

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

SKRIPSI

**Oleh:
MUHAMMAD RIEFKI PRATAMA
NIM. 17620029**



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

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

SKRIPSI

**Oleh:
MUHAMMAD RIEFKI PRATAMA
NIM. 17620029**

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

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

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

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD RIEFKI PRATAMA
NIM. 17620029

Dosen Pembimbing I

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing II



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



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

Tanggal, 04 November 2021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



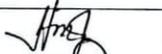
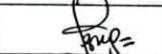
Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

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

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD RIEFKI PRATAMA
NIM. 17620029

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 15 Desember 2021

Ketua Penguji	Ir. Liliek Harianie AR, M.P. NIP. 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji 1	Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc. NIP. 19900428 2016080 1 2062	
Anggota Penguji 2	Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si. NIP. 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji 3	Dr. Ahmad Barizi, M.A. NIP. 19731212 199803 1 008	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi
Dr. Maulana Malik Ibrahim Malang



HALAMAN PERSEMBAHAN

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

1. Kedua Orang Tua saya, Bapak Arief Husnanto dan Ibu Sri Wahyuni yang telah merawat, mendidik serta mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik
2. Adik laki-laki saya, M. Farhan Rahardian yang selalu memberi support dan mendoakan penulis.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi
4. Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik
5. Dr. Nur Kusmiyati, M.Si., selaku dosen yang selalu memberikan bimbingan dan arahan terkait metode dan pengolahan data
6. Dr. Ahmad Barizi, M.A., selaku dosen pembimbing agama yang telah sabar memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam
7. Retno Novitasari H. D., M.Sc., selaku laboran Mikrobiologi yang memberi arahan dan bimbingan selama penelitian
8. Teman-teman proyek penelitian pengembang roti, Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh dan Yuanita Refa Kusuma yang senantiasa membantu dari awal hingga akhir penelitian.
9. Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh yang memberikan motivasi, menemani dan membantu penulis hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
10. Teman-teman seperjuangan Wolves Biologi 2017 dan ABIO 2017, yang telah memberikan semangat dan senantiasa memotivasi penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik
11. Sahabat-sahabat penulis, Fikron, Waladin, Stiven, Intan, Zahro, Arum dan Marisa, yang selalu memberi support dan bantuan kepada penulis
12. Teman-teman kontrakan, Kaif, Cenna, Mamad, Fahmi, Efendi, Naufal, Maulana, Firly, Ali, Muzammil dan Yunus, yang banyak memberi bantuan kepada penulis.

MOTTO

"فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ"

“Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya”
(Q.S ‘Abasa [80]: 24)

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Riefki Pratama
NIM : 17620029
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Penambahan Zinc terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi dari Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)

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

Malang, 13 Desember 2021
yang membuat pernyataan,



Muhammad Riefki Pratama
NIM. 17620029

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

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

Muhammad Riefki Pratama, Ulfah Utami, Ahmad Barizi

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

ABSTRAK

Kemampuan khamir untuk melakukan fermentasi dimanfaatkan dalam produksi roti untuk mengembangkan adonan. Produk khamir pengembang roti banyak dihasilkan dari beberapa negara. Upaya isolasi khamir telah banyak dilakukan di Indonesia, tetapi belum diperoleh hasil yang mampu untuk memenuhi kebutuhan industri. Diperlukan peningkatan kualitas khamir hasil isolasi dengan penambahan nutrisi berupa sumber zinc yaitu $ZnSO_4$ (*zinc sulphate*) pada media pertumbuhan khamir. Digunakan isolat khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 yang merupakan isolat terbaik hasil isolasi dari buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan zinc terhadap parameter pertumbuhan yang dilihat dari biomassa dan jumlah sel, serta parameter kualitas roti yang dilihat dari volume, warna, aroma, tekstur dan rasa roti. Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental. Hasil penelitian parameter pertumbuhan menunjukkan bahwa pemberian zinc konsentrasi 0.1 g/L menghasilkan biomassa dan jumlah sel lebih tinggi. Hasil persentase pengembangan menunjukkan bahwa isolat khamir dengan penambahan zinc membutuhkan waktu lebih lambat untuk mencapai pengembangan tertinggi, namun hasil roti setelah dipanggang menunjukkan volume yang lebih baik. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa $P < 5\%$, artinya semua perlakuan memiliki pengaruh nyata terhadap atribut warna, aroma, tekstur dan rasa roti. Hasil uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan bahwa panelis lebih menyukai semua atribut pada YIS-4 perlakuan zinc 0.1 g/L.

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

**THE EFFECT OF ZINC ADDITION ON THE GROWTH AND QUALITY
OF FERMENTED BREAD FROM ENDOPHYTE YEAST OF SALAK
PONDOH (*Salacca edulis* Reinw.)**

Muhammad Riefki Pratama, Ulfah Utami, Ahmad Barizi

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

ABSTRACT

The ability of yeast to ferment is used in the production of bread to develop dough. Many bakery products are produced from several countries. Efforts to isolate yeast have been carried out in Indonesia, but have not obtained results that are able to meet industrial needs. It is necessary to improve the quality of isolated yeasts by adding nutrients in the form of zinc sources, namely ZnSO₄ (zinc sulfate) in yeast growth media. YIS-3, YIS-4 and YIS-7 yeast isolates were used which were the best isolates isolated from salak pondoh fruit (*Salacca edulis* Reinw.). The purpose of this study was to determine the effect of zinc addition on growth parameters seen from the biomass and number of cells, as well as bread quality parameters seen from the volume, color, aroma, texture and taste of the bread. This study uses an experimental approach. The results of the research on growth parameters showed that giving zinc a concentration of 0.1 g/L resulted in higher biomass and cell counts. The percentage of development results showed that yeast isolates with the addition of zinc took a slower time to reach the highest development, but the results of bread after baking showed a better volume. The results of the organoleptic test showed that $P < 5\%$, meaning that all treatments had a significant effect on the attributes of color, aroma, texture and taste of bread. Mann-Whitney further test results showed that the panelists preferred all attributes on YIS-4 zinc 0.1 g/L treatment.

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

تأثير إضافة الزنك على نمو وجودة الخبز المخمر من خميرة إندوفيت في سالاك بوندوه (*Salacca edulis Reinw.*)

محمد رقيقي فراتاما، أولفه أوتامي، أحمد بارزي

برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، مولانا مالك إبراهيم الدولة الإسلامية جامعة
مالانج

مستخلص البحث

تُستخدم قدرة الخميرة على التخمر في إنتاج الخبز لتطوير العجين. يتم إنتاج العديد من منتجات المخازن من عدة دول. بذلت جهود لعزل الخميرة في إندونيسيا ، لكنها لم تحصل على نتائج قادرة على تلبية الاحتياجات الصناعية. من الضروري تحسين جودة الخمائر المعزولة عن طريق إضافة العناصر الغذائية في شكل مصادر الزنك ، وهي $ZnSO_4$ (كبريتات الزنك) في وسط نمو الخميرة. تم استخدام عزلات الخميرة *YIS-3* و *YIS-4* و *YIS-7* والتي كانت أفضل العزلات المعزولة من فاكهة *Salak Pondoh (Salacca edulis Reinw.)*. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير إضافة الزنك على معاملات النمو الملحوظة من الكتلة الحيوية وعدد الخلايا ، وكذلك تحديد معايير جودة الخبز من الحجم واللون والرائحة والملمس والمذاق للخبز. تستخدم هذه الدراسة نهجاً تجريبياً. أظهرت نتائج البحث على معاملات النمو أن إعطاء الزنك بتركيز 0.1 جرام / لتر أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية وعدد الخلايا. أظهرت النسبة المئوية لنتائج التطوير أن عزلات الخميرة مع إضافة الزنك استغرقت وقتاً أطول للوصول إلى أعلى نسبة نمو ، لكن نتائج الخبز بعد الخبز أظهرت حجماً أفضل. أظهرت نتائج الاختبار الحسي أن نسبة الفوسفور أقل من 5% ، مما يعني أن جميع العلاجات كان لها تأثير معنوي على لون ورائحة وقوام وخواص الطعم للخبز. أظهرت نتائج اختبار *Mann-Whitney* الإضافية أن أعضاء اللجنة فضلوا جميع الصفات في علاج *YIS-4 zinc 0.1* جم / لتر.

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

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan anugerah serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Penambahan Zinc terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil fermentasi dari Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)”** sebagai salah satu persyaratan kelulusan di Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Shalawat serta salam tetap tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, yang telah membawa kita ke jalan terang benderang yaitu agama Islam. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak atas bantuannya dalam penyusunan skripsi ini. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. 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 Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Dr. Ahmad Barizi, M.A., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
6. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
7. Ir. Liliek Harianie A.R, M.P. dan Prilya Dewi Fitriyasari, M.Sc., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
8. Arief Husnanto dan Sri Wahyuni, orang tua yang selalu memberikan dukungan baik berupa doa maupun materi.
9. Teman-teman Wolves Biologi 2017 yang selalu memberi semangat kepada penulis dalam menyelesaikan studi ini.

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

Malang, November 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Batasan Masalah.....	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Khamir.....	8
2.2 Hasil Isolasi Khamir Endofit pada Buah Salak (<i>Salacca edulis</i> Reinw.)	10
2.4 Fermentasi pada Roti	18
2.5 Unsur <i>Zinc</i> (Zn)	20
2.6 Karakteristik Roti.....	24
BAB III. METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	26
3.2 Variabel Penelitian	26
3.3 Waktu dan Tempat.....	27
3.4 Alat dan Bahan	27
3.4.1 Alat Penelitian.....	27
3.4.2 Bahan Penelitian	27
3.5 Prosedur Penelitian	28
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	28
3.5.1 Persiapan Media	28
3.5.1.1 Media Yeast Malt Broth (YMB)	28
3.5.1.2 Media Yeast Malt Extract Agar (YMEA).....	28
3.5.1.3 Media Yeast Peptone Glucose (YPG)	29
3.5.2 Peremajaan Isolat Khamir	29
3.5.3 Penambahan Unsur <i>Zinc</i>	30
3.5.4 Pengukuran Biomassa Khamir	30
3.5.5 Penentuan Jumlah Sel.....	31

3.5.6 Pembuatan Adonan Roti.....	32
3.5.7 Pengujian Kualitas Roti.....	33
3.5.7.1 Volume.....	33
3.5.7.2 Aroma, Rasa, Warna dan Tekstur.....	33
3.6 Analisis Data	33
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1 Pengaruh Pemberian Senyawa Zinc terhadap Pertumbuhan Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw.)...	33
4.1.1 Biomassa Khamir	35
4.1.2 Jumlah Sel Hidup Khamir.....	37
4.2 Kualitas Roti Hasil Fermentasi oleh Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i> Reinw.)	40
4.2.1 Volume.....	40
4.2.2 Organoleptik Roti.....	48
BAB V. PENUTUP	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Beberapa bentuk sel khamir.....	9
Gambar 2.2. Bagian-bagian alat <i>Haemocytometer</i>	15
Gambar 2.3. Kotak pada alat <i>Haemocytometer</i>	16
Gambar 2.4. Mekanisme fermentasi alkohol.....	19
Gambar 3.1. Pola perhitungan metode <i>counting chamber</i>	31
Gambar 4.1. Biomassa yang diperoleh dari masing-masing perlakuan ...	35
Gambar 4.2. Perbedaan sel khamir hidup dan sel khamir mati	38
Gambar 4.3. Jumlah sel pada masing-masing perlakuan	38
Gambar 4.4. Persentase pengembang volume roti pada masing-masing perlakuan	42
Gambar 4.5. Volume roti setelah dipanggang pada semua perlakuan	46

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Desain Penelitian	26
Tabel 4.1. Hasil Uji Lanjut Mann-Whitney	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Biomassa dari semua perlakuan.....	67
Lampiran 2. Gambar perolehan biomassa dari setiap perlakuan zinc	69
Lampiran 3. Jumlah sel khamir dari masing-masing perlakuan	70
Lampiran 4. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-3 Zinc 0,1 g/L	73
Lampiran 5. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-3 Zinc 0 g/L	74
Lampiran 6. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-4 Zinc 0,1 g/L	75
Lampiran 7. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-4 Zinc 0 g/L	76
Lampiran 8. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-7 Zinc 0,1 g/L	77
Lampiran 9. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-7 Zinc 0 g/L	78
Lampiran 10. Perhitungan volume adonan pada masing-masing perlakuan tiap 30 menit selama 10 jam.....	79
Lampiran 11. Volume roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan	81
Lampiran 12. Persentase pengembangan adonan pada semua perlakuan setiap 30 menit selama 10 jam	82
Lampiran 13. Warna permukaan roti setelah dipanggang pada masing- masing perlakuan.....	84
Lampiran 14. Tekstur roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan	85
Lampiran 15. Skala Penilaian Parameter Organoleptik.....	86
Lampiran 16. Hasil uji Kruskal Wallis.....	87
Lampiran 17. Hasil uji lanjut Mann-Whitney	88
Lampiran 18. Bukti konsultasi dosen pembimbing 1	90
Lampiran 19. Bukti konsultasi dosen pembimbing 2	91

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Khamir tergolong sebagai organisme kemo-organotrof. Oleh karena itu, khamir memiliki kemampuan untuk menggunakan senyawa kimia yang berada pada substrat tempat hidupnya sebagai sumber energi untuk melakukan pertumbuhan (Phale, 2018). Berdasarkan sifatnya dalam melakukan metabolisme, terdapat jenis khamir fermentatif (Ivanesthi *et al.*, 2016). Khamir fermentatif juga memiliki kemampuan mengubah substrat seperti senyawa glukosa menjadi produk bermanfaat lainnya (Periadni *et al.*, 2018). Sehubungan dengan kemampuan tersebut, khamir fermentatif termasuk mikroorganisme yang banyak digunakan untuk keperluan produksi.

Khamir merupakan salah satu makhluk Allah SWT yang dianugerahi rezeki berupa kemampuan untuk melakukan oksidasi terhadap senyawa organik untuk memenuhi kebutuhannya (Hidayat, 2018). Allah SWT berfirman di dalam Al-Quran surat Hud ayat 6 yang berbunyi:

وَمَا مِنْ دَابَّةٍ فِي الْأَرْضِ إِلَّا عَلَى اللَّهِ رِزْقُهَا وَيَعْلَمُ مُسْتَقَرَّهَا وَمُسْتَوْدَعَهَا ۗ كُلٌّ فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ۝٦

Artinya: “Tidak satu pun hewan yang bergerak di atas bumi melainkan dijamin rezekinya oleh Allah. Dia mengetahui tempat kediamannya dan tempat penyimpanannya. Semua (tertulis) dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfuz).” (QS. Hud [11]: 6)

M. Abdul Ghoffar menjelaskan di dalam kitab terjemahan *Tafsir Ibnu Katsir* (2004) bahwa berdasarkan pada hadits riwayat Ibnu ‘Abbas mengenai firman Allah kata (وَيَعْلَمُ مُسْتَقَرَّهَا), beliau mengatakan bahwa artinya adalah tempat

di mana makhluk tersebut tinggal selama hidupnya dan firman Allah kata (وَمُسْتَوْدَعَهَا) memiliki arti tempat dimana makhluk tersebut mati. M. Quraish Shihab dalam kitab *Tafsir Al-Misbah* (2005) menyatakan bahwa pada ayat tersebut, Allah SWT menegaskan bahwa semua makhluk ciptaan Allah telah dijamin mendapatkan rezeki sesuai kebutuhannya. Bahkan Allah SWT juga telah menghamparkan rezeki sesuai habitat dan lingkungan bagi makhluk yang tidak kasat mata atau berada di tempat paling tersembunyi sekalipun termasuk habitat serta lingkungan bagi khamir yang telah dianugerahi kemampuan istimewa untuk memanfaatkan sumber energi yang ada pada lingkungan hidupnya.

Fermentasi merupakan salah satu tahap penting dalam pengolahan makanan baik untuk tujuan produksi skala industri maupun sekedar konsumsi pribadi (Erkmen & Bozoglu, 2016). Melalui proses fermentasi, molekul organik yang kompleks akan diubah menjadi bentuk molekul yang lebih sederhana (Sharma *et al.*, 2020). Proses fermentasi terjadi dengan adanya bantuan dari aktivitas mikroorganisme secara enzimatik. Mikroorganisme yang berperan dapat berasal dari golongan khamir, jamur ataupun bakteri (Suryani *et al.*, 2017).

Perkembangan ilmu pengetahuan juga menuntut perkembangan serta peningkatan di berbagai bidang, termasuk di bidang pengolahan makanan (Faridah & Sari, 2019). Penggunaan fermentasi sebagai suatu upaya dalam meningkatkan kualitas makanan telah digunakan sejak lama (Erkmen & Bozoglu, 2016). Fermentasi dapat membantu mengurangi kebutuhan terhadap energi untuk menghasilkan produk yang aman dikonsumsi (Sharma *et al.*, 2020). Salah satu makanan yang memerlukan fermentasi dalam proses produksinya adalah roti. Bagian dari khamir yang biasa digunakan untuk membantu melakukan proses

fermentasi dalam bidang pangan adalah biomassa. Menurut Halász & Lásztity, (2017), didalam biomassa terkandung organel-organel sel khamir dan juga hasil metabolisme khamir yang nantinya berperan dalam proses fermentasi. Ouedraogo *et al.*, (2017) menyatakan bahwa biomassa merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan pada sel mikroorganisme.

Khamir yang digunakan pada penelitian ini merupakan khamir yang berhasil diisolasi dari buah salak pondoh dengan kode isolat YIS-3, YIS-4, dan YIS-7. Hal tersebut dikarenakan ketiga isolat itu telah memenuhi kriteria sebagai khamir pengembang adonan roti, diantaranya yaitu mampu memfermentasi semua jenis gula kecuali laktosa, memiliki toleransi terhadap etanol hingga 15%, mampu tumbuh pada suhu 30-37 °C, serta memiliki kemampuan flokulasi yang cukup baik. Selain itu, setelah diaplikasikan sebagai pengembang roti, volume yang dihasilkan mendekati volume roti yang menggunakan ragi komersial (Sari, 2020).

Peningkatan laju pertumbuhan khamir menjadi salah satu alternatif untuk meningkatkan hasil fermentasi (Azhar *et al.*, 2017). Khamir sebagai mikroorganisme kemoorganotrof akan melakukan pemanenan energi yang berasal dari lingkungan. Diperlukan media atau substrat dengan komposisi yang sesuai dengan kebutuhan nutrisi khamir sehingga dapat diperoleh pertumbuhan khamir yang baik (Kristiandi, 2021). Khamir memerlukan nutrisi berupa makronutrien dan mikronutrien. Salah satu nutrisi yang diperlukan dari golongan mikronutrien adalah Zinc. Sekalipun dibutuhkan dalam jumlah yang tidak terlalu besar, mikronutrien memiliki peran menjadi katalis untuk mempercepat suatu reaksi dan menjadi bagian dari sisi aktif enzim dan kofaktor (Hidayat, 2018). Zinc terlibat dengan enzim RNA dan DNA polimerase dalam proses replikasi RNA dan DNA.

Selain itu, zinc juga membantu sintesis senyawa alanin dan glutathione yang berperan untuk keseimbangan proses metabolisme khususnya tahap glikolisis (Zhao & Bai, 2012). Zinc mampu meningkatkan sintesis riboflavin dan menstimulus terjadinya proliferasi sel sehingga laju pertumbuhan khamir dapat meningkat (Azad *et al.*, 2014). Zinc juga berperan sebagai kofaktor bagi enzim alkohol dehidrogenase pada proses fermentasi. Enzim tersebut berperan dalam reduksi senyawa asetaldehid menjadi alkohol dan NAD^+ (Walker & Graham, 2016).

Penelitian ini menggunakan senyawa zinc sulfat (ZnSO_4) sebagai tambahan pada media pertumbuhan khamir dengan konsentrasi 0.1 g/L. Konsentrasi tersebut sesuai dengan penelitian Zhao (2009) yang menambahkan zinc sulfat pada media pertumbuhan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *Prombe Schizosacchahromyces* dengan konsentrasi 0.01 g/L, 0.05 g/L dan 0.1 g/L. Hasil yang didapatkan bahwa penambahan senyawa zinc sulfat dengan konsentrasi 0.1 g/L mampu meningkatkan viabilitas sel tertinggi dengan nilai 84.5%. Hasil tersebut juga berpengaruh terhadap hasil fermentasi dengan dihasilkan etanol sebanyak 110.8 g/L. Azad *et al.*, (2014) dalam penelitiannya menggunakan konsentrasi zinc sulfat sebesar 5-10 mg/L mendapatkan pertumbuhan lebih efisien dari konsentrasi lainnya yang ditandai dengan hasil *Optical Density* lebih tinggi. Laju pertumbuhan yang lebih tinggi pada konsentrasi 5 mg/L juga menghasilkan biomassa tertinggi sebesar 4.995 g/L.

Indikator pertumbuhan sel khamir dapat diketahui dengan pengukuran biomassa dan jumlah sel hidup khamir. Hal tersebut dikarenakan sebelum biomassa diaplikasikan sebagai agen pengembang roti harus dipastikan bahwa sel

khamir pada biomassa dalam keadaan hidup dan memiliki jumlah yang sesuai untuk proses fermentasi. Menurut Suyadi *et al.*, (2012) jumlah sel khamir yang diperlukan untuk melakukan proses fermentasi alkohol pada makanan berkisar antara 10^5 - 10^6 sel/gram. Terdapat beberapa metode yang dapat dilakukan untuk mengetahui jumlah sel hidup khamir, baik secara langsung maupun tidak langsung (Rosmania & Yanti, 2020). Pada penelitian ini perhitungan sel hidup dilakukan secara langsung dengan metode *counting chamber* menggunakan alat *Haemocytometer* (Restuhadi *et al.*, 2017).

Setelah melalui proses perhitungan jumlah sel, biomassa khamir diaplikasikan ke dalam adonan roti untuk melangsungkan proses fermentasi (Karki *et al.*, 2017). Proses fermentasi sangat berpengaruh terhadap kualitas roti secara keseluruhan (Xu *et al.*, 2019). Khamir akan mencerna molekul gula sederhana serta melakukan katabolisme terhadap molekul kompleks yang terdapat di dalam adonan roti, dengan dibantu oleh aktivitas enzim yang disekresikan (Struyf *et al.*, 2017). Fermentasi yang terjadi dalam adonan roti termasuk jenis fermentasi alkohol yang dibantu oleh beberapa enzim seperti enzim amilase, maltase, invertase dan enzim zymase. Proses fermentasi akan menghasilkan gas berupa CO₂ dan etil alkohol (Shabrina, 2017). Karbondioksida yang dihasilkan akan berperan dalam pengembangan adonan roti, sedangkan alkohol mengambil peran pada rasa serta aroma roti (Chairuni *et al.*, 2019). Oleh sebab itu, diperlukan pengukuran terhadap volume adonan roti untuk membuktikan keberadaan gas CO₂ serta diperlukan uji organoleptik yang meliputi rasa dan aroma roti untuk membuktikan kandungan alkohol. Pengukuran kualitas roti dapat melibatkan

beberapa panelis untuk melakukan penilaian berdasarkan kesukaan (hedonik) (Sitepu, 2019).

Penelitian penambahan senyawa zinc untuk meningkatkan pertumbuhan beberapa isolat khamir yang diaplikasikan pada adonan roti belum pernah dilakukan di Indonesia. Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang di atas penelitian ini dianggap perlu dilakukan dan diharapkan dari penelitian ini mampu memberikan hasil yang bermanfaat berupa perolehan biomassa dengan jumlah sel hidup yang sesuai sehingga khamir dapat melakukan proses fermentasi adonan roti dengan maksimal dan mampu meningkatkan kualitas roti.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

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

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan unsur zinc terhadap pertumbuhan khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)
2. Untuk mengetahui pengaruh penambahan unsur zinc terhadap kualitas roti hasil fermentasi oleh buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Diharapkan dapat memberikan informasi berupa pengaruh penambahan unsur *zinc* terhadap peningkatan pertumbuhan khamir dan kualitas roti hasil fermentasi khamir endofit
2. Diharapkan mampu menjadi alternatif baru yang diterapkan dalam bidang industri makanan terutama yang melibatkan khamir.

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. H_0 = tidak terdapat pengaruh penambahan zinc terhadap pertumbuhan khamir endofit buah salak pondoh
 H_1 = terdapat pengaruh penambahan zinc terhadap pertumbuhan khamir endofit buah salak pondoh
2. H_0 = tidak terdapat pengaruh penambahan zinc terhadap kualitas roti hasil fermentasi oleh khamir endofit buah salak pondoh
 H_1 = terdapat pengaruh penambahan zinc terhadap kualitas roti hasil fermentasi oleh khamir endofit buah salak pondoh

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Isolat khamir yang digunakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang diberi kode YIS-3, YIS-4 dan YIS-7

2. Sumber zinc yang digunakan adalah senyawa $ZnSO_4$ kategori *food grade*
3. Senyawa $ZnSO_4$ monohydrate didapatkan dari toko kimia.
4. Konsentrasi zinc yang digunakan adalah 0,1 g/L dan 0 g/L
5. Parameter yang diamati berupa pertumbuhan khamir yang meliputi biomassa serta jumlah sel dan kualitas roti yang meliputi volume, warna, aroma, tekstur dan rasa
6. Pengamatan parameter volume adonan roti dilakukan setiap 30 menit selama 600 menit (10 jam)
7. Media yang digunakan sebagai media peremajaan awal isolat khamir adalah *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA)
8. Media yang digunakan sebagai media peremajaan sebelum diberi perlakuan adalah *Yeast Malt Broth* (YMB)
9. Media yang digunakan sebagai media perlakuan dengan penambahan unsur zinc adalah *Yeast Peptone Glucose* (YPG)
10. Kontrol positif yang digunakan sebagai pengembang adonan roti adalah ragi *Fermipan*.

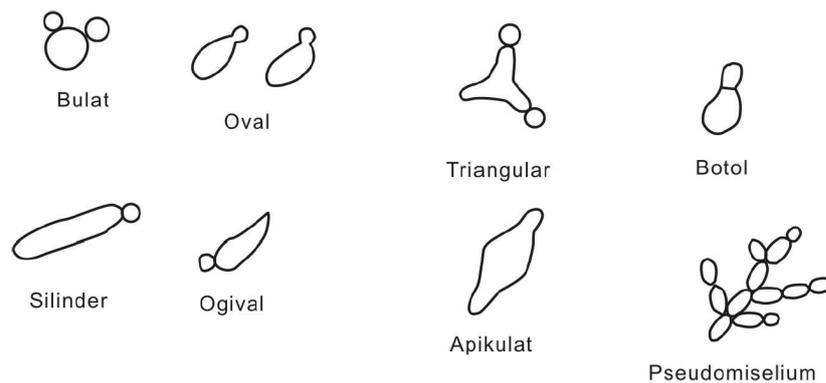
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Khamir

Khamir tergolong sebagai mikroorganisme eukariot yang memiliki karakter uniseluler permanen. Ukuran partikel yang dimiliki oleh khamir jauh lebih besar dibandingkan bakteri (de Oca *et al.*, 2016). Sekalipun tergolong organisme uniseluler, khamir memiliki sistem organisasi tingkat sel yang menyerupai organisme tingkat tinggi. Khamir merupakan organisme polifiletik yang termasuk dalam kingdom Fungi bersama dengan kapang dan jamur (Gizaw *et al.*, 2016). Khamir merupakan organisme yang termasuk ke dalam anggota kerajaan Fungi namun tidak memiliki filamen (Fardiaz, 1992). Secara morfologi, khamir memiliki bentukan sel yang beragam seperti pada gambar 2.1. Bentuk sel khamir berkisar mulai bulat hingga bentuk yang paling umum adalah oval (Maicas, 2020). Sel khamir berukuran mikroskopis dan bervariasi. Panjangnya berkisar 5-30 μm , sedangkan lebarnya sekitar 1-5 μm (Hadi & Alamudi, 2019). Khamir berbeda dengan bakteri, pada khamir terdapat organel-organel sel yang hampir sama dengan sel eukariotik dewasa. Organel sel tersebut diantaranya yaitu inti sel, aparatus golgi, mitokondria, retikulum endoplasma, vakuola dan sitoskeleton yang merupakan salah satu organel penting pada sel khamir (de Oca *et al.*, 2016).

Khamir secara taksonomi terbagi dalam filum Ascomycota dan Basidiomycota dengan kemampuan berkembang biak melalui tunas, pembelahan bahkan kombinasi tunas dan pembelahan maupun pembentukan spora yang tidak tertutup tubuh buah atau disebut askospora (Azhar *et al.*, 2017). Khamir memiliki

sifat resisten terhadap antibiotik dan antibakteri yang merupakan sifat alaminya secara genetik (de Oca *et al.*, 2016). Khamir melakukan reproduksi dengan beberapa cara yakni dengan melakukan pertunasan (*budding*), pembelahan (*fission*) atau dengan memproduksi konidia tangkai pendek (*sterigmata*). (Kanti & Latupapua, 2018).



Gambar 2.1. Beberapa bentuk sel khamir (Hadi & Alamudi, 2019)

Khamir disebut sebagai mikroorganisme yang dapat hidup pada berbagai habitat dan dapat ditemukan di berbagai substrat. Kondisi tersebut didukung dengan kemampuan khamir sebagai organisme kemo-organotrof yang memanfaatkan senyawa organik untuk memperoleh sumber energi (Gizaw *et al.*, 2016). Khamir tersebar dalam berbagai kondisi lingkungan mulai terestrial, akuatik hingga di udara. Berdasarkan sifatnya dalam berkembang, khamir dapat bertindak sebagai parasit ataupun saprofit. Selain itu khamir juga banyak ditemukan hidup secara endofit pada jaringan tumbuhan yang sehat (Akbar & Kusdiyantini, 2019).

2.2 Hasil Isolasi Khamir Endofit pada Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.)

Salah satu habitat khamir yang banyak ditemukan adalah pada buah-buahan. Khamir yang melakukan pertumbuhan dan perkembangan di dalam buah disebut dengan khamir endofit. Khamir jenis ini biasa tumbuh pada salah satu jaringan tumbuhan namun tidak menyebabkan kerugian bagi inangnya. Beberapa penelitian menyatakan bahwa khamir endofit yang tumbuh pada jaringan tumbuhan melakukan simbiosis yang saling menguntungkan dengan inangnya. Khamir endofit memiliki peran dalam menghasilkan beberapa metabolit sekunder yang membantu proses pertumbuhan tanaman inangnya seperti meningkatkan toleransi stress, peningkatan perlindungan dari patogen dan meningkatkan daya serap terhadap unsur hara. Berkat kemampuan tersebut, khamir banyak dimanfaatkan dalam industri pangan untuk membantu peningkatan pertumbuhan (Joubert & Doty, 2018). Khamir endofit memiliki berbagai peran penting dalam kehidupan manusia, salah satunya pada bidang industri, terutama industri fermentasi makanan ataupun minuman. Produk yang dihasilkan dari proses fermentasi tersebut memiliki potensi besar untuk perkembangan bioteknologi (Suryaningsih *et al.*, 2018).

Allah berfirman dalam Al-Quran surat Yasin ayat 36 yang berbunyi:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ

Artinya: “Mahasuci (Allah) yang telah menciptakan semuanya berpasang-pasangan, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka sendiri maupun dari apa yang tidak mereka ketahui.” (QS. Yasin [36]: 36)

Prof. M. Quraish Shihab menafsirkan di dalam kitab *Tafsir Al-Misbah* (2002) bahwa pada ayat tersebut Allah SWT memberi penjelasan bahwa

melakukan penciptaan terhadap makhluknya secara berpasang-pasangan. Manusia berpasangan antara laki-laki dan perempuan, tumbuhan dan hewan berpasangan antara jantan dan betina, hingga sesuatu yang terkecil seperti atom juga diciptakan berpasangan oleh Allah SWT. Melalui hal tersebut, Allah SWT ingin mengajarkan kepada makhluk-Nya bahwa Dia berbeda dengan makhluk dan tidak memiliki pasangan. Begitupula penciptaan Allah SWT terhadap mikroorganisme seperti khamir dengan menganugerahkan kemampuan untuk melakukan hubungan yang saling menguntungkan dengan lingkungan sekitar terutama dengan inangnya bagi khamir endofit sehingga khamir dapat memperoleh nutrisi yang dibutuhkan untuk bertahan hidup dan juga dapat memberi manfaat bagi tumbuhan inangnya.

Khamir endofit memiliki kemampuan untuk beradaptasi pada fluktuasi kondisi lingkungan dan inang yang luas, sehingga membuat khamir endofit dapat banyak ditemukan pada berbagai jaringan tumbuhan (Joubert & Doty, 2018). Namun, khamir lebih mudah melakukan pertumbuhan pada habitat yang mengandung banyak molekul karbohidrat untuk disederhanakan seperti buah karena digunakan sebagai bahan untuk memperoleh energi (Tsegaye, 2016). Hasil pemecahan molekul karbohidrat seperti alkohol dan CO₂ akhirnya banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri (Joubert & Doty, 2018).

Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Sari (2020), bahwasannya ditemukan 7 isolat khamir pada buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.). Ketujuh isolat tersebut memiliki kemiripan dengan sub kelas *Hemiascomycetes* dalam kelas *Ascomycetes*. Jacques & Casaregola (2016) menyatakan bahwa khamir *Hemiascomycetes* merupakan kelompok jamur uniseluler yang sering dimanfaatkan dalam industri pengolahan makanan dan

minuman. Isolat YIS-1 dan YIS-7 diduga khamir dari genus *Pichia*, isolat YIS-2, YIS-3, YIS-4, YIS-5 diduga khamir dari genus *Saccharomyces* dan isolat YIS-6 diduga khamir dari genus *Candida*.

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

2.3 Pertumbuhan Khamir

Pertumbuhan pada mikroorganisme disebut dengan penambahan jumlah sel maupun penambahan massa sel menjadi lebih banyak dan lebih besar dibandingkan dengan inokulum awal (Pelczar & Chan, 2005). Melakukan pengukuran pada tingkat pertumbuhan mikroorganisme dilakukan dengan metode kuantitatif pada saat berlangsungnya pertumbuhan (Mahreni & Sri, 2011). Pertumbuhan yang dilakukan oleh khamir merupakan aktivitas penambahan jumlah sel yang diawali dengan melipatgandakan komponen di dalam sel untuk persiapan pembelahan (Hidayat, 2018). Aktivitas pertumbuhan khamir akan melibatkan proses transportasi dan asimilasi nutrisi kepada berbagai komponen

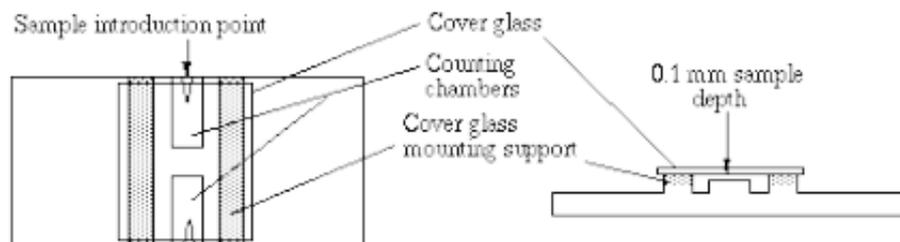
sel secara proporsional (Walker & Graham, 2016). Oleh karena itu, nutrisi memegang peran krusial dalam proses pertumbuhan khamir. Pada penelitian ini, khamir dimanfaatkan sebagai agen dalam melakukan proses fermentasi untuk menghasilkan produk pangan. Pengamatan pertumbuhan khamir dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian nutrisi tambahan berupa zinc pada media pertumbuhan khamir yang akan digunakan sebagai agen fermentasi. Disebutkan oleh Akbar & Kusdiyantini, (2019) bahwa pertumbuhan khamir akan berpengaruh terhadap proses fermentasi yang dilakukan oleh selnya. Pengukuran tingkat pertumbuhan secara langsung dilakukan dengan metode *counting chamber*. *Counting chamber* adalah suatu metode perhitungan individu sel mikroorganisme dengan menggunakan alat *Haemocytometer*. Hasil perhitungan yang diperoleh akan dikalikan dengan faktor pengencer pada pembuatan suspensi mikroorganisme dan dikalikan dengan volume petak pada alat tersebut sehingga dapat diketahui jumlah mikroorganisme tiap satuan mililiter (Prasetya, 2019).

Menurut Matmati & Hannun (2008), pertumbuhan khamir pada media dapat dibedakan menjadi empat fase. Ketika sel khamir diinokulasikan ke dalam media baru, sel akan memulai penyesuaian diri dengan lingkungan sehingga mengalami pertumbuhan lambat yang disebut fase lag. Fase ini dapat berlangsung selama 3-15 jam setelah inokulasi. Sel khamir telah aktif melakukan metabolisme tetapi belum melakukan pembelahan sel. Khamir mulai melakukan penyerapan mineral dan asam amino untuk membentuk protein dan enzim yang diperlukan selama pertumbuhan. Pada fase lag, khamir lebih cepat menyerap oksigen untuk menghasilkan konstituen dinding sel (Ginovart *et al.*, 2011).

Setelah mengalami fase lag, sel khamir memulai fase pertumbuhan logaritmik (eksponensial) yang akan berlangsung sekitar 24-96 jam setelah inokulasi. Jumlah sel khamir akan meningkat dengan cepat serta mulai memproduksi senyawa etanol dan senyawa yang berperan pada aroma dan rasa produk fermentasi (Matmati & Hannun, 2008). Sel khamir meningkatkan pertumbuhannya dengan memproduksi ATP melalui proses fermentasi karbohidrat atau respirasi mitokondria (Olivares-Marin *et al.*, 2018). Pertumbuhan pesat pada fase eksponensial terjadi karena sel khamir melakukan fermentasi terhadap molekul karbohidrat yang tersedia di media. Molekul glukosa difermentasi pertama kali, kemudian molekul fruktosa dan sukrosa. Senyawa maltosa yang merupakan disakarida akan masuk ke dalam sel melalui mekanisme khusus. Maltosa akan dihidrolisis menjadi glukosa oleh enzim maltase sehingga dapat digunakan oleh sel khamir dalam metabolisme normal (Ginovart *et al.*, 2011). Pada fase logaritmik juga biasa terjadi pertumbuhan dua fase. Fase pertama (*prediauxic phase*) yakni sel khamir akan lebih dulu mengonsumsi molekul karbohidrat yang lebih sederhana. Setelah molekul tersebut habis dikonsumsi, fase kedua (*postdiauxic phase*) dimulai dengan produksi enzim untuk mengonsumsi molekul karbohidrat yang lebih kompleks (Matmati & Hannun, 2008).

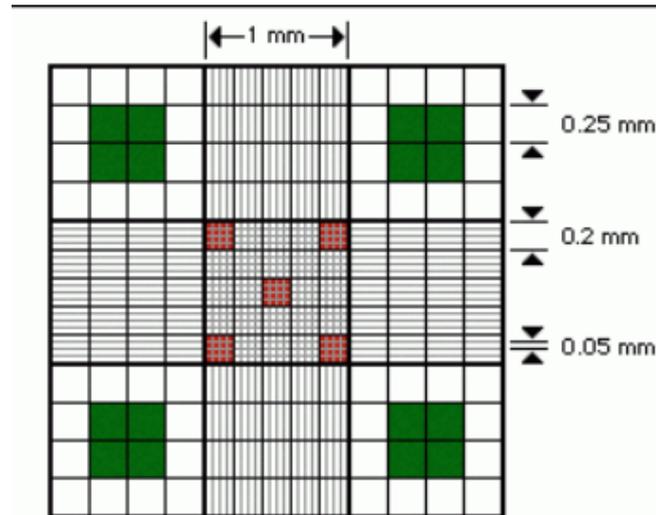
Saat memasuki fase stasioner, pertumbuhan sel khamir akan melambat dan mulai terjadi kematian sel sehingga populasi keseluruhan sel khamir tetap. Fase ini terjadi sekitar 72-240 jam setelah inokulasi. Senyawa hasil metabolisme yang berperan terhadap rasa dan aroma produk fermentasi seperti alkohol, ester dan sulfur telah terbentuk. Pada fase stasioner, kadar nutrisi telah menurun dan akumulasi senyawa beracun bagi sel khamir meningkat sehingga mengganggu

proses pembelahan sel. Fase ini dilanjutkan dengan fase kematian sel khamir yang ditandai dengan lebih tingginya laju kematian dibandingkan laju pertumbuhan (Ginovart *et al.*, 2011).



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

Menurut Mahardika *et al.*, (2018), metode *counting chamber* dengan menggunakan alat merk *Haemocytometer Neubauer*, terdiri dari 9 kotak besar masing-masing memiliki luas sebesar 1 mm^2 , sehingga keseluruhan luas dari kamar hitung ini 9 mm^2 . Satu kotak besar di tengah dibagi lagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang $0,2 \text{ mm}$. Kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil dengan panjang $0,1 \text{ mm}$. Dengan demikian, dalam satu kotak besar terdapat 400 kotak kecil. Gambaran pembagian kotak pada alat *Haemocytometer* dapat dilihat pada gambar 2.3. Adapun tebal dari kamar hitung ini yaitu $0,1 \text{ mm}$ seperti pada gambar 2.2. Perhitungan sel dengan metode ini dapat membedakan antara sel hidup dan sel mati dengan menggunakan pewarnaan *methylene blue*. Sel khamir dengan warna transparan merupakan sel khamir yang masih hidup, sedangkan sel khamir dengan warna biru menunjukkan sel khamir yang telah mati (Anggraini *et al.*, 2019).



Gambar 2.3. Kotak pada alat *Haemocytometer* (Noercholis & Wijaya, 2015)

Pengukuran tingkat pertumbuhan mikroorganisme secara tidak langsung dapat dilakukan dengan metode turbidimetri menggunakan alat spektrofotometer atau dengan metode pengukuran biomassa. Menurut Mahreni & Sri (2011) biomassa khamir dapat diketahui dari menghitung berat sel, dengan demikian, hasil perhitungan berat sel tidak selalu berbanding lurus dengan hasil perhitungan jumlah sel. Hal tersebut dikarenakan berat sel dapat bertambah dengan memperbesar organel penampung hasil metabolisme (Vakuola) seperti *glycogen* dan *poly-beta-hydroxybutirate*. Sel khamir menyimpan hasil metabolisme berupa protein serta nutrisi lainnya di dalam vakuola. Ukuran vakuola menempati sekitar 20-30% dari total volume sel khamir (Zubko, 2012). Biomassa khamir pada bidang industri merupakan material yang mengandung senyawa yang cocok terhadap produksi makanan, pakan dan biokimia (Ferreira *et al.*, 2010).

Biomassa khamir merupakan seluruh bagian sel khamir termasuk organel dan juga hasil metabolisme sel (Halász & Lásztity, 2017). Kandungan senyawa kimia dalam biomassa khamir bergantung pada strain, media pertumbuhan, kondisi pertumbuhan serta keadaan setelah proses fermentasi (Øverland & Skrede,

2017). Biomassa khamir biasa diproduksi dalam bentuk bubuk, serpihan, tablet (kapsul) atau berbentuk cair (Jach & Serefko, 2018). Biomassa khamir didapatkan melalui pemisahan sel-sel khamir dengan media pertumbuhannya. Jumlah biomassa khamir yang dihasilkan dapat diukur sebagai berat basah atau berat kering bergantung pada tujuannya (Ouedraogo *et al.*, 2017). Pemisahan sel khamir dengan media dapat dilakukan dengan bantuan alat sentrifugasi atau memanfaatkan kemampuan khamir dalam melakukan flokulasi (Karki *et al.*, 2017).

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 sel 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 membran luar. Ukuran, bentuk, jumlah dan komposisi mitokondria sangat bervariasi dalam kondisi pertumbuhan yang berbeda. Saat kondisi pertumbuhan anaerob, kandungan asam lemak tak jenuh dalam fosfolipid mitokondrial digantikan oleh asam lemak dan kandundungan sterol. Vakuola merupakan organel subseluler dalam khamir yang mengandung berbagai enzim hidrolitik seperti protease yang mampu mendegradasi organel intraseluler (Halász & Lásztity, 2017).

Biomasa khamir mengandung lemak, karbohidrat, asam nukleat, vitamin dan mineral (Jach & Serefko, 2018). Heitmann & Arendt, (2018) menambahkan

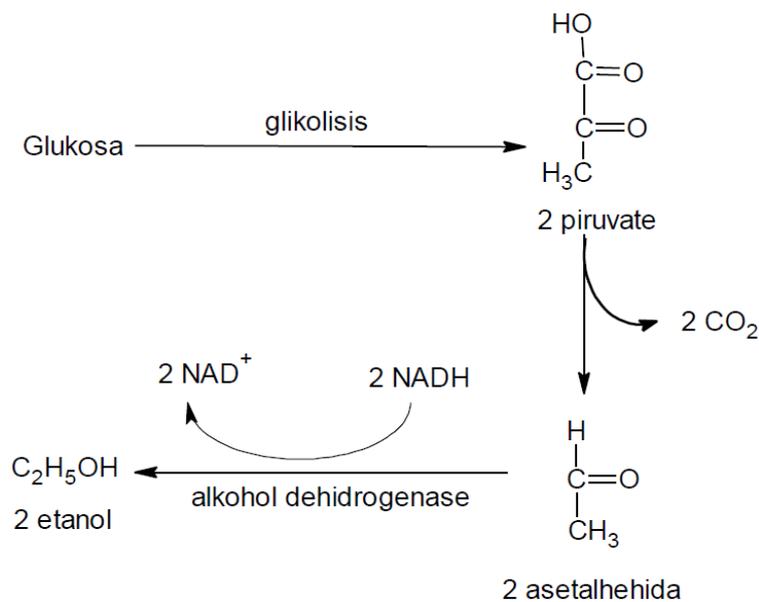
bahwa biomassa khamir pengembang roti mengandung 30-33% material kering, 40.6-58% protein, 35-45 % karbohidrat, 5-7.5 % mineral dan 4-6 % lipid dan beberapa vitamin. Khamir mampu mensintesis makromolekul konstituen seperti protein dan asam nukleat dari gula dan nutrisi penting seperti nitrogen, fosfat anorganik dan sulfat, serta mineral dan vitamin tambahan. Kandungan protein pada biomassa khamir bervariasi antara 40-55% bahan kering termasuk kandungan asam nukleat (Øverland & Skrede, 2017). Kualitas hasil produk fermentasi khamir didasarkan pada jenis mikroorganisme yang terlibat. Beberapa senyawa yang terbentuk selama fermentasi termasuk asam organik misalnya, asam palmitat, piruvat, laktat, asetat, propionat, butirat, alkohol (terutama etanol), aldehida dan keton (Malik, 2016).

2.4 Fermentasi pada Roti

Fermentasi merupakan proses untuk melakukan perombakan terhadap molekul organik kompleks menjadi molekul sederhana dengan bantuan mikroorganisme. Fermentasi banyak digunakan untuk membantu meningkatkan kualitas makanan serta mengurangi kebutuhan energi yang dibutuhkan untuk memasak makanan. Beberapa mikroorganisme yang sering digunakan dalam membantu proses fermentasi ada dari golongan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus*, kemudian dari golongan khamir seperti *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* dan *Rhizopus* (Sharma, 2020).

Salah satu industri yang menerapkan proses fermentasi adalah industri roti dengan memanfaatkan biomassa mikroorganisme sebagai agen fermentor

(Nurhadianty *et al.*, 2018). Proses fermentasi pada adonan roti merupakan tahap paling penting dalam pembuatan roti karena menentukan hasil akhir kualitas roti (Struyf, 2017). Fermentasi yang terjadi pada adonan roti tergolong ke dalam jenis fermentasi alkohol (Stanley *et al.*, 2007). Hasil fermentasi berupa gas CO₂, alkohol serta beberapa metabolit lain berpengaruh terhadap volume, tekstur, rasa hingga aroma roti (Maicas, 2020). Kemampuan mikroorganisme selama proses fermentasi adonan roti dipengaruhi oleh empat faktor termasuk komposisi adonan, kondisi fermentasi, jenis mikroorganisme yang digunakan dan kondisi pertumbuhan mikroorganisme sebelum melakukan proses fermentasi (Struyf, 2017).



Gambar 2.4. Mekanisme fermentasi alkohol (Handayani, 2016)

Khamir dapat tumbuh pada kondisi lingkungan anaerob dan menggunakan alkohol untuk memperoleh energi. Namun mayoritas khamir fermentatif juga dapat melakukan pertumbuhan secara aerobik (Erkmen & Bozoglu, 2016). Menurut Ashshoffa & Yuliani (2019) fermentasi alkohol terjadi melalui dua tahapan, yaitu pada tahap pertama terjadi hidrolisis karbohidrat atau pati menjadi

molekul yang lebih sederhana yaitu glukosa. Pada tahap pertama ini, proses fermentasi terjadi melalui jalur EMP (*Embden Meyerhof Parnas*) atau glikolisis dengan melibatkan beberapa enzim spesifik sehingga terbentuk beberapa produk, salah satunya asam piruvat. Selanjutnya pada tahap kedua, asam piruvat yang terbentuk sebelumnya diubah menjadi produk berupa alkohol seperti pada gambar 2.4. Perubahan asam piruvat menjadi alkohol juga melalui dua proses. Proses pertama yaitu pemecahan asam piruvat oleh piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehid, dalam hal ini melibatkan tiamin pirofosfat. Proses kedua terjadi reduksi asetaldehid menjadi etanol oleh alkohol dehidrogenase dengan melibatkan NADH₂. Adapun NAD yang telah teroksidasi digunakan pada tahap glikolisis selanjutnya untuk menangkap hidrogen.

Terdapat 12 enzim yang berperan dalam proses perubahan glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida. 10 di antaranya berperan dalam tahap glikolisis yang mendegradasi glukosa menjadi 2 piruvat, 2 ATP dan 2 NADH. 2 enzim lainnya merupakan enzim kunci yang berperan pada proses fermentasi yakni piruvat dekarboksilase yang membantu mengubah piruvat menjadi karbon dioksida dan asetaldehid, sedangkan alkohol dehidrogenase membantu mereduksi asetaldehid menjadi NAD⁺ dan etanol (Walker & Roy, 2018).

2.5 Unsur Zinc (Zn)

Mikroorganisme membutuhkan nutrisi optimal untuk melakukan pertumbuhan dan perkembangan. Kebutuhan nutrisi didasarkan kepada komposisi sel yang dimiliki oleh mikroorganisme tersebut (Hidayat, 2018). Nutrisi akan digunakan oleh mikroorganisme sebagai bahan dasar penyusun sel, melakukan

sintesis protein serta untuk memenuhi kebutuhan fisiologis di dalam tubuhnya (Fifendy, 2017). Berdasarkan jumlah yang dibutuhkan, nutrisi yang diperlukan oleh mikroorganisme terbagi menjadi dua yakni makronutrien dan mikronutrien (Hidayat, 2018). Makronutrien merupakan unsur utama yang menyusun sel mikroorganisme sehingga dibutuhkan dalam jumlah yang cukup banyak (Fifendy, 2017). Mikronutrien dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam jumlah sedikit, namun tetap memiliki peran yang penting untuk pertumbuhan mikroorganisme. Unsur yang termasuk dalam mikronutrien biasanya menjadi bagian dari sisi aktif suatu enzim serta berperan sebagai katalis reaksi yang terjadi di dalam sel mikroorganisme (Hidayat, 2018).

Zinc merupakan mikronutrien yang penting untuk pertumbuhan sel serta proses metabolisme dari seluruh organisme hidup. Zinc juga merupakan kofaktor dari beberapa enzim. Unsur zinc termasuk dalam komponen struktural penting pada beberapa protein esensial seperti protein *zinc-finger*. Berdasarkan fungsi tersebut, ketersediaan unsur zinc penting bagi pertumbuhan dan metabolisme sel (Wan *et al.*, 2014). Penambahan senyawa zinc sulfat pada media pertumbuhan khamir dapat meningkatkan toleransi khamir tersebut terhadap kadar etanol dan kadar asam asetat. Defisiensi unsur zinc dapat menyebabkan stress oksidatif pada sel. Studi lain mengatakan bahwa penambahan zinc dapat meningkatkan penyerapan glukosa pada proses produksi etanol serta mempercepat aliran karbon pada piruvat yang akan diubah menjadi etanol. Selain itu, zinc diketahui berpengaruh terhadap aktivitas enzim alkohol dehidrogenase 1 (ADH1) yang merupakan enzim untuk produksi etanol (Cheng *et al.*, 2016). Menurut Tomas *et al.* (2004) dinyatakan bahwa pada jumlah tertentu, zinc dapat meningkatkan laju

pertumbuhan khamir serta produksi etanol. Namun sebaliknya jika jumlah zinc yang terdapat pada media terlalu banyak akan menjadi beracun karena sifatnya yang berpengaruh terhadap permeabilitas membran sel.

Azad *et al.* (2014) dalam penelitiannya menggunakan konsentrasi zinc sulfat sebesar 5 mg, 10 mg, 15 mg, 30 mg dan 60 mg yang masing-masing ditambahkan pada 1 L media. Hasil yang diperoleh dalam 24 jam pertama waktu inkubasi, khamir dengan penambahan 5 mg dan 10 mg zinc melakukan pertumbuhan lebih efisien dari kontrol, sedangkan khamir dengan penambahan 15 mg hingga 60 mg justru melakukan pertumbuhan lebih lambat dari kontrol. Terkait biomassa yang dihasilkan, hasil tertinggi yakni konsentrasi zinc 5 mg/L dengan hasil 4.995 ± 0.260 g/L. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Zhao (2009) menggunakan zinc sulfat untuk ditambahkan pada media pertumbuhan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *Prombe Schizosacchahromyces* dengan konsentrasi 0.01 g/L, 0.05 g/L dan 0.1 g/L. Hasil yang didapatkan bahwa penambahan senyawa zinc sulfat dengan konsentrasi 0.05 g/L mampu menghasilkan viabilitas sel paling tinggi sebesar 84.1%. Viabilitas sel tersebut dapat mempengaruhi hasil fermentasi dengan dihasilkan etanol sebanyak 114.5 ± 1.9 g/L.

Penyerapan unsur zinc oleh khamir dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama disebut biosorpsi atau penyerapan pasif. Penyerapan ini bersamaan dengan penyerapan kation pada permukaan dinding sel, zinc yang berada di sekitar permukaan dinding sel ikut diserap dalam pengikatan anionik ke dalam sel. Tahap kedua disebut bioakumulasi atau penyerapan aktif yang melibatkan penetrasi ion zinc ke dalam sel melalui pengangkut pada membran spesifik dan

siklus metabolisme sel. Ion zinc selanjutnya akan terakumulasi pada vakuola di dalam sel ragi (Azad *et al.*, 2014). Peningkatan pertumbuhan sel setelah penambahan zinc pada media pertumbuhan khamir disebabkan karena zinc mampu meningkatkan sintesis riboflavin serta menstimulasi proliferasi sel sehingga pertumbuhan sel dapat berlangsung lebih intensif (Azad *et al.*, 2014). Khamir melakukan fermentasi dan menghasilkan alkohol untuk mempertahankan keseimbangan elektron intraseluler. Produksi alkohol juga sebagai bentuk respon terhadap tekanan osmotik dimana alkohol akan menjadi zat terlarut supaya sel dapat bertahan saat kehilangan air (Walker & Roy, 2018). Peran zinc pada fermentasi alkohol adalah sebagai kofaktor bagi enzim alkohol dehidrogenase yang membantu reduksi senyawa asetaldehid menjadi alkohol dan NAD^+ (Walker & Graham, 2016). Namun konsentrasi zinc yang berlebihan akan memperpanjang fase lag dan memperpendek fase eksponensial pada khamir. Selain itu, kadar zinc yang terlalu tinggi menimbulkan pelepasan ion K^+ , Mg^{2+} , Na^+ dan H^+ yang berlebihan. Ion tersebut merupakan komponen penting untuk menjaga keseimbangan ion pada sel khamir (Azad *et al.*, 2014).

Penambahan zinc berperan sebagai antioksidan bagi sel ragi untuk menghadapi kondisi stress yang biasa disebabkan oleh kandungan alkohol yang tinggi. Zhao *et al.* (2012) menyebutkan bahwa zinc akan bereaksi dengan protein superoksida dismutase (SOD1) ketika terjadi kondisi stress oksidatif. Protein SOD1 juga terlibat dalam pemeliharaan kondisi redoks pada tingkat sel dengan jalur pentosa fosfat. Protein tersebut akan mengubah *reactive oxygen species* (ROS) menjadi H_2O_2 dan O_2 . Karena berperan sebagai pengikat utama zinc, protein SOD1 juga berkontribusi untuk menyeimbangkan tingkat kandungan zinc

pada sitosol. Selain itu, Zhao *et al.*, (2012) juga menyatakan, secara fisik zinc akan membentuk jembatan antara molekul lipid dalam membran sel. Kemampuan menyerap air oleh gugus fosfat yang terikat dengan zinc juga berkurang sehingga membuat membran sel lebih bersifat hidrofobik dan kaku. Di sisi lain, zinc juga mengatur biosintesis fosfolipid sebagai respon terhadap toksisitas kadar etanol dan asam asetat. Wan *et al.* (2014) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa, penambahan zinc juga dapat membantu biosintesis trehalosa. Kandungan trehalosa yang lebih tinggi pada awal pertumbuhan khamir dapat meningkatkan viabilitas sel dan menambahkan toleransi pada kondisi etanol dan asam asetat yang tinggi.

2.6 Karakteristik Roti

Bahan dasar utama yang dibutuhkan dalam pembuatan roti adalah tepung terigu dan air. Penambahan berbagai bahan tambahan lain dilakukan untuk menambahkan cita rasa pada roti. Pembuatan roti melalui proses pembuatan adonan serta pemanggangan adonan. Produksi roti termasuk dalam proses bioteknologi konvensional yang melibatkan bantuan mikroorganisme untuk melakukan fermentasi (Suryatna, 2015). Allah berfirman dalam surat Al-Ma'idah ayat 112 yang berbunyi:

إِذْ قَالَ الْخَوَارِجُونَ لِعِيسَى ابْنِ مَرْيَمَ هَلْ يَسْتَطِيعُ رَبُّكَ أَنْ يُنَزِّلَ عَلَيْنَا مَائِدَةً مِّنَ السَّمَاءِ قَالَ اتَّقُوا اللَّهَ إِنْ كُنْتُمْ مُؤْمِنِينَ

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

M. Quraish Shihab dalam kitab tafsir Al-Mishbah (2002) menyebutkan bahwa penggalan kata مَائِدَةً dalam ayat tersebut bermakna hidangan, wadah yang berisi hidangan atau makanan yang dihidangkan. Allah bercerita dalam ayat tersebut bahwa kaum hawariyyin bertanya kepada Nabi Isa dengan pertanyaan yang terkesan meragukan kebesaran Allah. Nabi Isa menjawab dengan memerintahkan kaum tersebut untuk beriman dan yakin kepada Allah. Tanpa diminta sekalipun, Allah tetap akan memberikan karunia terhadap semua hamba-Nya melalui segala sesuatu yang Allah ciptakan di muka bumi. Oleh karena itu, manusia sebagai makhluk yang diberi akal oleh Allah hendaknya mampu menjaga, memanfaatkan serta mengolah dengan baik semua ciptaan Allah.

Karakteristik roti yang berupa ukuran adonan (volume), rasa, aroma, warna serta tekstur roti merupakan tolok ukur yang dapat diuji untuk mengetahui hasil fermentasi yang terjadi pada adonan roti (Watanabe *et al.*, 2016). Pengujian karakter rasa, aroma, warna dan tekstur dilakukan dengan uji organoleptik yang melibatkan panelis (Sitepu, 2019). Uji organoleptik dilakukan untuk menggali informasi berupa respon konsumen terhadap hasil produk, terutama produk makanan. Uji organoleptik dilakukan dengan memanfaatkan reaksi pada alat indera manusia. Uji organoleptik dilakukan untuk mendapatkan kesimpulan preferensi dari konsumen dengan membandingkan beberapa sampel yang ada (Ana *et al.*, 2017). Uji organoleptik dilakukan dengan memberi nilai terhadap sifat suatu produk berdasarkan skala tertentu (Kristanti dan Herminiati, 2019). Pengujian kualitas roti melibatkan beberapa orang panelis untuk menentukan penerimaan alat indera manusia terhadap suatu produk. Respon yang baik akan mencerminkan kualitas produk yang baik (Choiriyah & Dewi, 2020). Proses

fermentasi yang terjadi pada adonan roti akan menghasilkan gas berupa karbon dioksida (CO₂) serta etanol. Karbon dioksida yang dilepas saat terjadinya dekarboksilasi piruvat menjadi asetaldehid akan diikat oleh jaringan gluten sehingga menyebabkan adonan mengalami pengembangan. Jaringan gluten terbentuk dari kandungan protein pada tepung terigu yang tidak larut dalam air dan bersifat elastis (Birch *et al.*, 2013). Proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir juga berpengaruh terhadap aroma pada roti. Khamir menghasilkan senyawa seperti asam asetat, asam laktat, alkohol, ester, karbonil dan aldehid. Senyawa tersebut merupakan senyawa yang berpengaruh terhadap aroma dan rasa (Xu *et al.*, 2019).

Rasa pada roti dipengaruhi oleh beberapa bahan yang ditambahkan dalam adonan. Gula pada adonan akan menjadi sumber energi bagi agen pengembang roti yang berasal dari golongan khamir dan memberikan rasa manis pada roti serta berperan dalam perubahan warna roti setelah dimasak (Sitepu, 2019). Warna kecoklatan yang timbul setelah adonan roti dipanggang berasal dari terjadinya reaksi maillard serta proses karamelisasi gula. Reaksi maillard terjadi saat suhu tinggi yang melibatkan gugus amin dari asam amino dan gula pereduksi. Karamelisasi pada gula terjadi akibat dilakukan pemanasan yang melewati titik lebur gula sehingga mengalami degradasi dan berubah menjadi warna coklat (Sitepu, 2019). Mayoritas roti yang diminati memiliki tekstur yang empuk. Tekstur tersebut dipengaruhi oleh kandungan gula dan ragi pada adonan. Komponen gula akan membantu mempertahankan struktur jaringan gluten untuk mengikat karbon dioksida, sedangkan ragi merupakan agen yang menghasilkan karbon dioksida agar daya kembang adonan roti meningkat (Sitepu, 2019).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental. Penelitian dilakukan dengan menambahkan unsur zinc sebanyak 0,1 g/L ke dalam media pertumbuhan khamir. Rancangan penelitian yang dilakukan untuk parameter kualitas roti adalah rancangan penelitian non parametrik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan uji lanjut Mann-Whitney. Adapun desain penelitian yang dilakukan akan disajikan dalam tabel 3.1.

Tabel 3.1. Desain Penelitian

Jenis Isolat	Konsentrasi	Kode
YIS-3	0 g/L (P1)	3K
	0,1 g/L (P2)	3P
YIS-4	0 g/L (P1)	4K
	0,1 g/L (P2)	4P
YIS-7	0 g/L (P1)	7K
	0,1 g/L (P2)	7P
Kontrol Positif	-	K+
Kontrol Negatif	-	K-

3.2 Variabel Penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis isolat yang digunakan yakni isolat YIS-3, YIS-4 dan YIS-7. Variabel terikat pada penelitian ini adalah biomassa dan jumlah sel khamir serta kualitas roti yang meliputi volume, warna, aroma, tekstur dan rasa roti.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei hingga bulan Juni 2021. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Perlakuan penambahan unsur zinc dan pengukuran biomassa serta jumlah sel khamir dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, sedangkan pengujian kualitas roti dilakukan di Laboratorium Pangan dan Biokimia.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan selama penelitian adalah cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas ukur, bunsen, *hotplate*, autoklaf, *laminar air flow* (LAF), jarum ose, *magnetic stirrer*, tabung *Eppendorf* ukuran 50 ml, *shaker incubator*, pipet tetes, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, bunsen, pH meter, *microtube*, *vortex*, *incubator*, *sentrifuge*, *Haemocytometer*, timbangan analitik, *cover glass*, *object glass*, *Beaker glass*, oven, alat tulis dan kamera.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan selama penelitian adalah isolat khamir (YIS-3, YIS-4, YIS-7), alkohol, aluminium foil, plastik, tissue, plastik wrap, kertas, label, aquades steril, media *Yeast Malt Broth* (YMB), Media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA), media *Yeast Peptone Glucose* (YPG), Sodium DL-Lactose, ZnSO₄,

media pengembang adonan roti (sukrosa, garam dan tepung terigu), ragi (Fermipan).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dicuci dan dikeringkan, kemudian dibungkus peralatan dan bahan yang akan disterilkan dengan kertas dan plastik tahan panas. Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi (*per square inch*) selama 15 menit.

3.5.1 Persiapan Media

3.5.1.1 Media Yeast Malt Broth (YMB)

Media YMB digunakan untuk peremajaan serta perbanyak koloni dari golongan *yeast* pada media cair. Media YMB dibuat dengan mencampurkan bahan berupa 3 gram/L ekstrak *yeast*, 3 gram/L ekstrak *malt*, 5 gram/L pepton dan 10 gram/L dekstrosa ke dalam 1000 ml aquades (Purba, 2017). Homogenisasi media dilakukan dengan bantuan alat *magnetic stirrer* di atas *Hot Plate*. Antibiotik Sodium DL-Lactose sebanyak 120 µl ditambahkan pada media saat suhu mencapai 50 °C. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

3.5.1.2 Media Yeast Malt Extract Agar (YMEA)

Media YMEA digunakan sebagai media peremajaan dan pemeliharaan kultur isolat *yeast* pada media padat. Media YMEA dibuat dengan mencampurkan bahan seperti dalam pembuatan media YMB namun ditambah dengan 20 gram/L

agar ke dalam 1000 ml aquades (Purba, 2017). Homogenisasi media dilakukan dengan bantuan alat *magnetic stirrer* di atas *Hot Plate*. Antibiotik Sodium DL-Lactose sebanyak 120 µl ditambahkan pada media saat suhu mencapai 50 °C. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

3.5.1.3 Media Yeast Peptone Glucose (YPG)

Media YPG dibuat dengan mencampurkan bahan berupa 3 gram/L ekstrak *yeast*, 5 gram/L pepton dan 20 gram/L glukosa ke dalam 1000 ml aquades (Murad et al., 2019). Homogenisasi media dilakukan dengan bantuan alat *magnetic stirrer* di atas *Hot Plate*. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

3.5.2 Peremajaan Isolat Khamir

Peremajaan dilakukan dengan metode aseptis di dalam *Laminar Air Flow*. Isolat khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 masing-masing diinokulasikan pada media YMEA dengan bantuan jarum ose. Kultur diinkubasi pada suhu ruang 33 °C selama 48 jam (Zohri et al., 2017). Peremajaan isolat khamir diperlukan untuk mengaktifasi pertumbuhan dan perkembangan khamir (Maya & Alami, 2019). Kultur yang telah ditumbuhkan sebelumnya diambil serta diinokulasi pada media YMB dan diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 140 rpm dan suhu 33 °C selama 24 jam untuk memperoleh kultur yang lebih banyak (Zohri et al., 2017).

3.5.3 Penambahan Unsur *Zinc*

Unsur *Zinc* yang digunakan berupa senyawa *Zinc sulphate* (ZnSO_4) dengan konsentrasi 0,1 g/L. *Zinc* dengan berat 0.03 g ditambahkan pada 300 ml media YPG, selanjutnya disebut media perlakuan (Zhao *et al.*, 2009). Sterilisasi media dilakukan dengan bantuan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kultur khamir pada media YMB dimasukkan ke dalam media perlakuan sebanyak 10% dengan metode aseptik di dalam *Laminar Air Flow*. Hasil perlakuan diinkubasi pada *Rotary Shaker Incubator* dengan kecepatan 140 rpm dan suhu 33 °C selama 48 jam (Zohri *et al.*, 2017).

3.5.4 Pengukuran Biomassa Khamir

Pengukuran biomassa dilakukan pada fase log (eksponensial), tepatnya pada 48 jam setelah inkubasi. Sampel yang digunakan terdiri dari 300 ml media YPG, 30 ml khamir (10% dari 300 ml media YPG) dan zinc 0,03 gram/300 ml media. Pemisahan media dan biomassa khamir dilakukan dengan bantuan alat *Centrifuge* pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang dan pelet hasil sentrifugasi ditimbang untuk mengetahui hasil produksi biomassa khamir yang diberi tambahan nutrisi unsur *Zinc* (Karki *et al.*, 2017). Penimbangan hasil biomassa yang diperoleh dilakukan dengan rumus berikut:

$$B = E2 - E1$$

Keterangan:

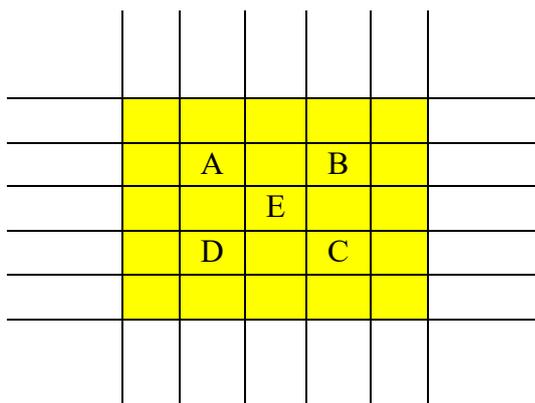
B = Biomassa (gram/ml)

E1 = Tabung Eppendorf kosong

E2 = Tabung Eppendorf berisi biomassa

3.5.5 Penentuan Jumlah Sel

Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan metode *counting chamber* berdasarkan pernyataan Mahardika (2018) dengan dilakukan sedikit modifikasi. Dilakukan sterilisasi pada alat Haemocytometer dan cover glass dengan alkohol 70%. Cover glass diletakkan di atas *Haemocytometer*. Diambil 100 μL inokulum khamir dari waktu inkubasi 48 jam dan dimasukkan ke dalam *microtube* ukuran 1,5 ml. Ditambahkan pewarna *methylene blue* sebanyak 100 μL dan ditambahkan juga akuades steril sebagai pengencer sebanyak 1 ml. Suspensi yang didapatkan dihomogenkan dengan vortex. Diambil sebanyak 20 μL untuk dimasukkan ke dalam sumuran Haemacytometer. Sel dihitung dengan bantuan mikroskop perbesaran 400x. Pengamatan yang dilakukan meliputi 5 kotak sedang pada Haemacytometer dengan pola seperti pada gambar 3.1. Setiap sel induk khamir dihitung sebagai satu sel, sedangkan sel khamir yang mengalami pertunasan (*budding*) dihitung sebagai dua sel terpisah apabila ukuran sel anak minimal setengah dari ukuran sel induk (Marbà-Ardébol *et al.*, 2018).



Gambar 3.1. Pola perhitungan metode *counting chamber*

Setelah perhitungan Haemocytometer, hasil yang diperoleh dimasukkan ke dalam rumus berikut (Mahardika, 2018):

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

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

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

Keterangan:

10^4 = konversi 0,1 μL dalam 1 ml

0,1 μL = volume pada kotak sedang Haemocytometer

3.5.6 Pembuatan Adonan Roti

Biomassa khamir yang telah diperoleh sebelumnya digunakan sebagai agen pengembang adonan pada proses pembuatan roti (Watanabe *et al.*, 2016). Pembuatan adonan roti didasarkan kepada resep yang ditulis oleh Watanabe *et al.*, (2016). Disiapkan bahan yang akan digunakan berupa 200 gram tepung terigu, 3 gram garam, 15 gram gula, 16 gram mentega, 1,2% (2,4 gram) biomassa khamir, 2,4 gram fermipan dan 70 ml air. Maryam *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa diperlukan pengujian terhadap kontrol positif dan kontrol negatif untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap hasil. Kontrol positif yang digunakan adalah ragi Fermipan, sedangkan kontrol negatif digunakan adonan tanpa tambahan ragi. Adonan diuleni dan disamakan beratnya sebesar 300 gram. Diletakkan ke dalam beaker glass sebagai cetakan dan diinkubasi pada suhu ± 25 - 27 °C. Diamati kenaikan volume adonan setiap 30 menit. Pemanggangan adonan roti dilakukan pada suhu 150 °C selama 30 menit (Karki *et al.*, 2017).

3.5.7 Pengujian Kualitas Roti

3.5.7.1 Volume

Volume adonan roti diukur berdasarkan metode yang dilakukan oleh Pusuma (2018). Pada tahap pembuatan roti terdapat kenaikan volume yang disebut daya kembang adonan. Pengukuran volume daya kembang tersebut dilakukan dengan menghitung selisih volume akhir adonan roti dengan volume awal adonan roti. Adonan diletakkan pada cetakan berbentuk tabung dengan tepian transparan dan dihitung penambahan diameter dan tinggi adonan secara manual dengan bantuan penggaris. Pengukuran dilakukan dengan interval 30 menit selama 600 menit atau 10 jam. Setelah diketahui volume masing-masing adonan, dilakukan perhitungan persentase pengembangan dengan rumus berikut (Saepudin, 2017):

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

3.5.7.2 Aroma, Rasa, Warna dan Tekstur

Pengujian karakter aroma, rasa, warna serta tekstur dilakukan dengan uji organoleptik yang melibatkan 30 panelis. Penilaian yang diberikan terhadap kualitas roti yang diuji akan dinyatakan dalam bentuk skor. Skala yang digunakan adalah skoring, dengan rincian nilai 1= sangat tidak suka; 2= tidak suka; 3= netral; 4= suka dan 5= sangat suka (Choiriyah & Dewi, 2020).

3.6 Analisis Data

Data pertumbuhan khamir yang meliputi biomassa dan jumlah sel serta data volume adonan roti dianalisis menggunakan program *Microsoft Excel* dan

disajikan dalam bentuk tabel dan diagram batang dengan analisis secara deskriptif. Data organoleptik dianalisis menggunakan program *SPSS* untuk dilakukan uji Kruskal Wallis. Jika terdapat perbedaan nyata, dilakukan uji lanjut Mann-Whitney dengan taraf signifikansi 5% (Qurnaini *et al.*, 2021).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Senyawa Zinc terhadap Pertumbuhan Khamir

Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)

Isolat khamir yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat YIS-3, YIS-4 dan YIS-7. Isolat YIS-3 dan YIS-4 diduga termasuk dalam genus *Saccharomyces*, sedangkan isolat YIS-7 diduga termasuk dalam genus *Pichia*. Indikator pertumbuhan yang diamati pada penelitian ini adalah biomassa dan jumlah sel khamir. Allah berfirman dalam Al-Quran surat Al-Zalzalah ayat 8 yang berbunyi:

وَمَنْ يَعْمَلْ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ شَرًّا يَرَهُ ۝

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

Menurut M. Quraish Shihab dalam kitab Tafsir Al-Mishbah (2002), pemahaman kata ذرّة (*dzarrah*) pada ayat tersebut digunakan untuk menggambarkan sesuatu yang kecil. Beberapa sumber mengartikan sebagai semut atau bahkan kepala semut. Selain itu juga disebut sebagai debu yang beterbangan pada celah jendela yang dilalui cahaya matahari. Khamir termasuk salah satu organisme dengan ukuran sangat kecil sehingga untuk mengamati keberadaan khamir diperlukan alat bantu mikroskop. Disebutkan oleh Hadi dan Alamudi (2019) bahwa khamir memiliki ukuran panjang sel hanya berkisar 5-30 μm dan lebar 1-5 μm . Allah juga berfirman dalam Al-Quran surat Al-Baqarah ayat 26 yang berbunyi:

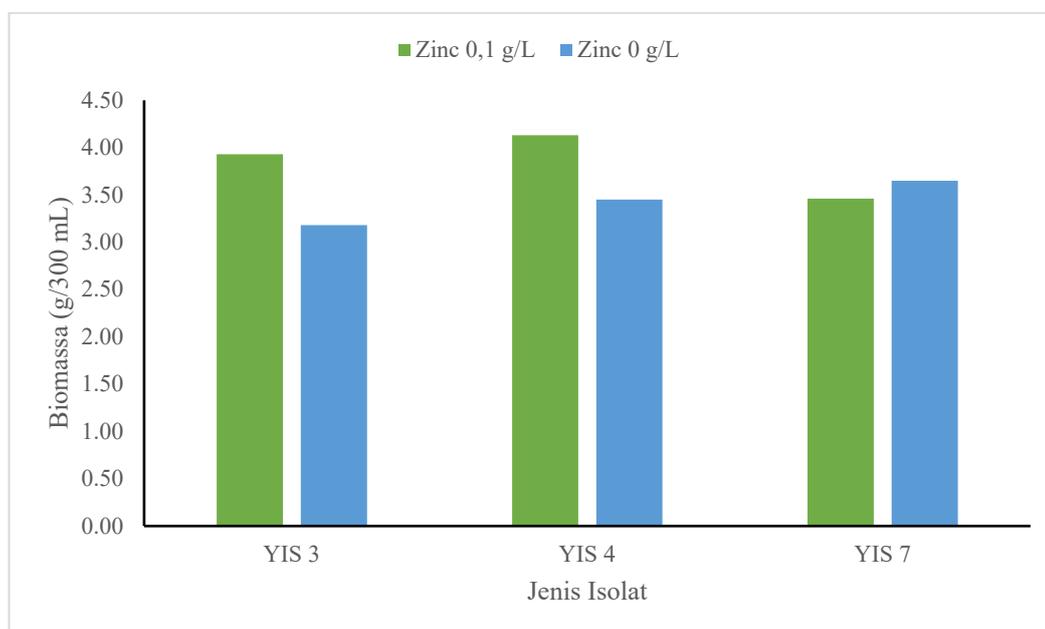
﴿ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۗ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۗ وَمَا يُضِلُّ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

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, ‘Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?’ Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik,*” (QS. Al-Baqarah [2]: 26).

Berdasarkan pernyataan Abdullah bin Muhammad Al Syaikh dalam kitab tafsir Ibnu Katsir (2011), terdapat dua pendapat berbeda mengenai makna penggalan ayat *فَمَا فَوْقَهَا* pada ayat tersebut. Pendapat pertama menyatakan makna yang lebih kecil darinya (nyamuk), sedangkan pendapat kedua menyatakan makna sebaliknya yakni lebih besar darinya (nyamuk). Kedua pendapat tersebut sama-sama menunjukkan bahwa Allah berkuasa untuk menciptakan makhluk-Nya dalam bentuk serta ukuran apapun. Buya Hamka dalam kitab Tafsir Al-Azhar (2015) juga menambahkan bahwa perumpamaan terhadap nyamuk dan sesuatu yang lebih kecil tersebut menunjukkan bahwa Allah tidak pernah meremehkan sesuatu apapun karena perhitungan Allah sangat teliti. Hanya orang-orang yang beriman dan memiliki ilmu yang akan meyakini bahwa perumpamaan tersebut merupakan pertanda kebesaran Allah serta mengandung manfaat bagi kehidupan makhluk-Nya termasuk penciptaan khamir sebagai salah satu jenis mikroorganisme. Dikatakan oleh Bhatia (2016), berbagai jenis khamir berperan penting dalam industri pangan berkat kemampuannya melakukan proses fermentasi.

4.1.1 Biomassa Khamir

Indikator pertama yang diamati untuk mengetahui pertumbuhan khamir adalah biomassa yang dihasilkan oleh khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7. Pada penelitian ini, zinc ditambahkan pada media untuk menunjang pertumbuhan khamir. Hasil biomassa yang diperoleh setelah perlakuan pada khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 ditampilkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Biomassa yang diperoleh dari masing-masing perlakuan

Pengamatan pertumbuhan khamir pada penelitian ini dilakukan pada fase eksponensial atau logaritmik yakni pada jam ke-48 setelah inkubasi. Menurut Hidayat (2018), pada fase eksponensial, khamir telah mampu beradaptasi dengan lingkungan sehingga mampu melakukan pembelahan sel dengan baik. Selain itu, pada fase tersebut khamir juga akan melakukan proses metabolisme, salah satunya proses fermentasi. Menurut Sriwulan dan Hendrasarie (2021), khamir memasuki fase eksponensial pada jam ke-25 hingga jam ke-50 setelah inkubasi. Berdasarkan gambar 4.1, isolat YIS-3 dan YIS-4 yang diberi perlakuan zinc 0,1 g/L

menghasilkan biomassa yang lebih tinggi dibandingkan isolat YIS-3 dan YIS-4 tanpa perlakuan, sedangkan isolat YIS-7 dengan perlakuan zinc 0,1 g/L menghasilkan biomassa yang lebih rendah dibandingkan isolat YIS-7 tanpa perlakuan.

Penambahan zinc pada media pertumbuhan khamir terbukti memberikan pengaruh positif kecuali pada isolat YIS-7. Sesuai dengan penelitian Azad *et al.*, (2014), dinyatakan bahwa unsur zinc yang ditambahkan pada media kultur akan terlibat pada pengaturan struktur sel dan aktivitas metabolisme khamir serta proses lain seperti proses flokulasi dan pembelahan sel. Hasil biomassa yang diperoleh pada isolat YIS-4 dengan perlakuan zinc 0,1 g/L menghasilkan produk biomassa tertinggi dengan nilai 4,13 g/100 ml, sedangkan isolat YIS-3 dan YIS-7 dengan perlakuan yang sama menghasilkan masing-masing 3,93 g/100 ml dan 3,46 g/100 ml. Menurut Azad *et al.*, (2014) zinc termasuk elemen penting yang dibutuhkan oleh khamir jenis *Saccharomyces* dalam melangsungkan pertumbuhan dan metabolisme. Unsur zinc terlibat dalam struktur dan fungsi protein, asam nukleat dan ekspresi gen serta pengembangan sistem kekebalan pada sel khamir.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, isolat YIS-7 termasuk khamir dari genus *Pichia*. Khamir dari genus tersebut memiliki kemampuan untuk menyerap logam, salah satunya zinc, dengan mekanisme biosorpsi. Setelah melalui mekanisme tersebut, logam akan terakumulasi di vakuola, tetapi semakin lama waktu penyerapan logam (akumulasi) yang dilakukan oleh khamir maka dapat berdampak buruk bagi selnya. Sesuai dengan penelitian Mesquita *et al.*, (2015), semakin lama waktu inkubasi sel khamir pada media yang mengandung logam, maka semakin banyak kandungan logam yang terakumulasi di dalam sel.

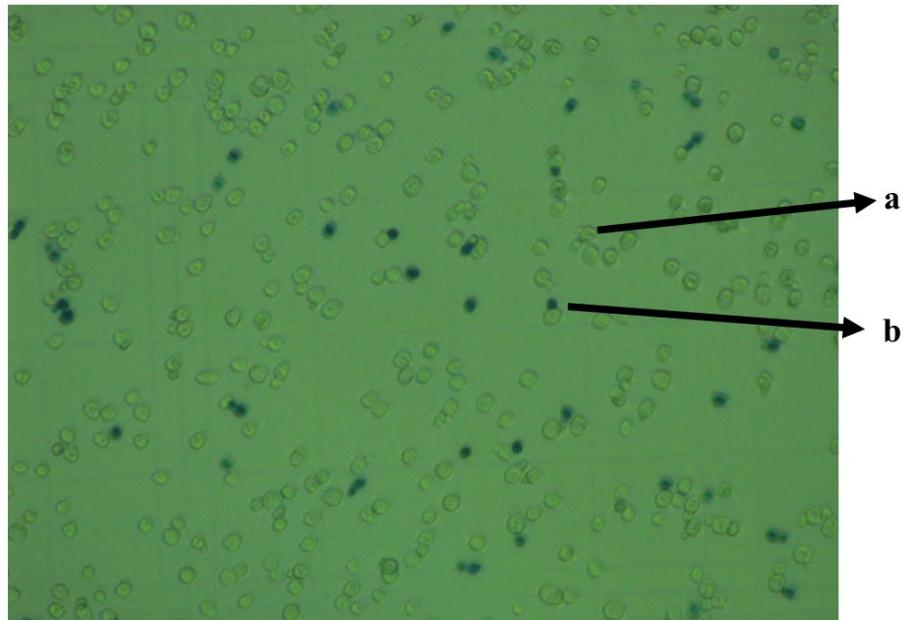
Kemudian dikatakan oleh Rosihan & Husaini (2017) bahwa dalam kadar yang tidak berlebihan, logam juga dapat menyebabkan kematian mikroorganisme, namun melalui proses akumulasi terlebih dahulu pada sel yang terpapar. Hal tersebut yang menyebabkan isolat khamir YIS-7 dengan penambahan zinc menghasilkan biomassa yang lebih rendah daripada tanpa penambahan zinc.

4.1.2 Jumlah Sel Hidup Khamir

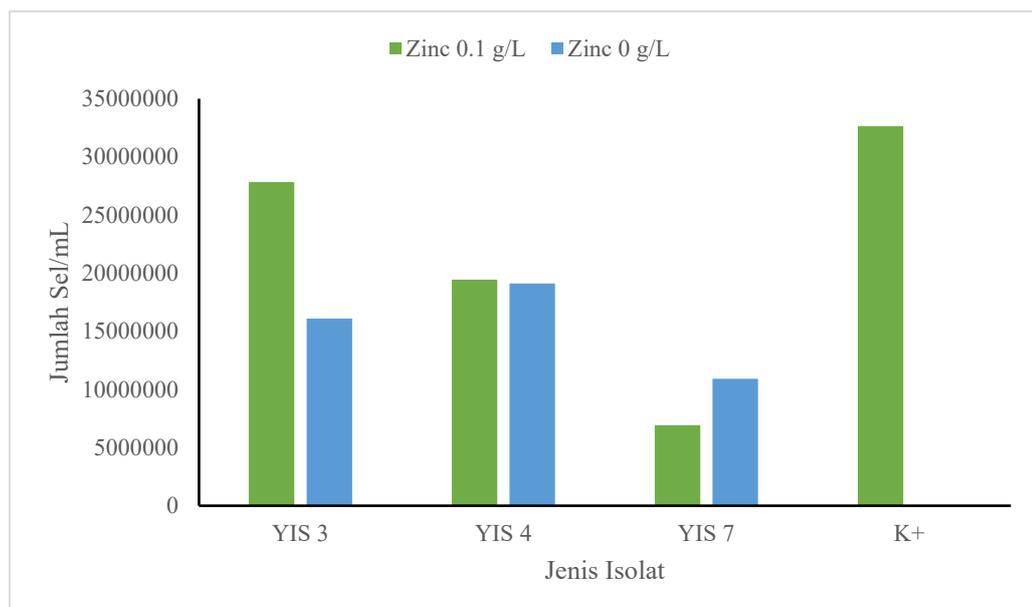
Indikator kedua yang diamati untuk mengetahui pertumbuhan khamir adalah jumlah sel pada isolat YIS-3, YIS-4 dan YIS-7. Perhitungan dilakukan dengan metode *counting chamber* dengan bantuan alat *Haemocytometer*. Kelebihan yang dimiliki oleh metode ini adalah mampu membedakan antara sel hidup dan sel mati melalui mekanisme pewarnaan *methylene blue* pada sel khamir. Menurut Wachid & Mutia (2019), sel khamir yang masih hidup akan mereduksi *methylene blue* sehingga memberi warna transparan, sedangkan sel khamir yang telah mati akan berwarna biru karena *methylene blue* teroksidasi ke dalam sel. Perbedaan tampilan sel hidup dan sel mati pada khamir akan ditunjukkan pada gambar 4.2.

Data hasil perhitungan jumlah sel akan ditampilkan pada gambar 4.3. Berdasarkan data tersebut, jumlah sel pada kontrol positif yang berupa ragi komersial merk *Fermipan* memiliki hasil tertinggi dibandingkan dengan jumlah sel pada perlakuan zinc 0,1 g/L dan zinc 0 g/L. Kondisi tersebut dapat terjadi karena sampel yang digunakan pada kelompok perlakuan berupa biomassa yang termasuk berat basah, sedangkan sampel yang digunakan pada kontrol positif berupa berat kering. Oleh karena itu, pada takaran sampel yang sama dapat

mengandung jumlah sel yang berbeda. Matovic (2011) menyatakan bahwa ragi komersial yang dipasarkan secara luas berbentuk biomassa dalam wujud kering. Biomassa jenis tersebut telah melalui proses pengeringan untuk menghilangkan molekul air yang terkandung di dalamnya.



Gambar 4.2. Perbedaan sel khamir hidup dan sel khamir mati. (a) Sel khamir hidup; (b) sel khamir mati (Dok. Pribadi)



Gambar 4.3. Jumlah sel pada masing-masing perlakuan

Berdasarkan hasil penelitian yang ditampilkan pada gambar 4.3, jumlah sel pada isolat YIS-3 dan YIS-4 dengan perlakuan zinc 0,1 g/L menunjukkan hasil yang lebih banyak dibandingkan tanpa perlakuan zinc dengan nilai $2,7 \times 10^7$ dan $1,9 \times 10^7$, sedangkan isolat YIS-7 dengan perlakuan zinc 0,1 g/L memiliki jumlah sel yang lebih rendah dibandingkan tanpa perlakuan zinc dengan nilai $6,9 \times 10^6$. Berdasarkan data tersebut, pada indikator jumlah sel, hasil tertinggi diperoleh pada isolat YIS-3, sedangkan pada indikator biomassa, hasil tertinggi diperoleh pada isolat YIS-4. Menurut Sari (2020), hal tersebut dapat disebabkan oleh khamir isolat YIS-4 memiliki ukuran sel berkisar $6,17-7,87 \times 6,46-8,05$ sedangkan khamir isolat YIS-3 memiliki ukuran sel yang relatif lebih kecil berkisar $5,18-7,92 \times 4,92-7,61$. Selain itu, menurut Mahreni & Sri (2011), pertumbuhan sel dapat berupa penambahan jumlah atau massa sel sehingga massa sel dapat bertambah dengan memperbesar organel penampung hasil metabolisme (Vakuola). Sel khamir menyimpan hasil metabolisme berupa protein serta nutrisi lainnya di dalam vakuola. Ukuran vakuola menempati sekitar 20-30% dari total volume sel khamir (Zubko, 2012).

Jumlah sel pada isolat YIS-3 dan YIS-4 dengan penambahan zinc lebih tinggi dibandingkan jumlah sel pada isolat tanpa penambahan zinc. Hal tersebut dapat disebabkan karena penambahan zinc dapat meningkatkan viabilitas sel. Sesuai dengan penelitian Wan *et al.*, (2014), penambahan zinc pada khamir *Saccharomyces* dapat meningkatkan viabilitas sel dengan berperan sebagai antioksidan bagi sel khamir. Zinc membantu meregulasi keseimbangan metabolisme karbon pusat dan keseimbangan redoks. Selain itu, senyawa zinc akan meningkatkan biosintesis senyawa alanin dan senyawa glutathione. Senyawa

alanin dapat diubah menjadi piruvat oleh enzim alanin transaminase sehingga dapat menyediakan ATP dalam siklus TCA maupun glikolisis, sedangkan senyawa glutathione akan membantu mempercepat aliran karbon ke dalam siklus glikolisis dan TCA untuk mensintesis ATP. Selain itu, penambahan zinc dapat mengurangi akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) di dalam sel yang dapat menyebabkan stress oksidatif.

Azad *et al.*, (2014) menambahkan bahwa penambahan senyawa ZnSO₄ sebagai nutrisi media kultur khamir dapat memberikan efek stimulasi peningkatan sintesis riboflavin dan sintesis proliferasi sel sehingga pertumbuhan sel dapat berlangsung lebih intensif. Zhao *et al.*, (2012) juga menambahkan bahwa 3% fungsi protein khamir *Saccharomyces* membutuhkan unsur zinc untuk menjaga stabilitas struktural. Sebagian protein yang mengandung zinc adalah faktor transkripsi yang disebut sebagai *zinc-finger protein*. Protein tersebut memainkan peran penting dalam proses transkripsi dan translasi serta mengatur jalur metabolisme seluler seperti metabolisme gula, glukoneogenesis serta respirasi, metabolisme asam amino dan sintesis vitamin, pemodelan kromatin dan respon terhadap kondisi stress.

4.2 Kualitas Roti Hasil Fermentasi oleh Khamir Endofit Buah Salak

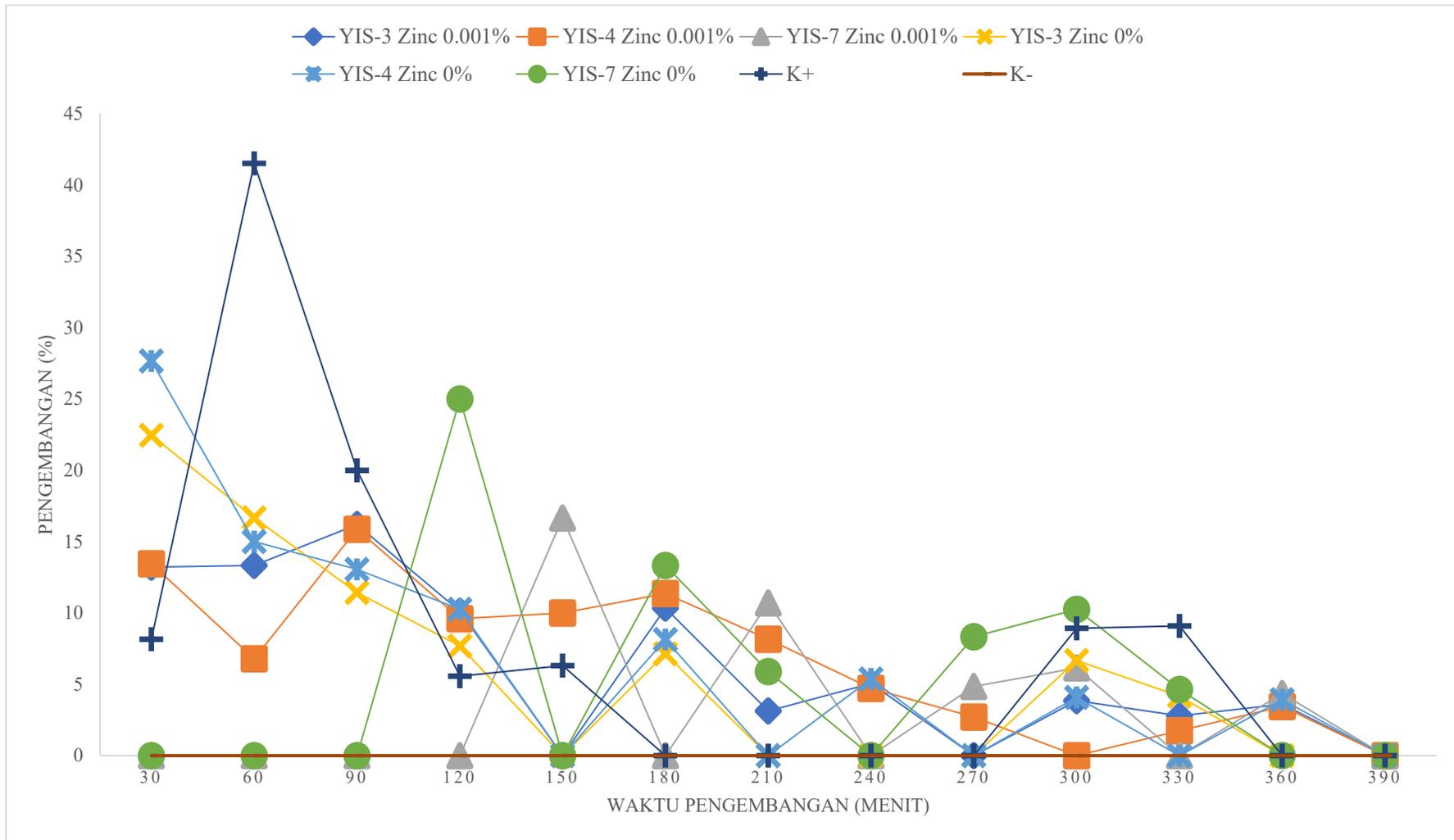
Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)

4.2.1 Volume

Menurut Lestari & Maharani (2017), pengukuran volume adonan roti dilakukan untuk mengetahui pengembangan adonan selama terjadi proses fermentasi pada masa inkubasi adonan dan pengembangan adonan setelah

dipanggang. Hasil pengembangan volume adonan roti sebelum dipanggang pada semua perlakuan ditampilkan pada gambar 4.4. Berdasarkan hasil pada gambar 4.4, semua isolat yang diberi perlakuan zinc menunjukkan tingkat pengembangan yang berbeda pada masing-masing waktu. Kontrol positif mendapatkan tingkat pengembangan tertinggi pada menit ke-60 inkubasi dengan persentase 41,51%. Kondisi tersebut disebabkan karena jumlah sel yang terkandung pada kontrol positif lebih banyak dibandingkan semua perlakuan. Jumlah sel yang terdapat pada kontrol positif sebanyak $32,64 \times 10^6$ sel/ml, sedangkan jumlah sel pada seluruh perlakuan berkisar antara $6,92 \times 10^6$ sel/ml hingga $27,84 \times 10^6$ sel/ml. Berbeda jika semua perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif, maka semua perlakuan menunjukkan tingkat pengembangan yang lebih baik. Hal tersebut terjadi karena pada kontrol negatif tidak terdapat khamir sebagai agen yang melakukan proses fermentasi sehingga tidak terjadi pengembangan dari menit awal hingga akhir masa inkubasi. Akbar *et al.*, (2019) menyatakan bahwa jumlah sel yang terdapat pada media pertumbuhan sangat berkaitan dengan proses fermentasi yang dilakukan khamir.

Tingkat pengembangan adonan roti tertinggi pada isolat YIS-3 yang diberi perlakuan zinc 0,1 g/L terjadi pada menit ke-90 dengan persentase 16,19%. Selanjutnya terjadi penurunan hingga menit ke-150 dan mengalami peningkatan pada menit ke-180, selebihnya tetap mengalami pengembangan dengan persentase rendah kemudian berhenti pada menit ke-390. Tingkat pengembangan tertinggi pada YIS-3 tanpa zinc terjadi pada menit ke-30 dengan persentase 22,45%. Pada pengamatan berikutnya, terus mengalami penurunan tingkat pengembangan, bahkan sejak menit ke-210 sudah tidak mengalami pengembangan.



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

Tingkat pengembangan adonan roti tertinggi yang terjadi pada isolat YIS-4 dengan perlakuan zinc 0,1 g/L terjadi pada menit ke-90 dengan persentase 15,87%. Pada beberapa menit pengamatan selanjutnya mengalami pengembangan yang cukup stabil sebelum mengalami penurunan pada menit ke-300 dan akhirnya berhenti pada menit ke-390. Tingkat pengembangan tertinggi pada YIS-4 tanpa penambahan zinc terjadi pada menit ke-30 dengan persentase 27,66%. Pada pengamatan selanjutnya, adonan mengalami penurunan hingga menit ke-150 dan meningkat kembali pada menit ke-180 kemudian terus mengalami penurunan tingkat pengembangan hingga berhenti pada menit ke-390. Kondisi berbeda terjadi pada isolat khamir YIS-3 dan YIS-4 dengan penambahan zinc 0,1 g/L. Isolat tersebut menghasilkan jumlah sel yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan zinc, namun justru memerlukan waktu yang lebih lama untuk mencapai tingkat pengembangan tertinggi dibandingkan dengan isolat tanpa perlakuan zinc. Kendati demikian, tingkat pengembangan yang terjadi pada isolat YIS-3 dan YIS-4 dengan penambahan zinc terlihat lebih stabil. Terbukti sejak awal pengamatan, tidak terjadi penurunan persentase pengembangan yang signifikan hingga menit ke-240, sedangkan pada isolat tanpa penambahan zinc, sejak menit ke-150, setiap interval 30 menit tidak mengalami pengembangan.

Kondisi tersebut dapat disebabkan oleh penambahan zinc yang berperan sebagai antioksidan bagi sel ragi untuk menghadapi kondisi stress yang biasa disebabkan oleh kandungan alkohol yang tinggi. Zhao *et al.* (2012) menyebutkan bahwa zinc akan bereaksi dengan protein superoksida dismutase (SOD1) ketika terjadi kondisi stress oksidatif. Protein SOD1 juga terlibat dalam pemeliharaan kondisi redoks pada tingkat sel dengan jalur pentosa fosfat. Protein tersebut akan

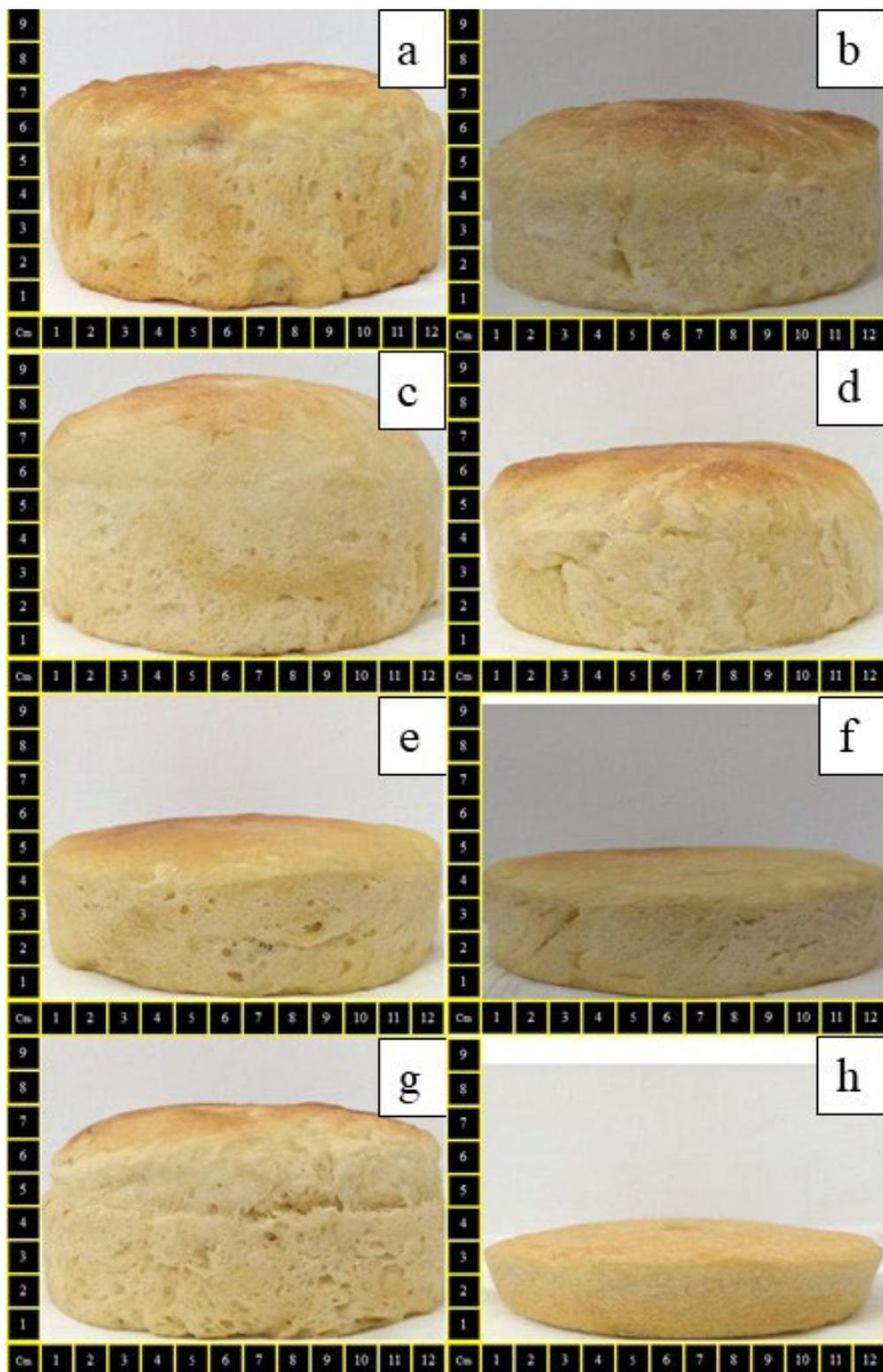
mengubah *reactive oxygen species* (ROS) menjadi H_2O_2 dan O_2 . Karena berperan sebagai pengikat utama zinc, protein SOD1 juga berkontribusi untuk menyeimbangkan tingkat kandungan zinc pada sitosol. Selain itu, Zhao *et al.*, (2012) juga menyatakan, secara fisik zinc akan membentuk jembatan antara molekul lipid dalam membran sel. Kemampuan menyerap air oleh gugus fosfat yang terikat dengan zinc juga berkurang sehingga membuat membran sel lebih bersifat hidrofobik dan kaku. Di sisi lain, zinc juga mengatur biosintesis fosfolipid sebagai respon terhadap toksisitas kadar etanol dan asam asetat. Wan *et al.* (2014) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa, penambahan zinc juga dapat membantu biosintesis trehalosa. Kandungan trehalosa yang lebih tinggi pada awal pertumbuhan khamir dapat meningkatkan viabilitas sel dan menambahkan toleransi pada kondisi etanol dan asam asetat yang tinggi.

Pengamatan yang dilakukan untuk mengukur pengembangan volume adonan roti dilakukan selama 10 jam atau 600 menit. Saat mencapai menit ke-360 atau 6 jam, semua sampel adonan roti telah mengalami penurunan persentase pengembangan dan berhenti pada menit ke-390. Berhentinya pengembangan adonan roti dapat disebabkan karena khamir yang bertindak sebagai agen pengembang mengalami permasalahan dalam kelangsungan hidupnya. Azizah *et al.*, (2012) menyatakan bahwa masa inkubasi adonan roti yang terlalu lama akan meningkatkan akumulasi kandungan alkohol pada adonan. Kondisi tinggi kandungan alkohol bersifat negatif bagi kehidupan khamir. Pongcharoen *et al.*, (2018) menambahkan bahwa konsentrasi alkohol yang tinggi dapat berpengaruh negatif terhadap metabolisme serta pertumbuhan khamir. Kondisi yang dapat terjadi seperti kerusakan sel akibat perubahan permeabilitas membran plasma dan

sistem transportasi sel yang menyebabkan kematian sel khamir tersebut. Selain kondisi tersebut, penyebab berhentinya pengembangan dapat berasal dari nutrisi yang diperlukan khamir melakukan fermentasi telah habis karena inkubasi yang terlalu lama (Maharani *et al.*, 2021).

Proses selanjutnya setelah dilakukan *proofing* supaya adonan roti mengembang adalah tahap pemanggangan adonan. Tahap pemanggangan juga dapat memberikan pengaruh pengembangan pada adonan roti. Husin *et al.*, (2019) mengatakan bahwa pada saat proses pemanggangan terjadi, produksi CO₂ melalui proses fermentasi yang dilakukan khamir berhenti pada suhu sekitar 55 °C. Suhu pemanggangan yang semakin tinggi akan meningkatkan konsentrasi uap air jenuh sehingga menekan adonan untuk meregang dan mengembang, sedangkan di sisi lain, konsentrasi CO₂ pada adonan akan menurun karena menguap. Sesaat sebelum adonan matang, terjadi proses koagulasi protein dan gelatinisasi pati sehingga membuat adonan menjadi kaku dan berongga. Hasil pemanggangan adonan roti yang dilakukan akan ditampilkan pada gambar 4.5.

Hasil pemanggangan yang terlihat pada gambar 4.5 dan lampiran, menunjukkan bahwa semua roti yang difermentasi dengan khamir dengan penambahan zinc 0,1 g/L menghasilkan volume roti yang lebih tinggi dibandingkan dengan roti yang difermentasi dengan khamir tanpa penambahan zinc maupun dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Hal tersebut dapat disebabkan karena zinc berperan sebagai kofaktor bagi enzim alkohol dehidrogenase. Enzim alkohol dehidrogenase merupakan salah satu enzim yang berperan penting dalam proses fermentasi.



Gambar 4.5. Volume roti setelah dipanggang pada semua perlakuan. (a) YIS-3 zinc 0,1 g/L; (b) YIS-3 tanpa zinc; (c) YIS-4 zinc 0,1 g/L; (d) YIS-4 tanpa zinc; (e) YIS-7 zinc 0,1 g/L; (f) YIS-7 tanpa zinc; (g) Kontrol positif; (h) Kontrol negatif (Dok. Pribadi)

Menurut Ash-Shoffa & Yuliani (2019) fermentasi alkohol yang terjadi pada adonan roti terdiri dari dua tahap. Pada tahap pertama terjadi proses glikolisis atau EMP (*Embden Meyerof Parnas*) yang menghasilkan piruvat sebagai salah satu produk akhirnya. Pada tahap kedua, asam piruvat yang telah terbentuk sebelumnya akan dipecah oleh piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehid dengan melibatkan tiamin pirofosfat. Selanjutnya asetaldehid direduksi menjadi etanol oleh alkohol dehidrogenase dengan melibatkan NADH₂.

Pengembangan yang terjadi pada adonan roti berlangsung akibat gas CO₂ yang terbentuk dari proses fermentasi oleh khamir ditahan oleh gluten. Arif dkk., (2019) menjelaskan bahwa gluten merupakan protein kompleks yang berasal dari tepung terigu. Protein gluten terdiri dari dua pecahan utama yakni glutenin dan gliadin. Glutenin berkontribusi terhadap sifat elastis pada adonan, sedangkan gliadin berkontribusi terhadap viskositas (ketebalan dan ketahanan adonan untuk mengembang) serta ekstensibilitas (kemampuan untuk membesar dari bentuk semula) pada adonan. Prasetyo (2019) menambahkan bahwa gluten memerlukan hidrasi serta pengadukan yang cukup supaya dapat membentuk ikatan silang antara glutenin dan gliadin. Ikatan protein tersebut dapat menahan gas CO₂ untuk tidak menguap keluar adonan dan memberikan sifat elastis pada adonan.

Faktor lingkungan juga memiliki peran terhadap proses fermentasi yang terjadi dalam adonan roti. Salah satu faktor yang perlu diperhatikan adalah temperatur inkubasi. Pada penelitian ini, temperatur selama masa inkubasi untuk fermentasi berkisar 25-27 °C. Sesuai dengan pernyataan Nimpuno (2019), khamir akan melakukan proses fermentasi dengan optimal pada suhu sekitar 24-27 °C. Suhu yang tidak sesuai pada masa inkubasi dapat menurunkan kemampuan

khamir dalam melakukan proses fermentasi. Selain temperatur, faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap proses fermentasi pada adonan roti adalah derajat keasaman (pH) adonan. Pada penelitian ini, pH pada awal terbentuknya adonan adalah 6,8, namun setelah inkubasi untuk berlangsungnya proses fermentasi, pH adonan menurun menjadi 5-6. Atmodjo (2018) mengatakan bahwa produk yang dihasilkan dari proses fermentasi dapat menurunkan pH lingkungan karena berasal dari siklus glikolisis seperti asam piruvat serta asetaldehida. Produk lain yang berupa asam organik juga terbentuk dari proses fermentasi seperti asam laktat dan asam asetat yang berperan dalam menambahkan cita rasa pada adonan roti (Hendrawan dkk., 2018).

4.2.2 Organoleptik Roti

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai $P < 0,05$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa parameter karakteristik roti antar perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8) memiliki perbedaan nyata sehingga diperlukan pengujian lanjutan. Uji Mann-Whitney dilakukan pada masing-masing parameter untuk mengetahui perbedaan secara rinci. Hasil pengujian secara statistik menggunakan metode Mann-Whitney ditampilkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Uji Lanjut Mann-Whitney

Parameter	Nilai Mean Uji Organoleptik							
	3P	4P	7P	3K	4K	7K	K+	K-
Warna	3.63 ±	3.80 ±	3.47 ±	3.67 ±	3.20 ±	3.40 ±	2.63 ±	1.77 ±
	0.765 ^a	0.887 ^a	0.730 ^{ab}	0.661 ^a	0.761 ^b	0.770 ^{ab}	0.809 ^c	0.858 ^d
Aroma	3.70 ±	3.77 ±	3.40 ±	3.10 ±	3.23 ±	3.10 ±	2.63 ±	2.10 ±
	0.988 ^a	0.858 ^a	0.855 ^{ab}	0.607 ^b	0.626 ^b	0.803 ^b	0.928 ^c	0.885 ^d
Tekstur	3.27 ±	3.50 ±	3.53 ±	3.53 ±	3.20 ±	3.13 ±	2.73 ±	1.83 ±
	0.868 ^{ab}	0.861 ^{ab}	1.008 ^{ac}	0.776 ^a	0.805 ^{ac}	0.629 ^{bc}	0.868 ^d	0.950 ^e
Rasa	3.70 ±	3.83 ±	3.80 ±	3.20 ±	3.23 ±	3.40 ±	2.60 ±	1.93 ±
	0.915 ^{ab}	0.913 ^a	0.805 ^a	0.847 ^c	0.817 ^{bc}	0.932 ^{ac}	0.968 ^d	0.980 ^e

Parameter pertama yang diamati dari karakteristik roti adalah parameter warna. Penilaian pada parameter ini dapat dilakukan langsung secara visual. Menurut Maligan dkk., (2018), warna termasuk karakter visual dari suatu produk pangan. Karakter warna akan langsung berpengaruh terhadap preferensi awal panelis karena dapat dinilai lebih dulu dibandingkan karakter lainnya. Selain berperan sebagai preferensi awal dalam penentuan kualitas roti, menurut Saepudin dkk., (2017), parameter warna juga berfungsi sebagai indikator pengolahan dan kematangan yang baik dari suatu produk pangan. Warna permukaan roti setelah dipanggang ditunjukkan pada lampiran 13.

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann-Whitney yang ditampilkan pada tabel 4.1, semua perlakuan (3P, 4P, 7P, 3K, 4K dan 7K) memiliki nilai mean yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa penambahan perlakuan berpengaruh terhadap respon panelis terhadap karakter warna. Nilai mean tertinggi diperoleh pada roti kode 4P dengan nilai 3,80 yakni roti yang difermentasi oleh khamir YIS-

4 dengan penambahan zinc 0,1 g/L. Hal tersebut disebabkan karena panelis lebih menyukai roti dengan warna khas kecoklatan yang timbul akibat terjadinya reaksi *Maillard* dan peristiwa karamelisasi gula pada saat proses pemanggangan roti. Nilai mean terendah diperoleh pada roti dengan kode K- yakni kontrol negatif. Hal tersebut dapat terjadi karena proses berlangsungnya reaksi *Maillard* dan karamelisasi gula pada kontrol negatif tidak terjadi secara maksimal karena tidak adanya bantuan dari khamir.

Perubahan warna pada roti menjadi kecoklatan setelah mengalami pemanggangan disebabkan oleh terjadinya reaksi *Maillard* dan proses karamelisasi gula. Penambahan khamir sebagai ragi pada adonan roti juga berpengaruh terhadap perubahan warna roti. Kemampuan khamir dalam mengkonversi pati dalam tepung menjadi gula akan mengakibatkan gula yang mengalami proses karamelisasi akan semakin banyak dan membuat warna roti semakin kecoklatan (Sitepu, 2019). Menurut Purlis (2010), reaksi *Maillard* terjadi disebabkan molekul gula pereduksi bereaksi dengan gugus amin bebas dari asam amino/protein saat mengalami pemanasan pada suhu tertentu. Pada tahap akhir reaksi *Maillard*, gugus karbonil dan amin yang mengalami kondensasi akan membentuk senyawa melanoidin yang memberikan warna kecoklatan (Starowicz & Zielinski, 2019). Sitepu (2019) menyatakan bahwa karamelisasi gula terjadi akibat pemanasan yang melewati titik lebur gula sehingga mengalami degradasi.

Setelah penilaian terhadap warna roti, karakter selanjutnya yang dapat dinilai adalah aroma. Penilaian karakter aroma dilakukan berdasarkan rangsangan yang dikenali oleh indera penciuman. Menurut Saepudin dkk., (2017), aroma dapat memberikan rangsangan terhadap saraf olfaktori yang berada di dalam

rongga hidung, kemudian diteruskan ke otak agar tubuh konsumen dapat mengenali serta memberikan penilaian terhadap suatu produk. Karakter aroma juga termasuk dalam karakter yang penting untuk menentukan kualitas produk makanan. Menurut Surono dkk., (2017), konsumen juga dapat menentukan kelayakan produk makanan berdasarkan aromanya. Aroma yang baik akan meningkatkan daya tarik konsumen terhadap produk yang disajikan.

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann-Whitney yang ditampilkan pada tabel 4.1, semua perlakuan (3P, 4P, 7P, 3K, 4K dan 7K) memiliki nilai rata-rata yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa penambahan perlakuan berpengaruh terhadap respon panelis terhadap karakter aroma. Nilai mean tertinggi diperoleh pada roti kode 4P dengan nilai 3,77, yakni roti yang difermentasi oleh khamir YIS-4 dengan penambahan zinc 0,1 g/L. Hal tersebut disebabkan karena pada saat proses fermentasi oleh khamir terjadi pada adonan roti akan menghasilkan beberapa senyawa yang berpengaruh terhadap aroma roti (Heitmann *et al.*, 2017). Nilai mean terendah diperoleh pada roti dengan kode K- yakni kontrol negatif. Kondisi tersebut disebabkan karena pada kontrol negatif tidak terdapat aktivitas khamir yang melakukan proses fermentasi.

Karakter aroma yang timbul pada roti juga disebabkan oleh senyawa turunan dari reaksi *Maillard*. Starowicz dan Zielinski (2019), menyatakan bahwa senyawa volatil (senyawa yang mudah menguap) yang dihasilkan dari reaksi *Maillard* akan memberikan aroma yang khas terhadap adonan roti. Berdasarkan kandungan molekulnya, senyawa tersebut dapat dibagi menjadi tiga kelas yakni senyawa dengan kandungan oksigen (2,3-pentadione, 3-methylbutanal dan

furaneol), senyawa dengan kandungan nitrogen (2-acetyl-1-pyrroline) dan senyawa dengan kandungan sulfur (methional). Selain dari reaksi *Maillard*, menurut Xu *et al.*, (2019), proses metabolisme yang dilakukan oleh khamir pada saat fermentasi juga menghasilkan senyawa seperti asam asetat, asam laktat, alkohol, ester, karbonil, keton dan aldehid. Khamir juga memproduksi enzim yang dapat berperan dalam pembentukan aroma pada roti yakni enzim protease yang akan meningkatkan konsentrasi asam amino dan peptida sebagai prekursor dalam memproduksi aroma pada reaksi *Maillard* (Heitmann *et al.*, 2017).

Karakter roti selanjutnya yang dijadikan sebagai parameter pada uji organoleptik adalah tekstur. Menurut Jamilah dan Khaerunnisa (2019), karakter tekstur pada roti merupakan kombinasi antara kelembutan, kekenyalan dan kerenyahan roti. Putri dkk., (2017) menambahkan bahwa tekstur roti dapat dinilai dari sensasi tekanan yang didapatkan saat ditekan dengan tangan serta saat dimakan. Pembentukan tekstur pada roti dimulai sejak adonan mengalami proses pengembangan. Menurut Sitepu (2019), dinyatakan bahwa adonan roti dengan daya kembang yang baik akan menghasilkan produk roti dengan tekstur yang lembut. Selain itu disebutkan pula oleh Nur'utami dkk., (2020) bahwa peningkatan volume adonan roti akan berpengaruh terhadap peningkatan kelembutan produk roti. Tekstur roti setelah dipanggang ditunjukkan pada lampiran 14.

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann-Whitney yang ditampilkan pada tabel 4.1, semua perlakuan (3P, 4P, 7P, 3K, 4K dan 7K) memiliki nilai rata-rata yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa penambahan perlakuan berpengaruh

terhadap respon panelis terhadap karakter tekstur. Nilai mean tertinggi diperoleh pada roti kode 7P dan 3K dengan nilai 3,53, yakni roti yang difermentasi oleh khamir YIS-7 dengan penambahan zinc 0,1 g/L dan juga khamir YIS-3 tanpa penambahan zinc 0,1 g/L. Nilai mean terendah terdapat pada roti dengan kode K- yakni kontrol negatif. Kondisi ini terjadi karena pada semua roti dengan penambahan khamir akan terjadi proses fermentasi yang membantu meningkatkan daya kembang pada roti.

Menurut Birch (2013), proses fermentasi yang terjadi pada adonan roti akan menghasilkan gas berupa karbon dioksida (CO₂) serta etanol. Karbon dioksida yang dilepas saat terjadinya dekarboksilasi piruvat menjadi asetaldehid akan terdispersi menjadi gelembung halus dan diikat oleh jaringan gluten sehingga menyebabkan adonan mengalami pengembangan. Jaringan gluten terbentuk dari kandungan protein pada tepung terigu yang tidak larut dalam air dan bersifat elastis. Sitepu (2019) menambahkan bahwa tekstur tersebut juga dipengaruhi oleh kandungan gula dan ragi pada adonan. Komponen gula akan membantu mempertahankan struktur jaringan gluten untuk mengikat karbon dioksida, sedangkan ragi merupakan agen yang menghasilkan karbon dioksida agar daya kembang adonan roti meningkat. Starowicz dan Zielinski (2019) juga mengatakan bahwa reaksi *Maillard* memiliki peran dalam pembentukan tekstur pada roti melalui pembentukan ikatan silang protein, pembentukan konjugat protein-polisakarida dan membentuk sifat emulsi. Pembentukan ikatan silang protein termasuk peran yang paling penting di antara ketiga peran reaksi *Maillard* karena berpengaruh terhadap pembentukan jaringan gluten.

Parameter terakhir yang diberi penilaian yakni karakter rasa pada roti. Menurut Nurlaila dkk., (2017), rasa merupakan karakter penting bagi konsumen untuk pemilihan suatu produk makanan. Rasa merupakan bentuk respon indra pengecap pada manusia terhadap rangsangan dari suatu produk makanan. Pembentukan rasa pada roti berasal dari bahan-bahan yang digunakan serta proses pembuatan roti. Disebutkan oleh Saepudin (2017) bahwa pada proses pembuatan roti terjadi proses fermentasi yang dilakukan oleh ragi (khamir) sehingga terbentuk beberapa senyawa seperti alkohol, asam dan berbagai macam ester yang berperan dalam pengaturan rasa roti.

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann-Whitney yang ditampilkan pada tabel 4.1, semua perlakuan (3P, 4P, 7P, 3K, 4K dan 7K) memiliki nilai rata-rata yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa penambahan perlakuan berpengaruh terhadap respon panelis terhadap karakter rasa. Nilai mean tertinggi diperoleh pada roti kode 4P dengan nilai 3,83, yakni roti yang difermentasi oleh khamir YIS-4 dengan penambahan zinc 0,1 g/L. Nilai mean terendah terdapat pada roti dengan kode P8 yakni kontrol negatif. Pembentukan rasa pada roti merupakan hasil lain yang diperoleh dari proses fermentasi, reaksi *Maillard* dan juga karamelisasi gula. Disebutkan oleh Kusnaedi (2021) bahwa penambahan ragi (khamir) pada adonan roti memicu berlangsungnya proses fermentasi, komponen-komponen yang dihasilkan dari proses fermentasi seperti asam asetat, aldehid dan ester akan berpengaruh terhadap rasa khas roti. Selain itu menurut Paravisini (2019), proses fermentasi dan reaksi enzim akan memecah lipid dan oligosakarida menjadi senyawa dengan berat molekul kecil yang berperan dalam prekursor rasa.

Oleh karena itu, berdasarkan data yang diperoleh, panelis lebih menyukai roti dengan penambahan khamir perlakuan daripada roti kontrol positif maupun negatif. Pada kontrol positif terjadi proses fermentasi dengan laju yang tinggi sehingga menyebabkan rasa yang terlalu kuat akibat senyawa yang terbentuk terlalu berlebih. Pada kontrol negatif tidak terjadi proses fermentasi sehingga tidak terbentuk senyawa yang berpengaruh pada rasa.

Selain itu, pada tahap pemanggangan, proses oksidasi lipid, karamelisasi gula dan reaksi *Maillard* juga merupakan pembentuk rasa pada roti. Menurut Mildner *et al.*, (2017) interaksi antara asam amino bebas dan gula pereduksi pada reaksi *Maillard* akan menghasilkan beberapa senyawa di antaranya yaitu alkohol, aldehida, ester, keton, asam, furan, hidrokarbon, lakton, pirazin, pirolin, dan senyawa sulfur. Penambahan gula pada saat pembuatan adonan roti juga memberikan kontribusi dalam pembentukan rasa pada roti. Selain sebagai substrat khamir, gula yang ditambahkan juga dapat memberikan rasa manis (Sitepu, 2019). Heitmann *et al.*, (2017) menambahkan bahwa enzim lipase yang disekresikan saat proses fermentasi akan memproduksi asam lemak rantai pendek untuk menginduksi perubahan komposisi lipid sehingga memberikan peran pada perubahan rasa.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Perlakuan penambahan unsur zinc berupa zinc sulfat dengan konsentrasi 0,1 g/L pada media pertumbuhan khamir, dapat meningkatkan pertumbuhan isolat khamir YIS-3 dan YIS-4, akan tetapi tidak meningkatkan pertumbuhan pada isolat khamir YIS-7. Jumlah biomassa yang diperoleh pada YIS-3 adalah 3,93 gram/300 ml, YIS-4 adalah 4,13 gram/300 ml dan YIS-7 adalah 3,46 gram/300 ml. Jumlah sel yang diperoleh pada YIS-3 adalah $27,84 \times 10^6$ sel/ml, YIS-4 adalah $19,44 \times 10^6$ sel/ml dan YIS-7 adalah $6,92 \times 10^6$ sel/ml.
2. Persentase pengembangan volume roti pada isolat YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 perlakuan zinc 0,1 g/L menunjukkan peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif. Masing-masing persentase pengembangan tertinggi pada YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 adalah 16,19%, 15,87% dan 16,66%. Selain itu, berdasarkan uji lanjut Mann-Whitney pada karakter warna, rasa, aroma dan tekstur roti menunjukkan bahwa panelis lebih menyukai roti hasil fermentasi dari YIS-4 dengan perlakuan zinc 0,1 g/L.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat berbagai kekurangan yang perlu diperbaiki pada penelitian selanjutnya dan juga terdapat informasi sebagai berikut:

1. Khamir potensial sebagai ragi pengembang adonan roti berasal dari genus *Saccharomyces*.
2. Pengembangan adonan roti berhenti pada waktu 390 menit (6 jam 30 menit)
3. Perlu dilakukan pengamatan terhadap pH adonan setiap 30 menit inkubasi dan dilakukan pemanggangan pada menit ke-45 untuk mengetahui karakter organoleptik
4. Jumlah sel yang digunakan sebagai agen pengembang disamakan untuk membandingkan kemampuan antara isolat khamir yang digunakan
5. Diperlukan identifikasi molekuler pada isolat khamir yang digunakan dalam penelitian
6. Dilakukan analisis terhadap kandungan biomassa yang diperoleh dari isolat khamir dengan perlakuan zinc dan isolat khamir tanpa penambahan zinc.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, G. P., & Kusdiyantini, E. (2019). Isolasi dan Karakterisasi secara Morfologi dan Biokimia Khamir dari Limbah Kulit Nanas Madu (*Ananas comosus* L .) untuk Produksi Bioetanol. *Berkala Bioteknologi*, 2(2).
- Ana, A., S. Subekti, S. Hamidah & K. Komariah. (2017). Organoleptic Test Patisserie Product Based on Consumer Preference. *Material Science and Engineering*. 180, 2-8.
- Arif, D. Z. (2019). Kajian Perbandingan Tepung Terigu (*Triticum aestivum*) dengan Tepung Jewawut (*Setaria italica*) terhadap Karakteristik Roti Manis. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*, 5(3), 180-189.
- Ashshoffa, F. N. D., & Yuliani, Y. (2019). Pengaruh Media Propagasi MYE (Malt Yeast Extract) dan MS (Murashige and Skoog) terhadap Diameter dan Berat Talus Lichen *Parmelia sulcata* secara In Vitro. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 8(3).
- Atmodjo, K. (2018). Optimalisasi Gula Cair dan pH Medium untuk Fermentasi Alkohol dari Jus Curucuma xanthorhiza. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 3(2), 97-104.
- Azad, Somayeh Kamran, Farid Shariatmadari & Mohammad Amir Karimi Torshizi. (2014). Production of Zinc-Enriched Biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Element*. 313-326.
- Azhar, S. H. M., Abdulla, R., Jambo, S. A., Marbawi, Hartinie, Gansau, J. A., Faik, A. A. M., & Rodrigues, K. F. (2017). Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 10, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.03.003>
- Azizah, N., Al-Barrii, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, PH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3).
- Bhatia, S. C. (2016). *Food Biotechnology*. New Delhi: Woodhead Publishing.
- Birch, A. N., Berg, F. W.J. van Den, & Hansen, A. S. (2013). Expansion Profiles of Wheat Doughs Fermented by Seven Commercial Baker's Yeasts. *Journal of Cereal Science*.
- Buenrostro-figueroa, J., Tafolla-arellano, J. C., Flores-gallegos, A. C., Rodríguez-herrera, R., De, H., & Aguilar, C. N. (2017). Native yeasts for alternative utilization of overripe mango pulp for ethanol production. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 0–4. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.010>

- Chairuni, A., Katsum, B. R., & Akbar, Z. (2019). *1071-1993-1-SM.pdf* (pp. 1–13). Journal of Biology Education.
- Cheng, Cheng, Mingming Zhang, Chuang Xue, Fengwu Bai & Xinqing Zhao. (2016). Development of Stress Tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strains by Metabolic Engineering: New Aspects from Cell Flocculation and Zinc Supplementation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 20(20), 1-6.
- Choiriyah, Nurul Azizah & Irra Chrisyanti Dewi. (2020). Daya Terima Roti Tawar Mocaf dan Ubi Jalar pada Santriwati Pesantren X. *Media Pertanian*. 5(1), 44-49.
- de Oca, M., Salem, A. Z. ., Kholif, A. ., Monroy, H., Perez, L. ., Zamora, J. ., & Gutierrez, A. (2016). *YEAST : DESCRIPTION AND STRUCTURE*.
- Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (2016). Food Microbiology: Principles into Practice. In *John Wiley & Sons, Ltd.* <https://doi.org/10.1002/9781119237860.ch39>
- Fardiaz, Srikandi. (1992). *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Faridah, H. D., & Sari, S. K. (2019). UTILIZATION OF MICROORGANISM ON THE DEVELOPMENT OF HALAL FOOD BASED ON BIOTECHNOLOGY. *Journal of Halal Product and Research*, 2(1), 33–43.
- 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.
- Fifendy, Mades. (2017). *Mikrobiologi*. Depok: Kencana.
- Ghoffar, M. Abdul, Abdurrahman Mu'thi & Abu Ihsan Al-Atsari. (2004). *Tafsir Ibnu Katsir*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Ginovart, M., Prats, C., Portell, X., & Silbert, M. (2011). Exploring the lag phase and growth initiation of a yeast culture by means of an individual-based model. *Food microbiology*, 28(4), 810-817.
- Gizaw, B., Tsegay, Z., & Tilahun, B. (2016). Isolation and characterization of yeast species from ensete ventricosum product; Kocho and Bulla collected from Angacha district. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 4(3), 246–252. <http://www.casrp.co.uk/journals>.
- Hadi, M. I., & Alamudi, M. Y. (2019). *Imunodiagnostik pada Bakteri dan Jamur*. Zifatama Jawara.

- Halász, A., & Lásztity, R. (2017). *Use of Yeast Biomass in Food Production*. Routledge.
- Hamamoto, M., and Nakase, T. 2000. Phylogenetic relationships among fungi inferred from small subunit ribosomal RNA gene sequences. *In Applied Microbial Systematics* (pp. 57-71). Springer, Dordrecht.
- Hamka. (2015). *Tafsir Al-Azhar Jilid I*. Jakarta: Gema Insani.
- Handayani, Sri Seno, Surya Hadi & Haryanti Patmala. (2016). Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Buah Kumbi untuk Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Pijar MIPA*. 9(1), 28-33.
- 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.
- Heitmann, M., Zannini, E., Axel, C., & Arendt, E. (2017). Correlation of Flavor Profile to Sensory Analysis of Bread Produced with Different *Saccharomyces cerevisiae* Originating from the Baking and Beverage Industry. *Cereal Chemistry*, 94(4), 746-751.
- Hendrawan, Y., Sumarlan, S. H., & Rani, C. P. (2018). Pengaruh pH dan Suhu Fermentasi terhadap Produksi Etanol Hasil Hidrolisis Jerami Padi. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 5(1), 1-8.
- Hidayat, Nur, Meitiniarti, Irene, & Yuliana, Neti. (2018). *Mikroorganisme dan Pemanfaatannya*. Malang: UB Press.
- Husin, H., Rahmi, S., & Pakpahan, N. (2019). Pengaruh Substitusi Tepung Modified Cassava Flour (Mocaf) dan Lama Suhu Pemanggangan Terhadap Mutu Roti Manis. In *Prosiding Seminar Nasional Pertanian* (Vol. 2, No. 1).
- Ivanesthi, I. R., Nurhatika, S., & Muhibuddin, A. (2016). Potensi Fermentasi Etanol Isolat Yeast Tanah yang Diisolasi dari Kabupaten Jember , Jawa Timur. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 5(2), 17–22.
- Jach, M. E., & Serefko, A. (2018). Nutritional Yeast Biomass: Characterization and Application in Diet. *Microbiome and Health* (pp. 237-270).
- Jamilah, J., & Khaerunnisa, K. (2019). Aplikasi Tepung Kelapa dalam Produk Roti Manis. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 14(1), 1-10.
- Jang, K. A., & Lee, S. J. (2020). Prediction Method of CO₂ Production from Electrical Resistance of Bread Dough Measured with a Simple Electrical Multimeter in Fermentation. *Food science and biotechnology*, 29(2), 235-241.

- Joubert, Pierre M. & Sharon Lafferty Doty. (2018). Endophytic Yeasts: Biology, Ecology and Applications. *Springer International Publishing*.
- Karki, T. B., Timilsina, P. M., Yadav, A., Pandey, G. R., Joshi, Y., Bhujel, S., Adhikari, R., & Neupane, K. (2017). Selection and Characterization of Potential Baker's Yeast from Indigenous Resources of Nepal. *Biotechnology Research International*, 2017, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2017/1925820>
- Komatsuzaki, N., Okumura, R., Sakurai, M., Ueki, Y., & Shima, J. (2016). Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from fruits and humus: Their suitability for bread making. *Progress in Biological Sciences*, 6(1), 55–63. <https://doi.org/10.22059/pbs.2016.59008>
- Kristanti, D. & A. Herminiati. (2019). Characteristics of Physical, Chemical and Organoleptic Properties of Inulin-Enriched Pudding as a Complementary Food. *Earth and Environmental Science*. 251, 2-11.
- Kristiandi, K., Sanya Anda Lusiana, Nur Arifah Qurota Ayunin, Rizki Nisfi Ramdhini, Ismail Marzuki, Sri Rezeki, Ira Erdiandini, Andi Eka Yuniarto, Shanti Dwita Lestari, Raida Amelia Ifadah, Rosyenne Kushargina, Tatty Yuniarti, Octovianus SR. Pasanda. (2021). *Teknologi Fermentasi*. Medan: Yayasan Kita Menulis.
- Kusnedi, R. (2021). Pengaruh Penambahan Pengembang Roti terhadap Parameter Organoleptik pada Pembuatan Roti Manis. *Jurnal British*, 1(2), 60-75.
- 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).
- Maharani, M. M., Bakrie, M., & Nurlela, N. (2021). Pengaruh Jenis Ragi, Massa Ragi dan Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dari Limbah Biji Durian. *Jurnal Redoks*, 6(1), 57-65.
- Mahardika, G. R., & Pratikno, H. (2018). Analisis Ketahanan Mikroalga pada Material Baja AH 36 dengan Menggunakan Metode Impressed Current Anti Fouling (ICAF). *Jurnal Teknik ITS*, 7(2), G145-G149.
- Mahreni, M., & Sri Suhenry, S. (2011). Kinetika Pertumbuhan Sel *Sacharomyces cerevisiae* dalam Media Tepung Kulit Pisang. In *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" 2011* (pp. D03-1). JURUSAN TEKNIK KIMIA, FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS DIPONEGORO, SEMARANG Abstrak.
- Maicas, S. (2020). The Role of Yeasts in Fermentation Processes. *Microorganisms*, 8 (1142), 1–8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142>

- Maligan, J. M., Amana, B. M., & Putri, W. D. R. (2019). Analisis Preferensi Konsumen terhadap Karakteristik Organoleptik Produk Roti Manis di Kota Malang. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 6(2).
- 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).
- Marbà-Ardébol, A. M., Emmerich, J., Muthig, M., Neubauer, P., & Junne, S. (2018). Real-time monitoring of the budding index in *Saccharomyces cerevisiae* batch cultivations with in situ microscopy. *Microbial cell factories*, 17(1), 1-12.
- 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.
- Matmati, Nabil & Hannun, Yusuf. (2008). Thematic Review Series: Sphingolipids. ISC1 (inositol phosphosphingolipid-phospholipase C), the yeast homologue of neutral sphingomyelinases. *Journal of lipid research*. 49. 922-8. 10.1194/jlr.R800004-JLR200.
- Matovic, Darko. 2011. *Biomass Detection, Production, and Usage*. Croatia: inTech.
- Mesquita, V. A., Machado, M. D., Silva, C. F., & Soares, E. V. (2015). Impact of multi-metals (Cd, Pb and Zn) exposure on the physiology of the yeast *Pichia kudriavzevii*. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), 11127-11136.
- Mildner-Szkudlarz, S., Siger, A., Szwengiel, A., Przygoński, K., Wojtowicz, E., & Zawirska-Wojtasiak, R. (2017). Phenolic Compounds Reduce Formation of N ϵ -(carboxymethyl) Lysine and Pyrazines Formed by Maillard Reactions in a Model Bread System. *Food chemistry*, 231, 175-184.
- Muhibuddin, A., & Sektiono, A. W. (2018). Optimalisasi Fosfat untuk Meningkatkan Pertumbuhan Kerapatan Populasi dan Kemampuan Antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp. *SAINTEKBU*, 10(2), 27-41.
- Nimpuno, Diah. (2019). *Roti Buatan Rimah Klasik dan Kekinian*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Nisaa, Y. H. (2020). *Isolasi dan uji kemampuan khamir endofit dari daging dan kulit buah mangga (Mangifera indica l.) varietas podang sebagai pengembang adonan roti* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

- 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.
- Nurhadianty, V., Cahyani, C., Nirwana, W. O. C., dan Dewi, L. K. (2018). *Pengantar Teknologi Fermentasi Skala Industri*. Malang: UB Press.
- Nurlaila, S., Agustini, D. M., & Purdianto, J. (2017). Uji Organoleptik terhadap Berbagai Bahan Dasar Nugget. *MADURANCH: Jurnal Ilmu Peternakan*, 2(2), 67-72.
- Nur'utami, D. A., Fitrilia, 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.
- 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.
- Paravisini, L., Sneddon, K. A., & Peterson, D. G. (2019). Comparison of the Aroma Profiles of Intermediate Wheatgrass and Wheat Bread Crusts. *Molecules*, 24(13), 2484.
- Periadnadi, P., Sari, D. K., & Nurmiati, N. (2018). ISOLASI DAN KEBERADAAN KHAMIR POTENSIAL PEMFERMENTASI NIRA AREN (*Arenga pinnata* Merr.) DARI DATARAN RENDAH DAN DATARAN TINGGI DI SUMATERA BARAT. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 4(1), 29–36. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v4i1.5927>
- Phale, S. (2018). *Biotechniques Yeast: Characteristics and Economic Significance*. 8(5), 8–10. <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000337>
- Pongcharoen, P., Chawneua, J., & Tawong, W. (2018). High Temperature Alcoholic Fermentation by New Thermotolerant Yeast Strains *Pichia kudriavzevii* Isolated from Sugarcane Field Soil. *Agriculture and Natural Resources*, 52(6), 511-518.
- Prasetyo, H. A. (2019). Proses Pembuatan Cake Menggunakan Tepung Komposit Terigu, Umbi Jalar dan Talas dengan Metode Experimental Design. *JUITECH: Jurnal Ilmiah Fakultas Teknik Universitas Quality*, 3(2), 44-51.

- Purba, J. A. (2017). *Potensi Antagonis Khamir terhadap Colletotrichum gloeosporioides Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Mangga* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Purlis, E. (2010). Browning Development in Bakery Products—A Review. *Journal of Food Engineering*, 99(3), 239-249.
- Pusuma, D. A., Praptiningsih, Y., & Choiron, M. (2018). Karakteristik Roti Tawar Kaya Serat yang Disubstitusi Menggunakan Tepung Ampas Kelapa. *Jurnal Agroteknologi*, 12(01), 29-42.
- Putri, V. N., Okfrianti, Y., & Kamsiah, K. (2017). Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Tepung Rebung pada Pembuatan Roti Tawar terhadap Kadar Serat, Umur Simpan dan Uji Organoleptik. *AGRITEPA: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*, 4(2), 13-24.
- Qurnaini, Nadiya Rahmah, Nanang Nasrullah, A'immatul Fauziyah. (2021). Pengaruh Substitusi Biji Jali (*Coix lacryma-jobi* L.) terhadap Kadar Lemak, Serat, Fenol dan Sifat Organoleptik Tempe. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 11(01).
- Rosihan, A., & Husaini, H. (2017). *Logam Berat Sekitar Manusia*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Saepudin, L., Setiawan, Y., & Sari, P. D. (2017). Pengaruh Perbandingan Substitusi Tepung Sukun dan Tepung Terigu dalam Pembuatan Roti Manis. *AGROSCIENCE*, 7(1), 227-243.
- Saputra, R., Dimisa, A. A., & Rakhmadi, F. A. (2020). Anti- Partikel Misteri Qur'an Surat Yasin Ayat 36. *Prosiding Konferensi Integrasi Interkoneksi Islam Dan Sains*, 2, 23–24.
- Shabrina, N. (2017). *Pengaruh Substitusi Tepung Terigu dengan Tepung Kacang Koro Pedang (Canavalia Ensiformis L) dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Roti Tawar* (Doctoral dissertation, Fakultas Teknik Unpas).
- Sharma, R., Garg, P., Kumar, P., Bhatia, S. K., & Kulshrestha, S. (2020). Microbial Fermentation and Its Role in Quality Improvement of Fermented Foods. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 6(4), 106. <https://doi.org/10.3390/fermentation6040106>
- Shihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir al Misbah Jilid 1*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Quraish. (2005). *Tafsir al Misbah Jilid 4*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sitepu, K. M. (2019). Penentuan Konsentrasi Ragi Pada Pembuatan Roti. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Agrokompleks*, 2(1), 71–77.

- Sriwulan, M. R. P. A. I., & Hendrasarie, N. (2021). Uji Efektifitas Sampah Pangan dan Non Pangan dalam Menghasilkan Bioetanol Generasi Kedua. *EnviroUS*, 1(2), 32-40.
- Stanley P. Cauvain, & Linda S. Young. (2007). *Technology of Breadmaking*. Springer.
- Starowicz, M., & Zieliński, H. (2019). How Maillard Reaction Influences Sensorial Properties (color, flavor and texture) of Food Products?. *Food Reviews International*, 35(8), 707-725.
- Stehlik-Tomas, Vesna, Vlatka Gulan Zetic, Damir Stanzer, Slobodan Grba & Nada Vahcic. (2004). Zinc, Copper and Manganese Enrichment in Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Technology*. 42(2).
- Struyf, N., Maelen, E. Van Der, Hemdane, 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*, 00, 1–18. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12282>
- 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 acuminata* L). In *COCOS* (Vol. 1, No. 1).
- Suryani, Y., Hernaman, I., & Ningsih. (2017). Iman Hernaman. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 5(1), 13–17.
- Suryatna, B. S. (2015). Peningkatan Kelembutan Tekstur Roti melalui Fortifikasi Rumput Laut *Euchema cottoni*. *TEKNOBUGA: Jurnal Teknologi Busana dan Boga*, 2(2).
- Tribudi, Y. A., Pt, S., Prihandini, P. W., & Pt, S. (2020). *Prosedur Rancangan Percobaan untuk Bidang Peternakan*. Universitas Indonesia Publishing.
- Trisakti, B., & Pranatha Sijabat, I. (2020). Profil pH dan Volatile Suspended Solids pada Proses Pengomposan Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan Pupuk Cair Organik Aktif sebagai co-Composting. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 9(1), 11–15. <https://doi.org/10.32734/jtk.v9i1.2668>
- 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.* 1(2).
- Wachid, M., & Mutia, P. (2019). Optimasi Media Kulit Singkong pada Pertumbuhan *Sacharomyces cerreviceae*. *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 4(2), 92-101.

- Walker, Graeme M. & Graham G. Stewart. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in The Production of Fermented Beverages. *Beverages*. 2(30).
- Walker, Graeme M. & Roy S.K. Walker. (2018). Enhancing Yeast Alcoholic Fermentations. *Advances in Applied Microbiology*. 105, 1-43.
- Wan, Chun, Mingming Zhang, Qing Fang, Liang Xiong, Xinqing Zhao, Tomohisa Hasunuma, Fengwu Bai & Akihiko Kondo. (2014). The Impact of Zinc Sulphate Addition on The Dynamic Metabolic Profiling of *Saccharomyces cerevisiae* Subjected to Long Term Acetic Acid Stress Treatment and Identification of Key Metabolites Involved The Antioxidant Effect of Zinc. *Royal Society of Chemistry*.
- 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.
- Webster & Weber. (2007). *Introduction to Fungi*. England: Cambridge University Press.
- Xu, D., Yin, Y., Ali, B., Zhang, Y., Guo, L., & Xu, X. (2019). Food Bioscience Isolation of yeast strains from Chinese liquor Daqu and its use in the wheat sourdough bread making. *Elsevier*, 31, 100443. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100443>
- Yuliana, N. (2012). Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 13(2), 108-116.
- Zhao, X. Q., & Bai, F. W. (2012). Zinc and Yeast Stress Tolerance: Micronutrient Plays a Big Role. *Journal of Biotechnology*, 158(4), 176-183.
- Zhao, X. Q., Xue, C., Ge, X. M., Yuan, W. J., Wang, J. Y., & Bai, F. W. (2009). Impact of Zinc Supplementation on the Improvement of Ethanol Tolerance and Yield of Self-Flocculating Yeast in Continuous Ethanol Fermentation. *Journal of Biotechnology*, 139(1), 55-60.
- Zohri, A. A., Fadel, M., Hmad, M., & El-sharkawey, H. F. (2017). Effect of Nitrogen Sources and Vitamins Addition on Baker ' s Yeast Fermentation Activity. *Egyptian Sugar Journal*, 9, 57-66.
- Zubko, M. K. (2012). *Yeast: Molecular and Cell Biology*. British Journal of Biomedical Science, 69(4), 186.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Biomassa dari semua perlakuan

Contoh perhitungan biomassa pada YIS-3 + Zinc 0.1 g/L tabung nomor 1

$$B = E2 - E1$$

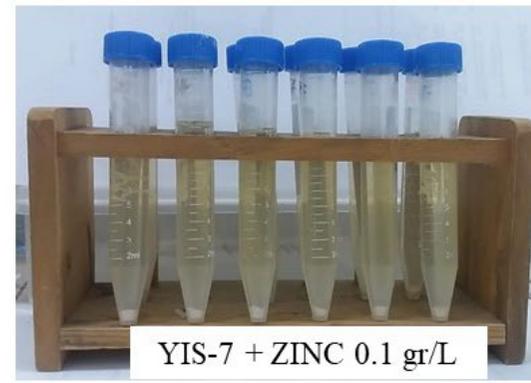
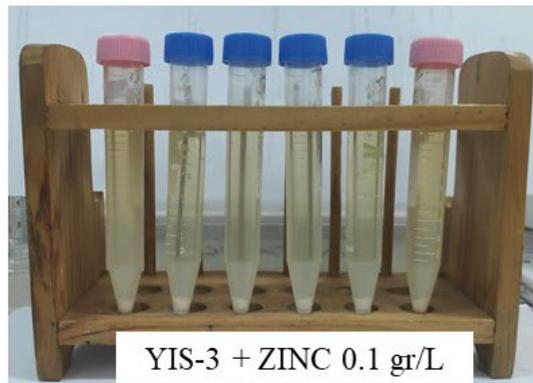
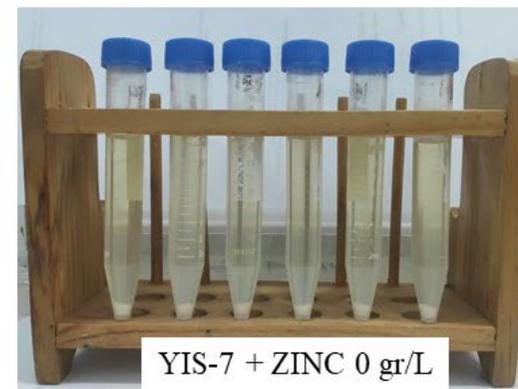
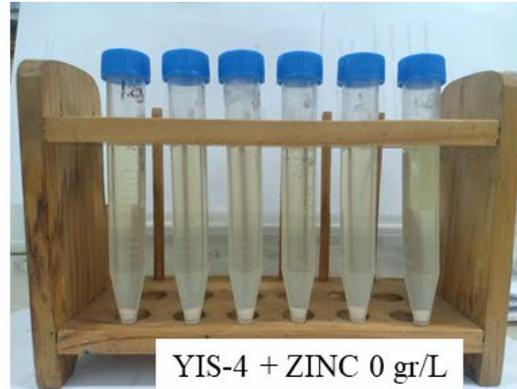
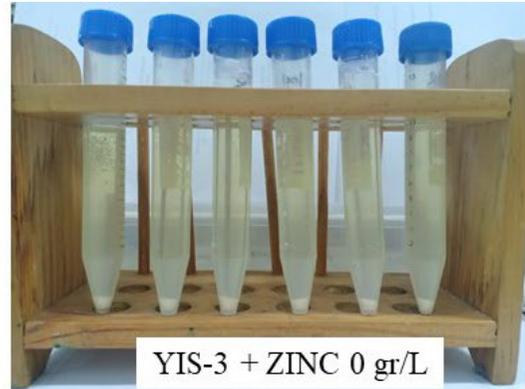
$$B = 6,43 - 6,31$$

$$B = 0,12$$

YIS-3 + Zinc 0.1 g/L				YIS-4 + Zinc 0.1 g/L				YIS-7 + Zinc 0.1 g/L			
No	E1	E2	B	No	E1	E2	B	No	E1	E2	B
1	6.31	6.43	0.12	31	6.36	6.55	0.19	61	6.35	6.44	0.09
2	6.33	6.45	0.12	32	6.48	6.63	0.15	62	6.33	6.46	0.13
3	6.33	6.46	0.13	33	6.36	6.49	0.13	63	6.4	6.51	0.11
4	6.41	6.59	0.18	34	6.35	6.47	0.12	64	6.3	6.36	0.06
5	6.33	6.45	0.12	35	6.43	6.57	0.14	65	5.95	6.09	0.14
6	6.82	6.95	0.13	36	6.69	6.81	0.12	66	6.4	6.51	0.11
7	6.29	6.49	0.20	37	6.34	6.47	0.13	67	6.33	6.44	0.11
8	6.32	6.45	0.13	38	6.46	6.63	0.17	68	6.36	6.46	0.1
9	6.31	6.48	0.17	39	6.31	6.42	0.11	69	6.32	6.41	0.09
10	6.47	6.58	0.11	40	6.50	6.61	0.11	70	6.36	6.45	0.09
11	6.44	6.55	0.11	41	6.48	6.59	0.11	71	6.36	6.47	0.11
12	6.51	6.61	0.10	42	6.29	6.41	0.12	72	6.34	6.42	0.08
13	6.39	6.46	0.07	43	6.33	6.48	0.15	73	6.33	6.46	0.13
14	6.34	6.46	0.12	44	6.28	6.41	0.13	74	6.32	6.45	0.13
15	6.33	6.46	0.13	45	6.29	6.46	0.17	75	6.35	6.45	0.1
16	6.33	6.45	0.12	46	6.41	6.52	0.11	76	6.36	6.47	0.11
17	6.41	6.52	0.11	47	6.17	6.31	0.14	77	6.3	6.42	0.12
18	6.35	6.46	0.11	48	6.32	6.48	0.16	78	6.46	6.59	0.13
19	6.45	6.57	0.12	49	6.36	6.50	0.14	79	6.32	6.44	0.12
20	7.22	7.39	0.17	50	6.36	6.48	0.12	80	6.35	6.5	0.15
21	6.47	6.64	0.17	51	6.41	6.54	0.13	81	6.42	6.54	0.12
22	6.44	6.62	0.18	52	6.43	6.56	0.13	82	6.38	6.5	0.12
23	6.34	6.45	0.11	53	6.35	6.48	0.13	83	6.35	6.48	0.13
24	6.36	6.46	0.10	54	6.33	6.50	0.17	84	6.29	6.42	0.13
25	6.29	6.41	0.12	55	6.45	6.62	0.17	85	6.34	6.39	0.05
26	6.31	6.45	0.14	56	6.42	6.56	0.14	86	6.31	6.47	0.16
27	6.33	6.48	0.15	57	6.34	6.51	0.17	87	6.36	6.5	0.14
28	6.32	6.48	0.16	58	6.28	6.38	0.10	88	6.69	6.82	0.13
29	6.71	6.80	0.09	59	6.41	6.55	0.14	89	6.76	6.9	0.14
30	7.19	7.32	0.13	60	6.33	6.46	0.13	90	6.32	6.45	0.13
Total			3,93	Total			4.13	Total			3.46

YIS-3 + Zinc 0 g/L				YIS-4 + Zinc 0 g/L				YIS-7 + Zinc 0 g/L			
No	E1	E2	B	No	E1	E2	B	No	E1	E2	B
91	6.42	6.45	0.03	121	7.18	7.32	0.14	151	6.27	6.38	0.11
92	6.3	6.41	0.11	181	7.2	7.34	0.14	152	6.34	6.48	0.14
93	6.29	6.41	0.12	123	6.33	6.44	0.11	153	6.33	6.43	0.1
94	6.49	6.59	0.10	124	7.18	7.27	0.09	154	6.28	6.42	0.14
95	6.41	6.51	0.10	125	6.46	6.55	0.09	155	6.33	6.44	0.11
96	6.6	6.72	0.12	126	6.45	6.61	0.16	156	6.33	6.48	0.15
97	6.14	6.25	0.11	127	6.77	6.86	0.09	157	6.45	6.6	0.15
98	6.32	6.41	0.09	128	6.48	6.59	0.11	158	6.29	6.41	0.12
99	6.34	6.44	0.10	129	7.19	7.34	0.15	159	6.29	6.41	0.12
100	7.16	7.29	0.13	130	7.19	7.26	0.07	160	6.37	6.47	0.1
101	6.5	6.62	0.12	131	6.35	6.47	0.12	161	6.38	6.48	0.1
102	6.43	6.51	0.08	132	6.35	6.45	0.10	162	6.46	6.57	0.11
103	6.77	6.87	0.10	133	6.4	6.55	0.15	163	6.42	6.55	0.13
104	7.2	7.33	0.13	134	6.28	6.38	0.10	164	6.4	6.5	0.1
105	7.19	7.3	0.11	135	6.3	6.4	0.10	165	6.34	6.47	0.13
106	7.17	7.28	0.11	136	6.45	6.56	0.11	166	6.27	6.43	0.16
107	6.45	6.57	0.12	137	6.32	6.43	0.11	167	6.41	6.56	0.15
108	6.98	7.06	0.08	138	6.48	6.58	0.10	168	6.43	6.53	0.1
109	6.35	6.47	0.12	139	6.4	6.53	0.13	169	6.28	6.4	0.12
110	6.8	6.92	0.12	140	6.42	6.51	0.09	170	6.32	6.45	0.13
111	6.48	6.6	0.12	141	6.27	6.4	0.13	171	6.32	6.45	0.13
112	6.42	6.54	0.12	142	6.45	6.58	0.13	172	6.4	6.52	0.12
113	6.35	6.45	0.10	143	6.34	6.45	0.11	173	6.39	6.51	0.12
114	6.61	6.71	0.10	144	6.45	6.57	0.12	174	6.39	6.49	0.1
115	6.3	6.43	0.13	145	6.34	6.45	0.11	175	6.37	6.5	0.13
116	6.49	6.57	0.08	146	6.28	6.39	0.11	176	6.27	6.41	0.14
117	7.16	7.27	0.11	147	6.33	6.5	0.17	177	6.39	6.52	0.13
118	6.32	6.43	0.11	148	6.42	6.52	0.10	178	6.29	6.39	0.1
119	6.3	6.4	0.10	149	6.3	6.4	0.10	179	6.43	6.53	0.1
120	6.34	6.45	0.11	150	6.4	6.51	0.11	180	6.42	6.53	0.11
Total			3.18	Total			3.45	Total			3.65

Lampiran 2. Gambar perolehan biomassa dari setiap perlakuan zinc



Lampiran 3. Jumlah sel khamir dari masing-masing perlakuan

Contoh perhitungan YIS-3 + Zinc 0,1 g/L

➤ Rata-rata jumlah sel/kotak

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

$$\text{rata – rata jumlah sel/kotak} = \frac{1392}{5}$$

$$\text{rata – rata jumlah} \frac{\text{sel}}{\text{kotak}} = 278,4$$

➤ Faktor pengencer

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

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

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

➤ Jumlah sel/ml

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

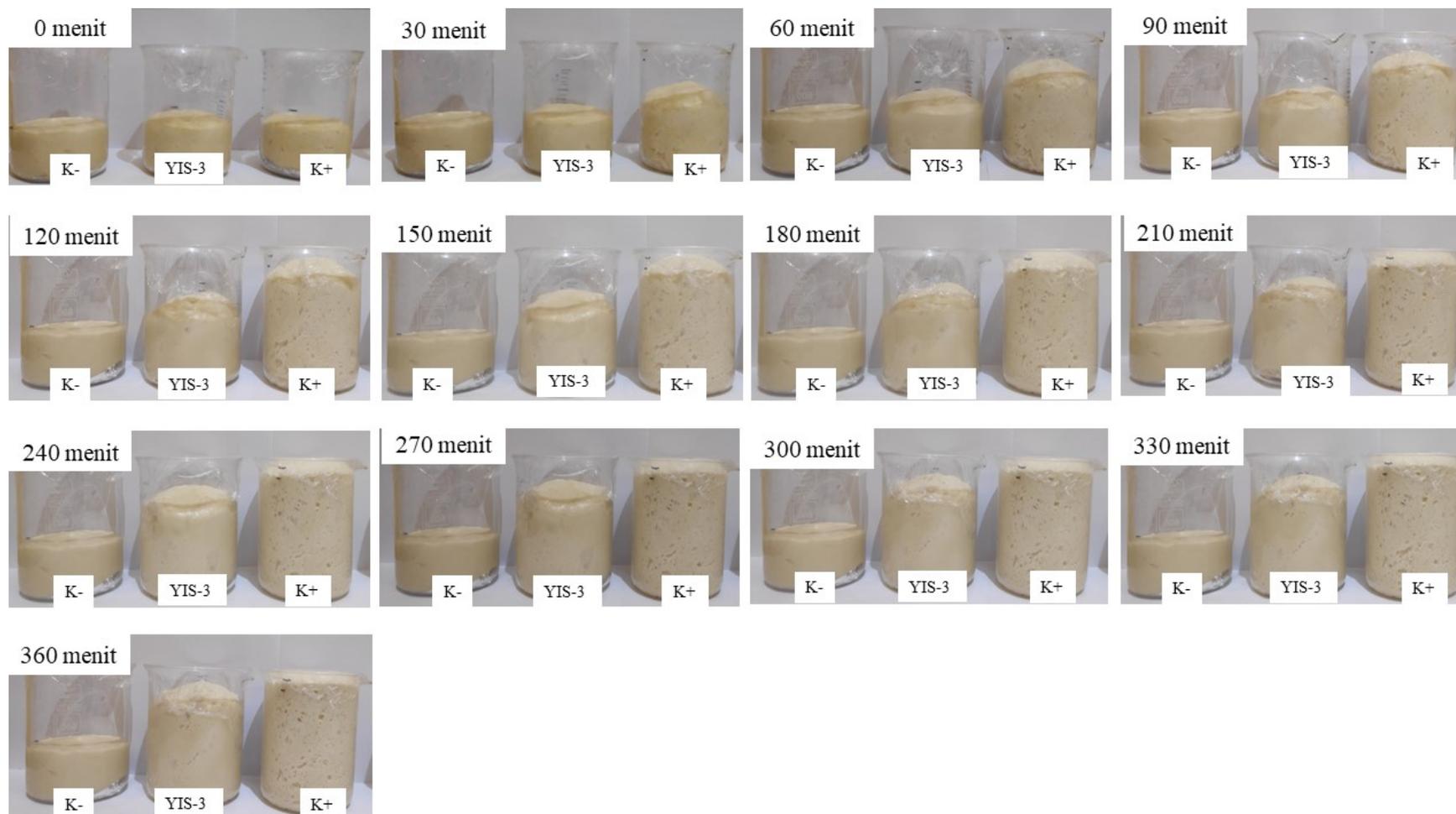
$$\text{jumlah sel} \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = 278,4 \times 10 \times 10^4$$

$$\text{jumlah sel} \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = 27,840,000.00$$

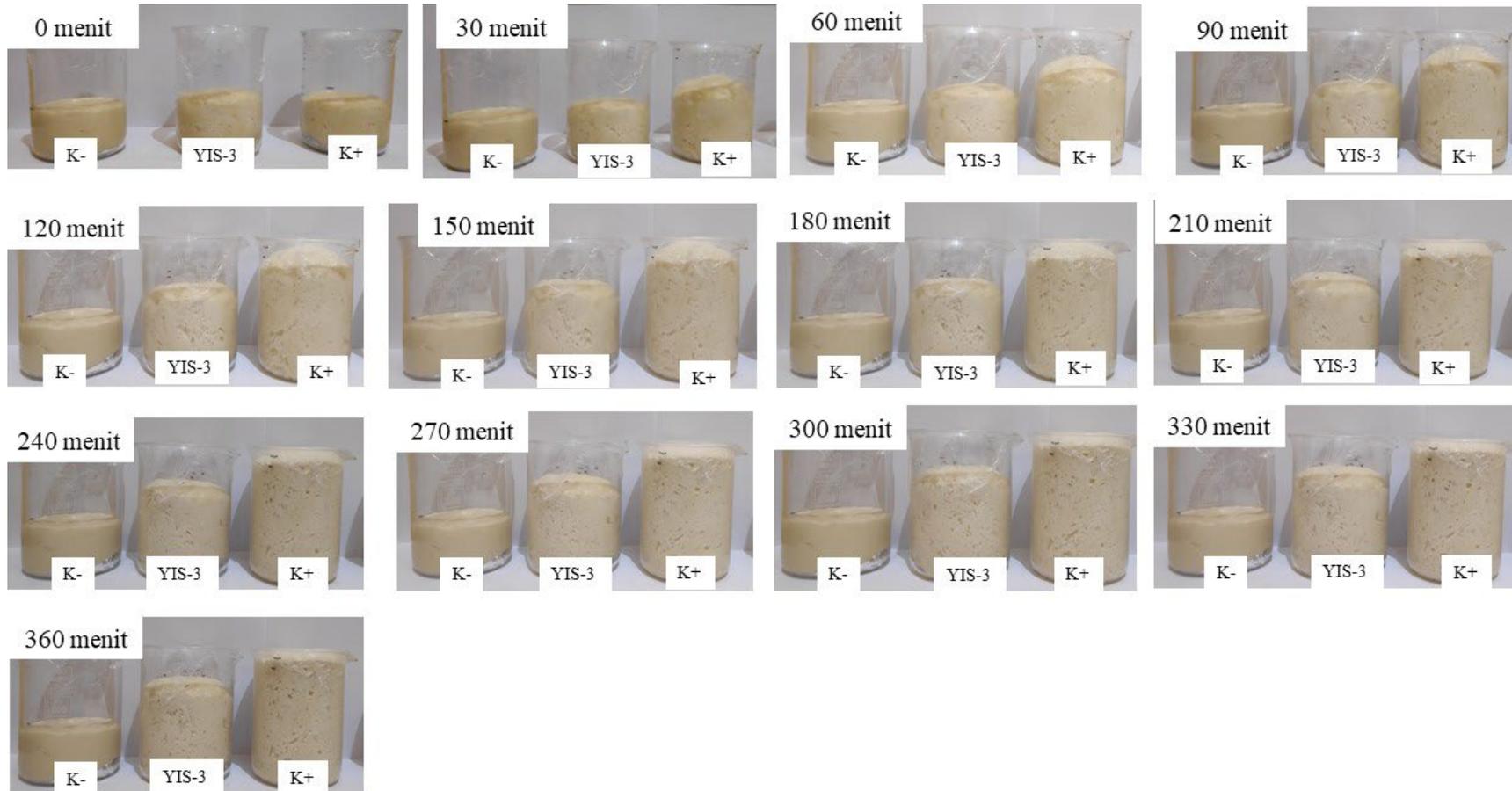
YIS	KOTAK	HIDUP	Rata-rata jumlah sel/kotak	Jumlah sel/ml
YIS-3 + Zinc 0,1 g/L	A	288	278,4	27.840.000
	B	308		
	C	249		
	D	270		
	E	277		
		1392		
YIS-4 + Zinc 0,1 g/L	A	187	194,4	19.440.000
	B	199		
	C	193		
	D	186		
	E	207		
		972		
YIS-7 + Zinc 0,1 g/L	A	73	69,2	6.920.000
	B	81		
	C	60		
	D	66		
	E	66		
		346		
YIS-3 + Zinc 0 g/L	A	175	161	16.100.000
	B	157		
	C	168		
	D	159		
	E	146		
		805		

YIS-4 + Zinc 0 g/L	A	214	191,2	19.120.000
	B	191		
	C	199		
	D	176		
	E	176		
		956		
YIS-7 + Zinc 0 g/L	A	100	109,2	10.920.000
	B	116		
	C	114		
	D	110		
	E	106		
		546		
KONTROL	A	187	163,2	32.640.000
	B	164		
	C	152		
	D	147		
	E	166		
		816		

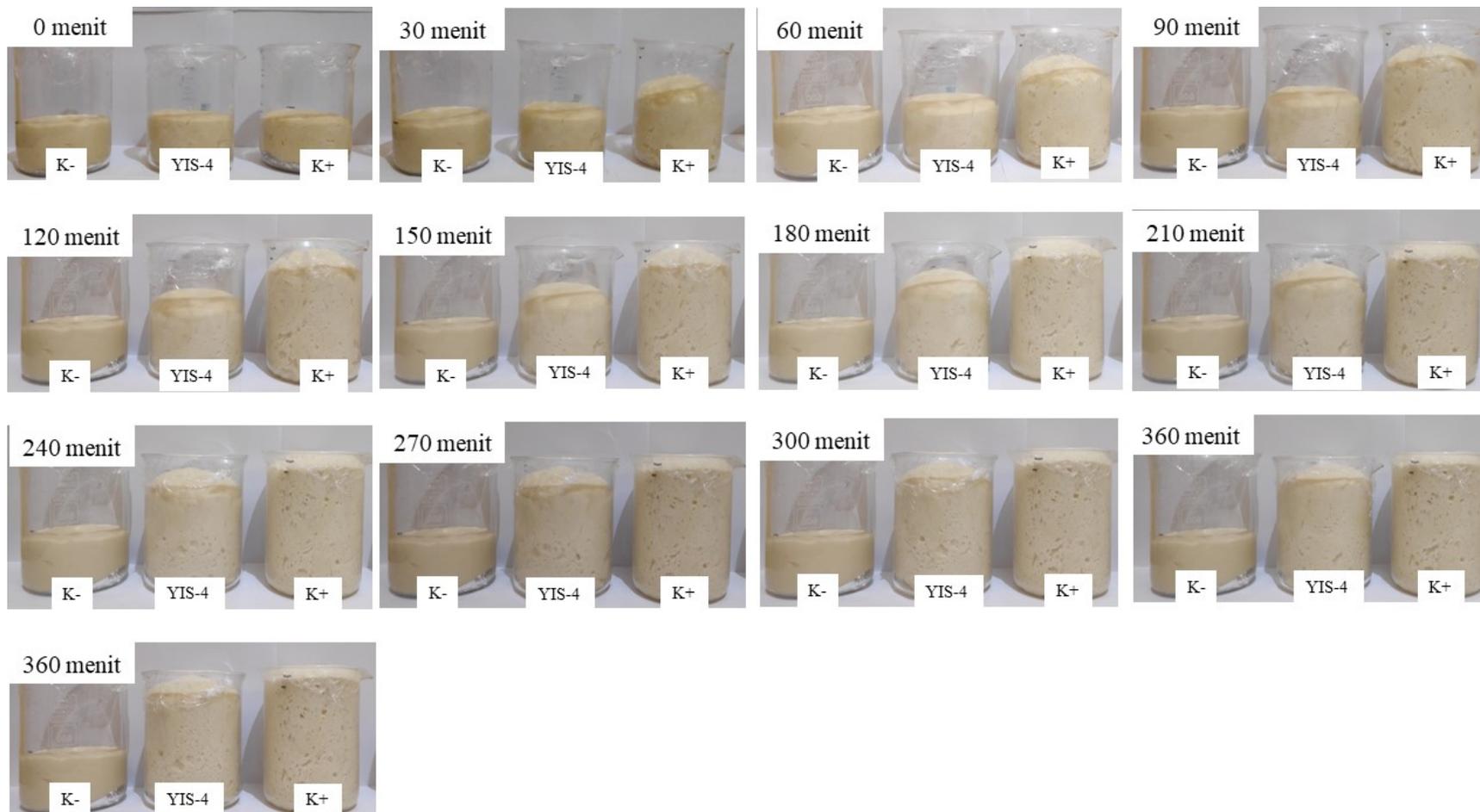
Lampiran 4. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-3 Zinc 0,1 g/L



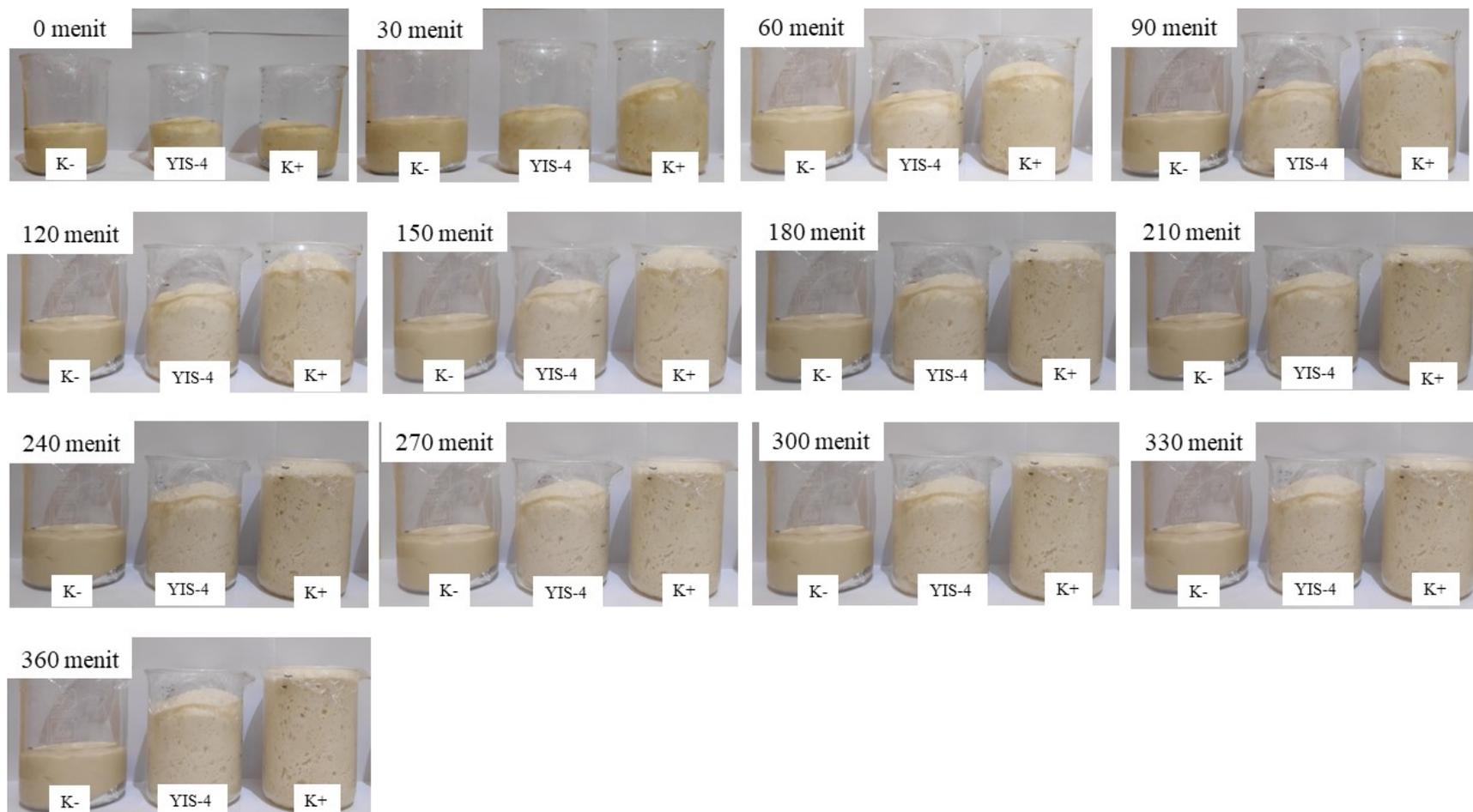
Lampiran 5. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-3 Zinc 0 g/L



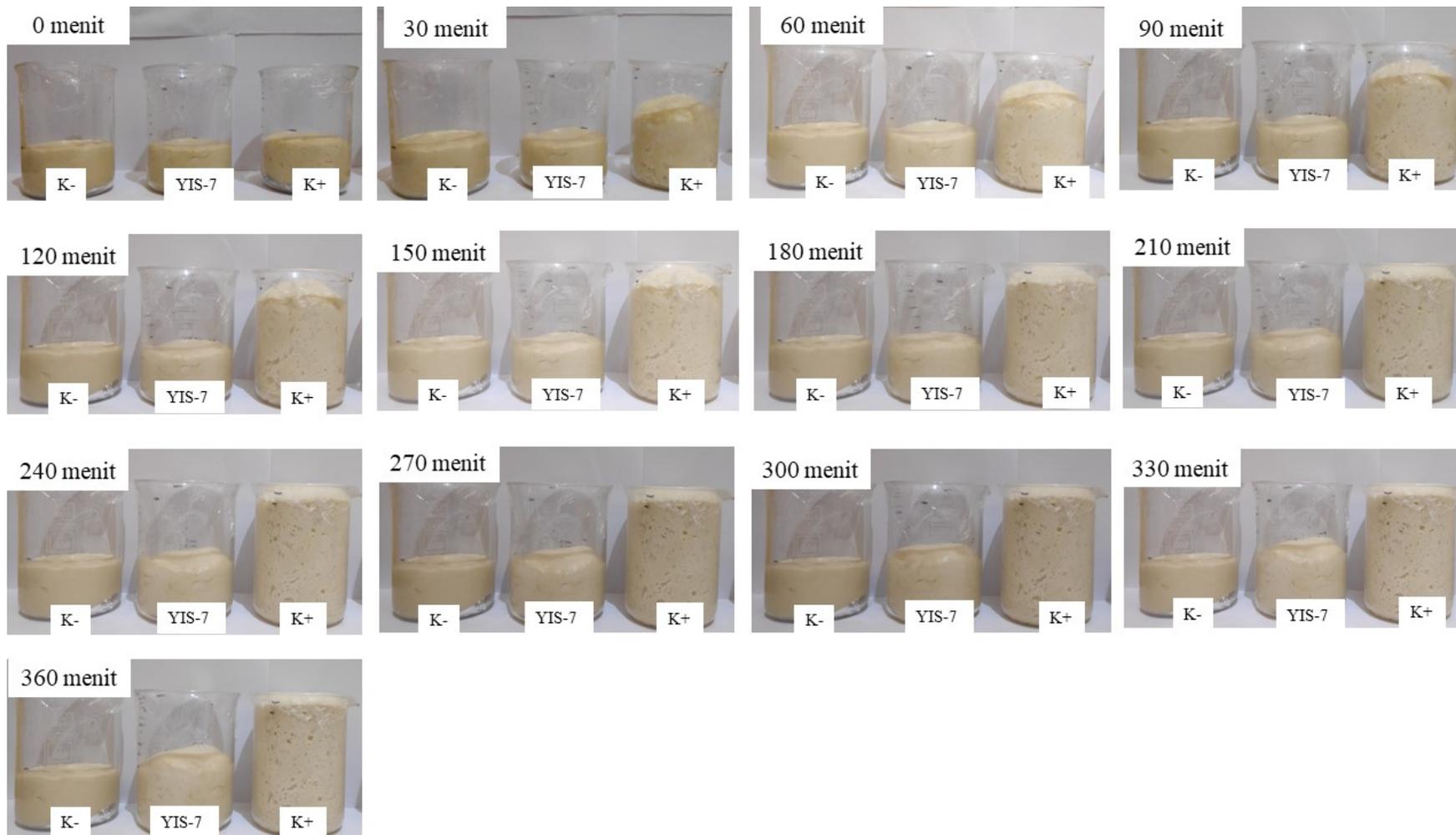
Lampiran 6. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-4 Zinc 0,1 g/L



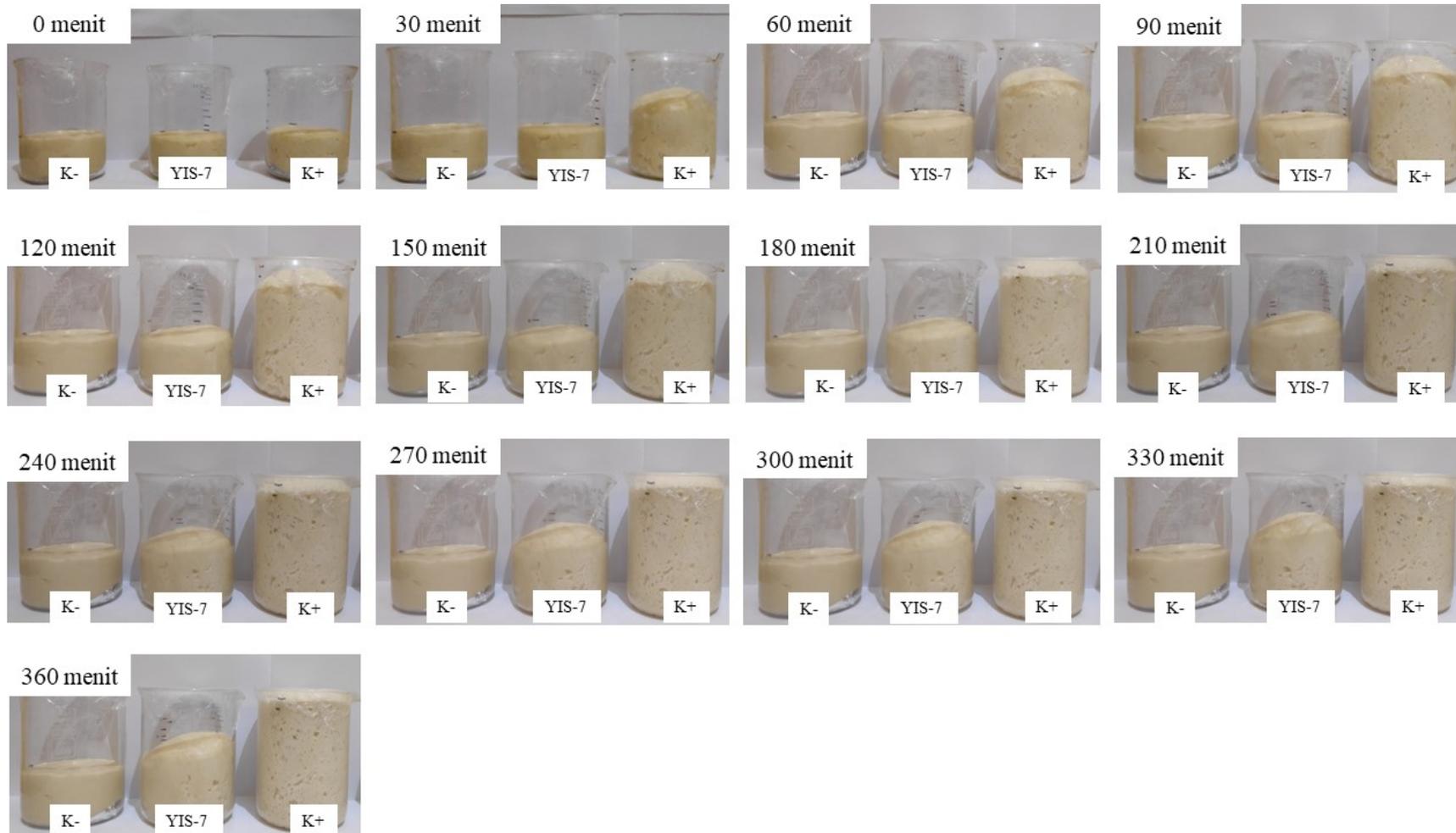
Lampiran 7. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-4 Zinc 0 g/L



Lampiran 8. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-7 Zinc 0,1 g/L



Lampiran 9. Pengembangan volume adonan roti pada YIS-7 Zinc 0 g/L



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

Menit ke-	Volume (cm ³)							K+	K-
	YIS-3 + Zinc 0,1 g/L	YIS-4 + Zinc 0,1 g/L	YIS-7 + Zinc 0,1 g/L	YIS-3 + Zinc 1 g/L	YIS-4 + Zinc 0 g/L	YIS-7 + Zinc 0 g/L			
Awal	300.60	294.93	272.24	277.91	266.57	272.24	277.9	272.2 4	
30	340.3	334.6	272.2	340.3	340.3	272.2	300.6	272.2 4	
60	385.67	357.31	272.24	397.01	391.34	272.24	425.4	272.2 4	
90	448.1	414.0	272.2	442.4	442.4	272.2	510.4	272.2 4	
120	493.43	453.73	272.24	476.42	487.76	340.30	538.8	272.2 4	
150	493.4	499.1	317.6	476.4	487.8	340.3	572.8	272.2 4	
180	544.48	555.82	317.61	510.45	527.46	385.67	572.8	272.2 4	
210	561.5	601.2	351.6	510.4	527.5	408.4	572.8	272.2 4	
240	589.85	629.55	351.64	510.45	555.82	408.36	572.8	272.2 4	
270	589.8	646.6	368.7	510.4	555.8	442.4	572.8	272.2 4	
300	612.54	646.57	391.34	544.48	578.51	487.76	623.9	272.2 4	
330	629.6	657.9	391.3	544.5	578.5	510.4	680.6	272.2	

								4
360	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
390	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
420	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
450	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
480	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
510	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
540	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
570	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6	272.2 4
600	652.24	680.60	408.36	544.48	601.19	510.45	680.6 0	272.2 4

Lampiran 11. Volume roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	Volume Roti (cm ³)
YIS-3 + Zinc 0,1 g/L	825.19
YIS-4 + Zinc 0,1 g/L	949.54
YIS-7 + Zinc 0,1 g/L	610.42
YIS-3 + Zinc 0 g/L	712.15
YIS-4 + Zinc 0 g/L	700.85
YIS-7 + Zinc 0 g/L	542.59
K+	791.28
K-	272.24

Lampiran 12. Persentase pengembangan adonan pada semua perlakuan setiap 30 menit selama 10 jam

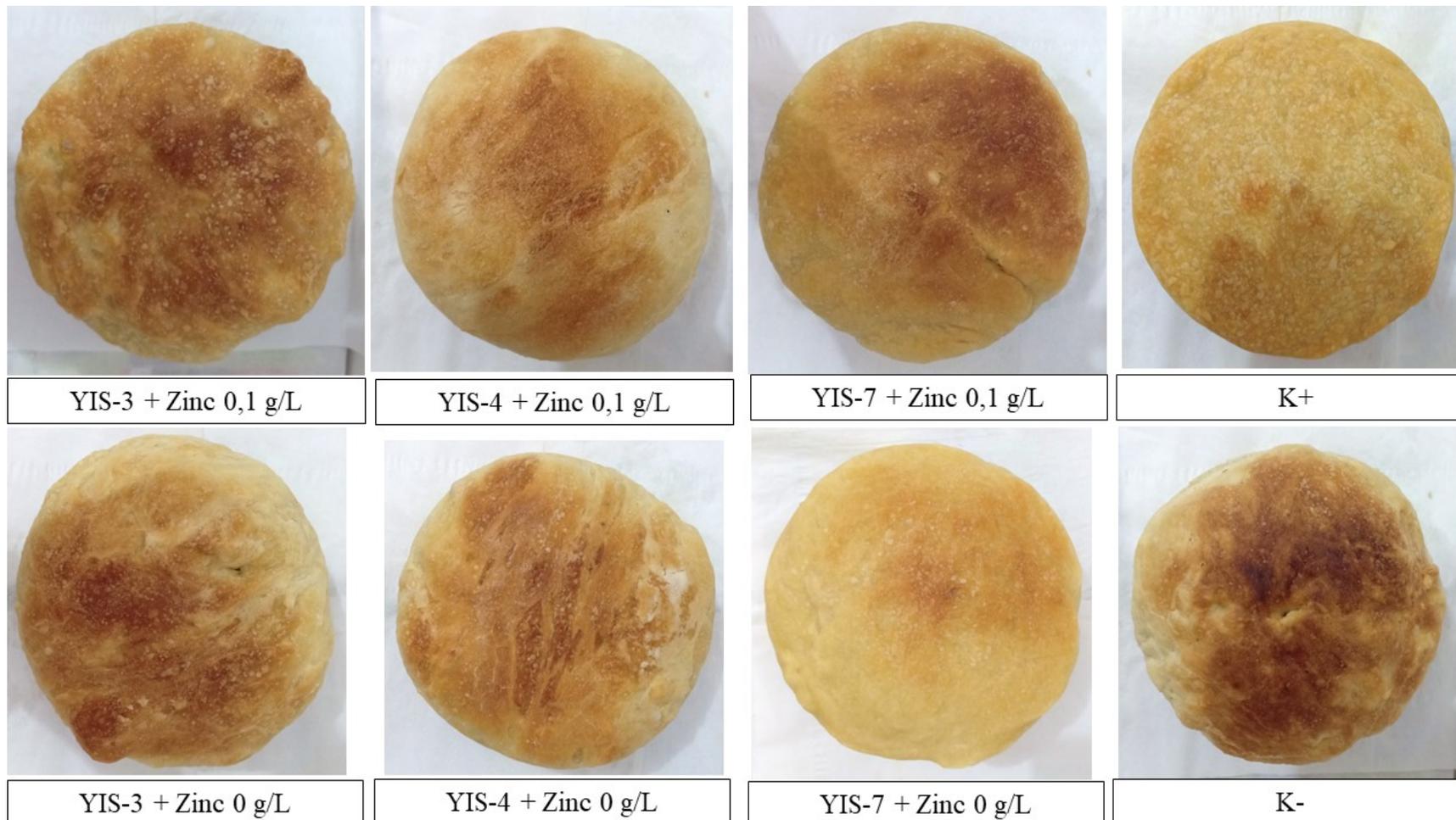
Contoh perhitungan persentase pengembangan YIS-3 Zinc 0,1 g/L pada menit ke-30

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

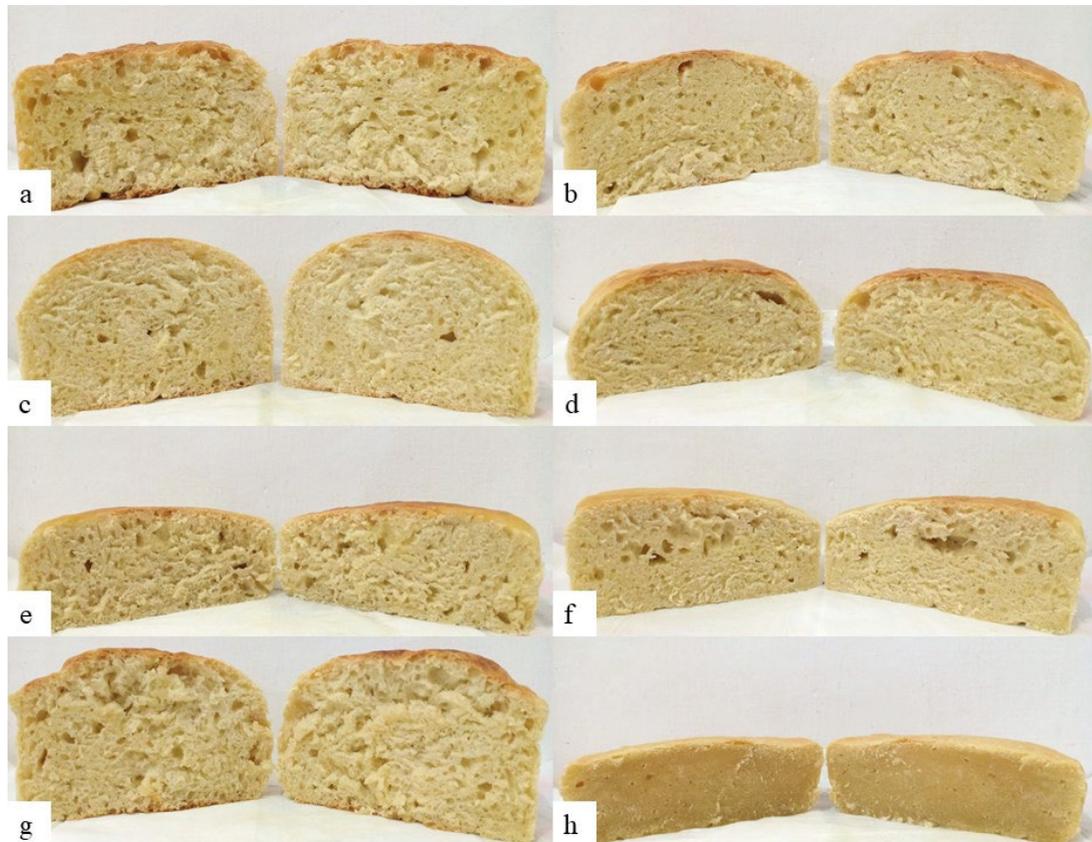
$$\% \text{ pengembangan} = \frac{340.3 - 300.60}{300.60} \times 100\% = \mathbf{13,21\%}$$

Menit ke-	Persentase pengembangan (cm ³)							K+	K-
	YIS-3 + Zinc 0,1 g/L	YIS-4 + Zinc 0,1 g/L	YIS-7 + Zinc 0,1 g/L	YIS-3 + Zinc 1 g/L	YIS-4 + Zinc 0 g/L	YIS-7 + Zinc 0 g/L			
30	13.21	13.45	0	22.45	27.66	0	8.16	0	
60	13.33	6.79	0	16.67	15	0	41.5	0	
90	16.19	15.87	0	11.43	13.05	0	19.9	0	
120	10.12	9.6	0	7.69	10.25	25	5.5	0	
150	0	10	16.66	0	0	0	6.31	0	
180	10.34	11.36	0	7.14	8.14	13.33	0	0	
210	3.13	8.16	10.7	0	0	5.89	0	0	
240	5.05	4.72	0	0	5.38	0	0	0	
270	0	2.71	4.85	0	0	8.33	8.92	0	
300	3.85	0	6.14	6.67	4.08	10.25	9.09	0	
330	2.79	1.75	0	0	0	4.64	0	0	
360	3.6	3.45	4.35	0	3.92	0	0	0	
390	0	0	0	0	0	0	0	0	
420	0	0	0	0	0	0	0	0	
450	0	0	0	0	0	0	0	0	
480	0	0	0	0	0	0	0	0	
510	0	0	0	0	0	0	0	0	
540	0	0	0	0	0	0	0	0	
570	0	0	0	0	0	0	0	0	
600	0	0	0	0	0	0	0	0	

Lampiran 13. Warna permukaan roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan



Lampiran 14. Tekstur roti setelah dipanggang pada masing-masing perlakuan



Keterangan: (a) YIS-3 Zinc 0,1 g/L; (b) YIS-3 Zinc 0 g/L; (c) YIS-4 Zinc 0,1 g/L; (d) YIS-4 Zinc 0 g/L; (e) YIS-7 Zinc 0,1 g/L; (f) YIS-7 Zinc 0 g/L; (g) Kontrol positif; (h) Kontrol negatif

Lampiran 15. Skala Penilaian Parameter Organoleptik

Skor	Keterangan
1	Sangat tidak suka
2	Tidak suka
3	Netral
4	Suka
5	Sangat suka

Lampiran 16. Hasil uji Kruskal Wallis

Test Statistics^{a,b}				
	Rasa	Warna	Tekstur	Aroma
Kruskal-Wallis	68.776	86.094	59.187	62.795
H				
df	7	7	7	7
Asymp. Sig.	.000	.000	.000	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Lampiran 17. Hasil uji lanjut Mann-Whitney

a. Warna

Test Statistics^a

Warna	
Mann-Whitney U	395.500
Wilcoxon W	860.500
Z	-.859
Asymp. Sig. (2-tailed)	.391

a. Grouping Variable: Perlakuan

3P = 4P	4P = 7P	7P = 3K	3K ≠ 4K	4K = 7K	7K ≠ K+	K+ ≠ K-
3P = 7P	4P = 3K	7P = 4K	3K = 7K	4K ≠ K+	7K ≠ K-	
3P = 3K	4P ≠ 4K	7P = 7K	3K ≠ K+	4K ≠ K-		
3P ≠ 4K	4P = 7K	7P ≠ K+	3K ≠ K-			
3P = 7K	4P ≠ K+	7P ≠ K-				
3P ≠ K+	4P ≠ K-					
3P ≠ K-						

b. Aroma

Test Statistics^a

Aroma	
Mann-Whitney U	437.500
Wilcoxon W	902.500
Z	-.195
Asymp. Sig. (2-tailed)	.846

a. Grouping Variable: Perlakuan

3P = 4P	4P = 7P	7P = 3K	3K = 4K	4K = 7K	7K ≠ K+	K+ ≠ K-
3P = 7P	4P ≠ 3K	7P = 4K	3K = 7K	4K ≠ K+	7K ≠ K-	
3P ≠ 3K	4P ≠ 4K	7P = 7K	3K ≠ K+	4K ≠ K-		
3P ≠ 4K	4P ≠ 7K	7P ≠ K+	3K ≠ K-			
3P ≠ 7K	4P ≠ K+	7P ≠ K-				
3P ≠ K+	4P ≠ K-					
3P ≠ K-						

c. Tekstur

Test Statistics^a

Tekstur	
Mann-Whitney U	381.000
Wilcoxon W	846.000
Z	-1.092
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275

a. Grouping Variable: Perlakuan

$3P = 4P$	$4P = 7P$	$7P = 3K$	$3K = 4K$	$4K = 7K$	$7K \neq K+$	$K+ \neq K-$
$3P = 7P$	$4P = 3K$	$7P = 4K$	$3K \neq 7K$	$4K \neq K+$	$7K \neq K-$	
$3P = 3K$	$4P = 4K$	$7P = 7K$	$3K \neq K+$	$4K \neq K-$		
$3P = 4K$	$4P = 7K$	$7P \neq K+$	$3K \neq K-$			
$3P = 7K$	$4P \neq K+$	$7P \neq K-$				
$3P \neq K+$	$4P \neq K-$					
$3P \neq K-$						

d. Rasa

Test Statistics^a

	Rasa
Mann-Whitney U	410.500
Wilcoxon W	875.500
Z	-.614
Asymp. Sig. (2-tailed)	.539

a. Grouping Variable: Perlakuan

$3P = 4P$	$4P = 7P$	$7P \neq 3K$	$3K = 4K$	$4K = 7K$	$7K \neq K+$	$K+ \neq K-$
$3P = 7P$	$4P \neq 3K$	$7P \neq 4K$	$3K = 7K$	$4K \neq K+$	$7K \neq K-$	
$3P \neq 3K$	$4P \neq 4K$	$7P = 7K$	$3K \neq K+$	$4K \neq K-$		
$3P = 4K$	$4P = 7K$	$7P \neq K+$	$3K \neq K-$			
$3P = 7K$	$4P \neq K+$	$7P \neq K-$				
$3P \neq K+$	$4P \neq K-$					
$3P \neq K-$						

Lampiran 18. Bukti konsultasi dosen pembimbing 1



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Muhammad Riefki Pratama
NIM : 17620029
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/ 2021
Pembimbing : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Zinc terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi dari Khamir Endofit Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* Reinw.)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	12 April 2021	Pengisian Proposal	
2.	14 April 2021	Simulasi Presentasi Proposal	
3.	15 April 2021	Revisi Proposal Skripsi	
4.	15 April 2021	Acc Proposal Skripsi	
5.	28 Oktober 2021	Konsultasi Bab IV	
6.	28 Oktober 2021	Acc Naskah Skripsi	
7.			
8.			
9.			
10.			
11.			
12.			

Pembimbing Skripsi,

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

Malang, 4 November 2021
Ketua Program Studi,

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

Lampiran 19. Bukti konsultasi dosen pembimbing 2



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Muhammad Riefki Pratama
 NIM : 17620029
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2020/ 2021
 Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, M.A
 Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Zinc Terhadap Pertumbuhan Dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi Dari Khamir Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	12 Maret 2021	Konsultasi Bab I	
2.	12 Maret 2021	Konsultasi Bab II	
3.	15 Maret 2021	Acc Naskah Proposal Skripsi	
4.	01 November 2021	Konsultasi Naskah Skripsi	
5.	01 November 2021	Acc	
6.			
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