	3.14	283.58
19:00	5	6	4.25	3.14	340.30
19:30	6	7	4.25	3.14	397.01
20:00	7	7.6	4.25	3.14	431.04
20:30	8	8	4.25	3.14	453.73
21:00	9	9	4.25	3.14	510.45
21:30	10	9.7	4.25	3.14	550.15
22:00	11	10.5	4.25	3.14	595.52
22:30	12	10.7	4.25	3.14	606.86
23:00	13	10.7	4.25	3.14	606.86
23:30	14	10.9	4.25	3.14	618.21
0:00	15	11	4.25	3.14	623.88

0:30	16	11.5	4.25	3.14	652.24
1:00	17	11.7	4.25	3.14	663.58
1:30	18	12	4.25	3.14	680.60
2:00	19	12	4.25	3.14	680.60
2:30	20	12	4.25	3.14	680.60
3:00	21	12	4.25	3.14	680.60
3:30	22	12	4.25	3.14	680.60
4:00	23	12	4.25	3.14	680.60
4:30	24	12	4.25	3.14	680.60

## 2. YIS-4 Perlakuan fosfat

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	awal	4	4.25	3.14	226.87
17:00	1	4.5	4.25	3.14	255.22
17:30	2	4.9	4.25	3.14	277.91
18:00	3	5.5	4.25	3.14	311.94
18:30	4	6.6	4.25	3.14	374.33
19:00	5	7	4.25	3.14	397.01
19:30	6	7.7	4.25	3.14	436.72
20:00	7	8.5	4.25	3.14	482.09
20:30	8	9	4.25	3.14	510.45
21:00	9	9.3	4.25	3.14	527.46
21:30	10	9.3	4.25	3.14	527.46
22:00	11	9.3	4.25	3.14	527.46
22:30	12	9.8	4.25	3.14	555.82
23:00	13	9.8	4.25	3.14	555.82
23:30	14	10	4.25	3.14	567.16
0:00	15	10.3	4.25	3.14	584.18
0:30	16	10.3	4.25	3.14	584.18
1:00	17	10.3	4.25	3.14	584.18
1:30	18	10.3	4.25	3.14	584.18
2:00	19	10.3	4.25	3.14	584.18
2:30	20	10.3	4.25	3.14	584.18
3:00	21	10.3	4.25	3.14	584.18
3:30	22	10.3	4.25	3.14	584.18
4:00	23	10.3	4.25	3.14	584.18
4:30	24	10.3	4.25	3.14	584.18

### 3. YIS-7 Perlakuan

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	awal	4	4.25	3.14	226.87
17:00	1	4	4.25	3.14	226.87
17:30	2	4.4	4.25	3.14	249.55
18:00	3	4.8	4.25	3.14	272.24
18:30	4	5.4	4.25	3.14	306.27
19:00	5	6.5	4.25	3.14	368.66
19:30	6	6.9	4.25	3.14	391.34
20:00	7	7.2	4.25	3.14	408.36
20:30	8	8	4.25	3.14	453.73
21:00	9	8	4.25	3.14	453.73
21:30	10	8	4.25	3.14	453.73
22:00	11	8	4.25	3.14	453.73
22:30	12	8	4.25	3.14	453.73
23:00	13	8.3	4.25	3.14	470.74
23:30	14	8.3	4.25	3.14	470.74
0:00	15	8.5	4.25	3.14	482.09
0:30	16	8.7	4.25	3.14	493.43
1:00	17	8.7	4.25	3.14	493.43
1:30	18	8.7	4.25	3.14	493.43
2:00	19	8.7	4.25	3.14	493.43
2:30	20	8.7	4.25	3.14	493.43
3:00	21	8.7	4.25	3.14	493.43
3:30	22	8.7	4.25	3.14	493.43
4:00	23	8.7	4.25	3.14	493.43
4:30	24	8.7	4.25	3.14	493.43

### 4. YIS-3 kontrol

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	awal	4.5	4.25	3.14	255.22
17:00	1	4.5	4.25	3.14	272.24
17:30	2	4.8	4.25	3.14	317.61
18:00	3	5.6	4.25	3.14	357.31
18:30	4	6.3	4.25	3.14	397.01
19:00	5	7	4.25	3.14	436.72
19:30	6	7.7	4.25	3.14	453.73
20:00	7	8	4.25	3.14	465.07
20:30	8	8.2	4.25	3.14	499.10

21:00	9	8.8	4.25	3.14	504.77
21:30	10	8.9	4.25	3.14	516.12
22:00	11	9.1	4.25	3.14	516.12
22:30	12	9.1	4.25	3.14	521.79
23:00	13	9.2	4.25	3.14	527.46
23:30	14	9.3	4.25	3.14	527.46
0:00	15	9.5	4.25	3.14	538.80
0:30	16	9.8	4.25	3.14	555.82
1:00	17	9.8	4.25	3.14	555.82
1:30	18	9.8	4.25	3.14	555.82
2:00	19	9.8	4.25	3.14	555.82
2:30	20	9.8	4.25	3.14	555.82
3:00	21	9.8	4.25	3.14	555.82
3:30	22	9.8	4.25	3.14	555.82
4:00	23	9.8	4.25	3.14	555.82
4:30	24	9.8	4.25	3.14	555.82

##### 5. YIS-4 Kontrol

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	awal	4.2	4.25	3.14	238.21
17:00	1	4.2	4.25	3.14	283.58
17:30	2	5	4.25	3.14	351.64
18:00	3	5.3	4.25	3.14	391.34
18:30	4	6.2	4.25	3.14	436.72
19:00	5	6.9	4.25	3.14	465.07
19:30	6	7.7	4.25	3.14	499.10
20:00	7	8.2	4.25	3.14	510.45
20:30	8	8.8	4.25	3.14	510.45
21:00	9	9	4.25	3.14	510.45
21:30	10	9	4.25	3.14	521.79
22:00	11	9	4.25	3.14	521.79
22:30	12	9.2	4.25	3.14	533.13
23:00	13	9.4	4.25	3.14	544.48
23:30	14	9.6	4.25	3.14	544.48
0:00	15	10	4.25	3.14	567.16
0:30	16	10.3	4.25	3.14	584.18
1:00	17	10.6	4.25	3.14	601.19
1:30	18	10.6	4.25	3.14	601.19
2:00	19	10.6	4.25	3.14	601.19
2:30	20	10.6	4.25	3.14	601.19

3:00	21	10.6	4.25	3.14	601.19
3:30	22	10.6	4.25	3.14	601.19
4:00	23	10.6	4.25	3.14	601.19
4:30	24	10.6	4.25	3.14	601.19

### 6. YIS-7 Kontrol

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	awal	4.5	4.25	3.14	255.22
17:00	1	4.5	4.25	3.14	272.24
17:30	2	4.8	4.25	3.14	351.64
18:00	3	5	4.25	3.14	374.33
18:30	4	6.2	4.25	3.14	408.36
19:00	5	6.6	4.25	3.14	431.04
19:30	6	7.2	4.25	3.14	453.73
20:00	7	7.6	4.25	3.14	453.73
20:30	8	8	4.25	3.14	453.73
21:00	9	8	4.25	3.14	470.74
21:30	10	8	4.25	3.14	487.76
22:00	11	8.3	4.25	3.14	487.76
22:30	12	8.6	4.25	3.14	493.43
23:00	13	8.7	4.25	3.14	504.77
23:30	14	8.9	4.25	3.14	504.77
0:00	15	9	4.25	3.14	510.45
0:30	16	9.2	4.25	3.14	521.79
1:00	17	9.2	4.25	3.14	521.79
1:30	18	9.2	4.25	3.14	521.79
2:00	19	9.2	4.25	3.14	521.79
2:30	20	9.2	4.25	3.14	521.79
3:00	21	9.2	4.25	3.14	521.79
3:30	22	9.2	4.25	3.14	521.79
4:00	23	9.2	4.25	3.14	521.79
4:30	24	9.2	4.25	3.14	521.79

### 7.Kontrol(+)

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	Awal	4.5	4.25	3.14	255.22

17:00	1	6.4	4.25	3.14	431.04
17:30	2	7.6	4.25	3.14	521.79
18:00	3	8.1	4.25	3.14	544.48
18:30	4	9.2	4.25	3.14	567.16
19:00	5	9.6	4.25	3.14	584.18
19:30	6	10	4.25	3.14	584.18
20:00	7	10.3	4.25	3.14	595.52
20:30	8	10.3	4.25	3.14	595.52
21:00	9	10.5	4.25	3.14	595.52
21:30	10	10.5	4.25	3.14	595.52
22:00	11	10.5	4.25	3.14	595.52
22:30	12	10.5	4.25	3.14	595.52
23:00	13	10.5	4.25	3.14	612.54
23:30	14	10.8	4.25	3.14	623.88
0:00	15	11	4.25	3.14	623.88
0:30	16	11.3	4.25	3.14	640.89
1:00	17	11.3	4.25	3.14	640.89
1:30	18	11.3	4.25	3.14	640.89
2:00	19	11.3	4.25	3.14	640.89
2:30	20	11.3	4.25	3.14	640.89
3:00	21	11.3	4.25	3.14	640.89
3:30	22	11.3	4.25	3.14	640.89
4:00	23	11.3	4.25	3.14	640.89
4:30	24	11.3	4.25	3.14	640.89

### 8.Kontrol(-)

	30 menit ke	tinggi	Jari-jari	phi	volume/ cm <sup>3</sup>
16:30	awal	4	4.25	3.14	226.87
17:00	1	4	4.25	3.14	226.87
17:30	2	4	4.25	3.14	226.87
18:00	3	4	4.25	3.14	226.87
18:30	4	4	4.25	3.14	226.87
19:00	5	4	4.25	3.14	226.87
19:30	6	4	4.25	3.14	226.87
20:00	7	4	4.25	3.14	226.87
20:30	8	4	4.25	3.14	226.87
21:00	9	4	4.25	3.14	226.87
21:30	10	4	4.25	3.14	226.87
22:00	11	4	4.25	3.14	226.87
22:30	12	4	4.25	3.14	226.87

23:00	13	4	4.25	3.14	226.87
23:30	14	4	4.25	3.14	226.87
0:00	15	4	4.25	3.14	226.87
0:30	16	4	4.25	3.14	226.87
1:00	17	4	4.25	3.14	226.87
1:30	18	4	4.25	3.14	226.87
2:00	19	4	4.25	3.14	226.87
2:30	20	4	4.25	3.14	226.87
3:00	21	4	4.25	3.14	226.87
3:30	22	4	4.25	3.14	226.87
4:00	23	4	4.25	3.14	226.87
4:30	24	4	4.25	3.14	226.87

c. Volume roti akhir

setelah dipanggang	tinggi	jari"	phi	Volume/cm <sup>3</sup>
3P	7.2	6	3.14	813.89
3K	5.7	6	3.14	644.33
4P	6	6	3.14	678.24
4K	5.1	6	3.14	576.50
7P	5.6	6	3.14	633.02
7K	5.2	6	3.14	587.81
K02.4	5.5	6	3.14	621.72
K-	3	6	3.14	339.12

d. Gambar roti yang telah di inkubasi selama 12 jam



Yis-4P		
Yis-7P		
Yis-3K		
Yis-4K		
Yis-7K		

Kontrol (+)		
Kontrol (-)		

**Lampiran 4. Persentase pengembangan adonan pada semua perlakuan tiap 30 menit selama 12 jam**

Contoh perhitungan persentase pengembangan YIS-3 fosfat 0,01% pada menit ke-30

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

$$\% \text{ pengembangan} = \frac{238.21 - 226.87}{226.87} \times 100\% = 4,9 \%$$



## **Lampiran 5. Bukti konsultasi**



**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 : Yuanita Refa Kusuma  
NIM : 17620074  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Genap TA 2020/ 2021  
Pembimbing : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si  
Judul Skripsi : Pengaruh Fosfat Terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi Khamir Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.).

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	21 Januari 2021	Presentasi proposal 1	DIP
2.	13 Februari 2021	Pengiriman naskah revisi proposal	DIP
3.	4 Maret 2021	Konsultasi bab 1 - 3	DIP
4.	6 Maret 2021	Konsultasi bab 1 - 3	DIP
5.	8 Maret 2021	Konsultasi bab 1 - 3	DIP
6.	10 Maret 2021	Konsultasi bab 3	DIP
7.	15 Maret 2021	Acc proposal	DIP
8.	13 Juni 2021	Konsultasi Hasil	DIP
9.	24 Juni 2021	Konsultasi Hasil	DIP
10.	14 Agustus 2021	Presentasi Bab IV	DIP
11.	8 September 2021	Acc naskah skripsi	
12.			

Pembimbing Skripsi,

Malang, 27 Agustus 2021  
Ketua Program Studi,

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

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



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

### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Yuanita Refa Kusuma  
 NIM : 17620074  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Genap TA 2020/ 2021  
 Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, M.A  
 Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Fosfat 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 1	
2.	10 maret 2021	Konsultasi Bab 2	
3.	12 maret 2021	Pengumpulan revisi Bab 1	
4.	12 maret 2021	Pengumpulan revisi Bab 2	
5.	15 maret 2021	ACC proposal	
6.	30 Agustus 2021	ACC Sidang Skripsi	
7.			
8.			
9.			
10.			

Pembimbing Skripsi,

Dr. Ahmad Barizi, M.A

NIP. 197312121998031008

Malang, 15 Maret 2021  
 Ketua Program Studi,

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

