

**PENGARUH PENAMBAHAN AIR KELAPA, JENIS KHAMIR, DAN
METODE *FREEZE DRYING* TERHADAP PERTUMBUHAN DAN
KEMAMPUAN FERMENTASI KHAMIR KANDIDAT PENGEMBANG
ROTI**

TESIS

**Oleh :
ALDILA YUNIA PUTRI
NIM. 19820004**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH PENAMBAHAN AIR KELAPA, JENIS KHAMIR, DAN
METODE *FREEZE DRYING* TERHADAP PERTUMBUHAN DAN
KEMAMPUAN FERMENTASI KHAMIR KANDIDAT PENGEMBANG
ROTI**

TESIS

**Oleh :
ALDILA YUNIA PUTRI
NIM. 19820004**

**Diajukan kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Magister Sains (M.Si)**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH PENAMBAHAN AIR KELAPA, JENIS KHAMIR, DAN
METODE *FREEZE DRYING* TERHADAP PERTUMBUHAN DAN
KEMAMPUAN FERMENTASI KHAMIR KANDIDAT PENGEMBANG
ROTI**

TESIS

**Oleh :
ALDILA YUNIA PUTRI
NIM. 19820004**

**telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal : 21 Juni 2022**

Pembimbing 1



**Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509199903 2 002**

Pembimbing II



**Dr. Nur Kusmiyati, M. Si
NIP. 198908162016080 1 2061**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Biologi**



**Prof. Dr. drh. Hj. Bayvinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 19710919 2000 03 2 001**

**PENGARUH PENAMBAHAN AIR KELAPA, JENIS KHAMIR, DAN
METODE *FREEZE DRYING* TERHADAP PERTUMBUHAN DAN
KEMAMPUAN FERMENTASI KHAMIR KANDIDAT PENGEMBANG
ROTI**

TESIS

Oleh :

ALDILA YUNIA PUTRI

NIM. 19820004

**telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Tesis dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelas Magister Sains (M.Si)
Tanggal : 21 Juni 2022**

Penguji Utama	: Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M. M,Si (.....)	
	NIP. 19710919 2000 03 2 001	
Ketua Penguji	: Dr. Evika Sandi Savitri, M.P (.....)	
	NIP. 19741018200312 2 002	
Sekretaris Penguji	: Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si (.....)	
	NIP. 19650509199903 2 002	
Anggota Penguji	: Dr. Nur Kusmiyati, M. Si (.....)	
	NIP. 198908162016080 1 2061	



Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Biologi

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si

NIP. 19710919 2000 03 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya tulis ini saya persembahkan kepada kepada kedua orang tua saya, Ibu Nunuk Purwantini dan Ayah Syaiful Kholiq yang sejak saya lahir sudah merawat, mendidik, memotivasi, mencintai, dan memberikan yang terbaik tanpa kenal lelah serta selalu mendukung agar tesis ini bisa dapat diselesaikan.

Yang kedua teruntuk Suami saya, mas Wahyu Nur Afthony dan anak yang sedang saya kandung, Terima kasih atas segala kasih sayang, kekuatan, dan motivasi, Terima kasih sudah berjuang bersama-sama.

Yang ketiga kepada segenap keluarga saya, mbak Agie, Aldi, mas dayat, keponakan Jundi, Fara, Fasya, Duha, Ibu Kamsiatun, Abah Sholeh, adek Ana dan Farid yang memberi motivasi dan dukungan tanpa henti.

Dan yang terakhir saya mengucapkan terima kasih kepada diri saya yang sudah mau berusaha, keluar dari zona nyaman, dan berjuang menyelesaikan tugas ini hingga akhir.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aldila Yunia Putri

Nim : 19820004

Program Studi : Magister Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Penambahan Air Kelapa, Jenis Khamir, dan Metode *Freeze Drying* terhadap Pertumbuhan dan Kemampuan Fermentasi Khamir Kandidat Pengembang Roti

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

Malang, 09 Juni 2022

Yang membuat pernyataan



Aldila Yunia Putri

NIM. 198200044

PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS

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

Pengaruh Penambahan Air Kelapa, Jenis Khamir, dan Metode *Freeze Drying* terhadap Pertumbuhan dan Kemampuan Fermentasi Khamir Kandidat Pengembang Roti

Aldila Yunia Putri, Ulfah Utami, Nur Kusmiyati

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

ABSTRAK

C. tropicalis, *C. akabenensis* dan *H. opuntiae* merupakan khamir kandidat pengembang roti. Khamir tersebut memiliki kendala pertumbuhan dan pengawetan yang belum optimal. Air kelapa dan metode *freeze drying* merupakan alternatif yang dapat dimanfaatkan sebagai media tumbuh dan pengawetan khamir. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan air kelapa, jenis khamir dan metode *freeze drying* terhadap pertumbuhan dan kemampuan fermentasi khamir kandidat pengembang roti. Rancangan penelitian menggunakan RAL. Terdapat 3 jenis media, yaitu M1 (penambahan air kelapa 100%), M2 (penambahan air kelapa 50%), dan M3 (penambahan air kelapa 0%). Jenis khamir yang diuji terdiri atas (*C. tropicalis-1*, *C. tropicalis-2*, *H. opuntiae*, dan *C. akabenensis*). Setelah RAL, uji dilanjutkan dengan metode *freeze drying* terhadap viabilitas dan kemampuan fermentasi khamir. Berdasarkan hasil uji Anova dan Duncan taraf 5%, pertumbuhan khamir terbaik menggunakan media M2 dan *C. tropicalis-2* dengan biomassa 0,7925 gr/50 ml, kerapatan sel 3,18475, total sel $6,95 \times 10^5$ sel/ml, dan viabilitas 93%. Metode *freeze drying* menghasilkan viabilitas sel <20% dan volume adonan roti sebesar 33,55 cm³ pada tiap khamir. Kesimpulan menunjukkan penambahan air kelapa dengan konsentrasi 50% dan khamir *C. tropicalis-2* memberi pengaruh terbaik pada pertumbuhan khamir, dan metode *freeze drying* belum mampu menghasilkan viabilitas sel serta kemampuan fermentasi yang optimal.

Kata kunci : air kelapa, *freeze drying*, fermentasi, khamir, pertumbuhan

The Effect Of Coconut Water Addition, Type of Yeast, And *Freeze Drying* Methods On Growth And Fermentation Ability Of Yeast Candidate Bread Developer

Aldila Yunia Putri, Ulfah Utami, Nur Kusmiyati

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

ABSTRACT

C. tropicalis, *C. akabenensis* and *H. opuntiae* are candidate yeasts for bread development. The yeast has growth and preservation constraints that are not optimal. Coconut water and freeze drying methods are alternatives that can be used as growth media and yeast preservation. The purpose of this study was to determine the effect of adding coconut water, types of yeast and freeze drying method on the growth and fermentation ability of candidate yeast bread developers. The research design used RAL. There are 3 types of media, namely M1 (100% coconut water addition), M2 (50% coconut water addition), and M3 (0% coconut water addition). The types of yeast tested consisted of (*C. tropicalis-1*, *C. tropicalalis-2*, *H. opuntiae*, and *C. akabenensis*). After RAL, the test was continued by freeze drying method on the viability and fermentability of the yeast. Based on the results of the Anova and Duncan test at 5% level, the best yeast growth used M2 and *C. tropicalis-2* media with a biomass of 0.7925 gr/50 ml, cell density 3.18475, total cells 6.95×10^5 cells/ml, and 93% viability. Freeze drying method resulted in cell viability <20% and bread dough volume of 33.55 cm³ for each yeast. The conclusion showed that the addition of coconut water with a concentration of 50% and yeast *C. tropicalis-2* gave the best effect on yeast growth, and the freeze drying method had not been able to produce optimal cell viability and fermentation ability.

Keywords: bread, coconut water, *freeze drying*, fermentation, yeast.

تأثير إضافة ماء جوز الهند ونوع الخميرة وطريقة التجفيف بالتجميد على نمو وتخمير الخميرة المرشحة لتطوير الخبز

ألدبلا يونبا فوتري، ألفه أوتامي، نور كوسميائي

قسم علم الأحياء للماجستير، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية
مالانج

الملخص

المبيضات الاستوائية (*Candida Tropicalis*) و المبيضات أكابانينسيس (*Candida Akabenensis*) وهانسينيا سبورا أبونتييائي (*Hanseniaspora Opuntiae*) هي الخمائر المرشحة لتطوير الخبز. تحتوي الخميرة على قيود النمو والحفاظ الذي لم يكن مثاليا. يعتبر ماء جوز الهند وطريقة التجفيف بالتجميد (*freeze drying*) البدائل المستخدمة كوسيط للنمو وللحفاظ على الخميرة. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير إضافة ماء جوز الهند وأنواع الخميرة وطريقة التجفيف بالتجميد على نمو وقدرة التخمير المرشح لمطور الخبز. استخدم تصميم البحث بتصميم عشوائي بالكامل (*Completely Randomized Design*). يوجد ثلاثة أنواع من الوسائط، وهي M1 (إضافة ماء جوز الهند بنسبة 100٪)، و M2 (إضافة ماء جوز الهند بنسبة 50٪)، و M3 (إضافة ماء جوز الهند بنسبة 0٪). تتكون أنواع الخميرة المختبرة من (المبيضات الاستوائية-1 و المبيضات الاستوائية-2 وهانسينيا سبورا أبونتييائي و المبيضات أكابانينسيس. بعد التصميم العشوائي بالكامل، استمر الاختبار بطريقة التجفيف بالتجميد على صلاحية الخميرة وتخميرها. استنادا إلى نتائج اختبار أنوفا ودنكان (*Anova & Duncan*) بمستوى 5٪، يستخدم نمو الخميرة الأفضل بوسائط M2 والمبيضات الاستوائية-2 بكتلة حيوية تبلغ 0.7925 غرام / 50 مليلتر، وكثافة الخلايا 3.18475، ومجموع الخلايا 6.95 × 105 خلية / مليلتر، وصلاحية الخلية بنسبة 93٪. تنتج طريقة التجفيف بالتجميد صلاحية الخلية >20٪ وحجم عجينة الخبز 33.55 سنتيمتر³ في كل خميرة. تظهر الاستنتاجات أن إضافة ماء جوز الهند بتركيز 50٪ وخميرة المبيضات الاستوائية-2 له أفضل التأثير على نمو الخميرة، ولم تتمكن طريقة التجفيف بالتجميد من إنتاج صلاحية الخلية المثالية و إنتاج القدرة على التخمير المثالية.

الكلمات الرئيسية: ماء جوز الهند، التجفيف بالتجميد، التخمير، الخميرة، النمو

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb

Alhamdulillahirobbil 'alamin segala puji bagi Allah atas segala rahmat serta HidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir (tesis) dengan judul “Pengaruh Penambahan Air Kelapa, Jenis Khamir dan Metode *Freeze Drying* terhadap Pertumbuhan dan Kemampuan Fermentasi Khamir Kandidat Pengembang Roti”. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah mengantarkan manusia ke jalan kebenaran.

Penyusunan tesis ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Zainuddin, MA selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selalu Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Ketua Jurusan Magister Biologi Universitas Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd selaku wali dosen yang telah membimbing dan menasehati selama masa pendidikan di Jurusan Magister Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si selaku dosen pembimbing I dan Dr. Nur Kusmiyati, M.Si, selaku dosen pembimbing II. Terima kasih atas bimbingannya dalam menuntun penulisan tesis ini.
6. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyelesaian tesis ini.
7. Seluruh dosen, laboran, dan staf administrasi Jurusan Magister Biologi yang telah memberikan kemudahan, terima kasih ilmu dan nasihat selama perkuliahan.
8. Suami tercinta Wahyu Nur Afthony, S.Pd yang memberikan dukungan dan perhatian dalam penyelesaian tesis ini.

9. Kedua orang tua Bapak Syaiful Kholiq dan Ibu Nunuk Purwantini, A. Md. kedua mertua Bapak H. Sholeh, S.Pd dan Ibu Kamsiatun yang selalu memberikan doa terbaik, semangat, serta motivasi kepada penulis.
10. Teman-teman seperjuangan S2 biologi angkatan 2019 (ganjil dan genap) yang kebersamai selama perkuliahan hingga akhir
11. Teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi yang membantu penyelesaian penelitian.
12. Semua pihak yang ikut membantu dan memberi dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis berharap semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya, dan bagi para pembaca pada umumnya. Apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun penulis harapkan. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan ilmu yang bermanfaat dan melimpahkan rahmat dan ridhoNya. Aamiin

Wassalamu'alaikum wr. wb

Malang, Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAM PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PENYATAAN KEASLIHAN TULISAN.....	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
ARABIC ABSTRACT.....	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis Penelitian.....	10
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.6 Batasan Masalah	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Perspektif Islam tentang Khamir.....	12
2.2 Deskripsi Khamir	14
2.2.1 <i>Candida tropicalis</i>	15
2.2.2 <i>Candida akabenensis</i>	16
2.2.3 <i>Hanseniaspora opuntiae</i>	17
2.3 Pertumbuhan Khamir	18
2.3.1 Biomassa Sel	20
2.3.2 Kerapatan Sel	21
2.3.3 Total Sel	21
2.3.4 Viabilitas Sel	22
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Khamir.....	23
2.5 Kemampuan Fermentasi Khamir	24
2.6 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Khamir	26
2.7 Air Kelapa	27
2.8 Metode <i>Freeze drying</i>	31

2.9 Kerangka Konseptual	33
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	34
3.2 Variabel Penelitian	34
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	35
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	35
3.5 Prosedur Penelitian	36
3.5.1 Sterilisasi	36
3.5.2 Pembuatan Media	36
3.5.2.1 Pembuatan Media <i>Yeast Malt Etract Agar</i> (YMEA)	36
3.5.2.2 Pembuatan Media <i>Yeast Malt Broth</i> (YMB)	36
3.5.2.3 Pembuatan Media <i>Yeast Peptone Glucose</i> (YPG)	37
3.5.3 Subkultur Isolat Khamir dan Pembuatan Stok Isolat Khamir	37
3.5.4 Uji Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Jenis Khamir terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti	38
3.5.5 Pengamatan Pertumbuhan Sel Khamir	39
3.5.5.1 Pengamatan Biomassa Sel	39
3.5.5.2 Pengamatan Kerapatan Sel	39
3.5.5.3 Pengamatan Viabilitas Sel	40
3.5.5.4 Pengamatan Total Sel	40
3.5.6 Uji Pengaruh Metode <i>Freeze drying</i> terhadap Viabilitas Khamir Kandidat Pengembang Roti	41
3.5.7 Pengamatan Viabilitas Sel	42
3.5.8 Uji Kemampuan Fermentasi Khamir Hasil <i>Freeze drying</i>	43
3.5.9 Analisis Data	44
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Penambahan Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti	45
4.2 Pengaruh Jenis Khamir terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti	56
4.3 Pengaruh <i>Freeze drying</i> terhadap Viabilitas dan Kemampuan Fermentasi Khamir Kandidat Pengembang Roti	58
4.4 Tinjauan Hasil Penelitian dalam Perspektif Al-Qur'an	69
 BAB V KESIMPULAN	73
5.1 Kesimpulan	73
5.2 Saran	73
 DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN	78

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi air kelapa.....	30
4.1 Hasil Uji Pengaruh Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti.....	56
4.2 Viabilitas Sel Khamir pada <i>Freeze drying</i>	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Morfologi <i>Candida tropicalis</i>	15
2.2. Morfologi <i>Candida akabenensis</i>	16
2.3. Morfologi <i>Hanseniaspora opuntiae</i>	17
2.4. Metabolisme utama dari fermentasi pada khamir	25
3.1 Pola perhitungan pada <i>counting chamber</i>	41
4.1 Grafik pengaruh penambahan air kelapa terhadap pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti	45
4.2 Pengaruh air kelapa terhadap biomassa khamir kandidat pengembang roti ...	46
4.3 Pengaruh air kelapa terhadap kerapatan sel khamir kandidat pengembang roti	49
4.4 Pengaruh air kelapa terhadap total sel khamir kandidat pengembang roti	52
4.5 Pengaruh air kelapa terhadap viabilitas khamir kandidat pengembang roti ...	54
4.6 Pengamatan sel khamir menggunakan <i>haemocytometer</i>	55
4.7 Pengamatan jumlah koloni pada <i>Hanseniaspora opuntiae</i> pada pengenceran 10^{-3}	60
4.8 Pengamatan kemampuan fermentasi isolat khamir berdasarkan volume adonan roti yang telah <i>diproofing</i> selama 12 jam	66
4.9 Pengamatan kemampuan fermentasi isolat khamir berdasarkan volume adonan roti yang telah <i>diproofing</i> selama 2 jam dan dipanggang	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan prosedur penelitian	78
Lampiran 2. Pola rancangan.....	79
Lampiran 3. Hasil Pengamatan Biomassa Sel Khamir	81
Lampiran 4. Hasil Pengamatan kerapatan Sel Khamir	82
Lampiran 5. Hasil Pengamatan total Sel Khamir	83
Lampiran 6. Hasil Pengamatan viabilitas Sel Khamir	84
Lampiran 7. Viabilitas Sel setelah <i>freeze drying</i>	85
Lampiran 8. Hasil Pengamatan Kemampuan Fermentasi	87
Lampiran 9. Hasil olah Data menggunakan SPSS	89
Lampiran 10. Alat dan bahan penelitian	98
Lampiran 11. Dokumentasi penelitian	99
Lampiran 12. Hasil Uji Pendahuluan	100

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Al-Qur'an merupakan kitab suci yang berisikan ayat-ayat *tanziliyah*, mempunyai fungsi utama sebagai petunjuk bagi seluruh umat manusia dalam hubungannya dengan Tuhan, manusia, maupun alam raya. Al-Qur'an tidak hanya memaparkan tentang masalah-masalah kepercayaan (akidah), hukum, ataupun pesan-pesan moral, tetapi juga di dalamnya terdapat petunjuk untuk memahami rahasia-rahasia alam raya. Dalam arti lain, Al Qur'an merupakan pedoman bagi umat manusia yang menunjukkan kebesaran dan kebenaran Allah.

Manusia diciptakan oleh Allah dengan dua tugas, yaitu sebagai hamba Allah dan khalifah di bumi. Sebagai hamba Allah, manusia ditugaskan untuk selalu beribadah kepada Allah, sedangkan sebagai khalifah di bumi, manusia ditugaskan untuk menjadi pemimpin di bumi. Al Qur'an diturunkan oleh Allah sebagai petunjuk agar manusia dapat melaksanakan tugas tersebut. Untuk melaksanakan dan mendukung tugas tersebut, Allah menciptakan segala apa yang ada di bumi, contohnya tumbuhan dan hewan yang dapat dimanfaatkan untuk sandang dan pangan bagi manusia. Selain tumbuhan dan hewan, terdapat makhluk hidup yang berukuran mikro atau kecil, makhluk tersebut dinamakan mikroorganisme. Mikroorganisme atau jasad renik memiliki satu kesamaan, yaitu ukuran yang sangat kecil dan tidak dapat dilihat oleh mata telanjang manusia. Ilmu yang mempelajari kehidupan dan lingkungan hidupnya dinamai Mikrobiologi, suatu cabang ilmu pengetahuan yang dimulai dengan penemuan jasad renik oleh Antony van Leewenhoek.

Agar dapat memahami segala ciptaan Allah tersebut, Allah menurunkan ayat pertama ke bumi ialah *Iqra'* yang artinya bacalah. Allah menyerukan kita untuk membaca segala apa yang ada di bumi, baik secara kauliyah (firman Allah) dan kauniyah (diri kita dan alam semesta). Kata *Iqra* terdapat pada QS. Al Alaq ayat 1 sebagai berikut:

أَقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ﴿١﴾

Yang artinya: Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu yang menciptakan. (96:1)

Tafsir ayat tersebut menurut Kemenag RI yaitu Allah memerintahkan manusia membaca (mempelajari, meneliti, dan sebagainya) apa saja yang telah Ia ciptakan, baik ayat-ayatNya yang tersirat, maksudnya alam semesta (kauniyah). Membaca itu harus dengan namaNya, artinya karena Dia dan mengharap pertolonganNya. Dengan demikian, tujuan membaca dan mendalami ayat-ayat Allah itu adalah diperolehnya hasil yang diridhaiNya, yaitu ilmu atau sesuatu yang bermanfaat bagi manusia. Kata *Iqra* yang kedua ialah pada QS. Al Alaq ayat 3 sebagai berikut:

أَقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ ﴿٣﴾

Yang artinya : "Bacalah, dan Tuhanmulah Yang Mahamulia." (96:3)

Tafsir ayat tersebut menurut Kemenag RI yaitu Allah meminta manusia membaca lagi, yang mengandung arti bahwa membaca yang akan membuahkan ilmu dan iman itu perlu dilakukan berkali-kali, minimal dua kali. Bila Al-Qur'an atau alam ini dibaca dan diselidiki berkali-kali, maka manusia akan menemukan bahwa Allah itu pemurah, yaitu bahwa Ia akan mencurahkan pengetahuannya kepadanya dan akan memperkokoh imannya. Seiring perkembangan ilmu

pengetahuan dan teknologi, manusia akhirnya dapat mengenal makhluk hidup yang belum diketahui sebelumnya, seperti yang ditunjukkan oleh Al Qur'an. Pasca penemuan mikroskop, bentuk-bentuk kehidupan baru yang terlalu kecil untuk dilihat mata telanjang manusia dapat diidentifikasi yang disebut mikroorganisme. Salah satu bentuk makhluk yang kecil tersebut ialah khamir atau ragi.

Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik uniselular yang tergolong dalam kingdom fungi (Pelczar & Cha, 2005). Khamir hidup di berbagai tempat, terutama air, udara, tanah, dan permukaan tanaman dan buah (Maicas, 2020). Khamir dapat memanfaatkan gula sederhana untuk menghasilkan energi (Suryaningsing, dkk, 2018). Khamir memiliki banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari, antara lain sebagai agen pengembang roti. Kontribusi khamir dalam pembuatan roti ialah merombak gula pada adonan menjadi gas karbondioksida dan alkohol (Sitepu, 2019). Adanya gas karbondioksida dan alkohol menyebabkan adonan mengembang, tekstur lembut, serta roti menjadi harum (Poutanen, *et al.*, 2009).

Khamir yang umum digunakan dalam pembuatan roti ialah *khamir Saccharomyces cerevisiae* (Maicas, 2020). Namun selain *Saccharomyces cerevisiae*, terdapat isolat khamir yang berpotensi dalam mengembangkan adonan roti yang disebut khamir non *Saccharomyces*, seperti *Wickermomyces anomalus*, *Torulaspota delbrueckii* yang menunjukkan karakteristik khas dari fermentasi adonan dan berpotensi dalam pembuatan roti (Li & Cui, 2019). Upaya ini dilakukan untuk mengeksplorasi khamir lain yang dapat digunakan sebagai agen

pengembang roti di masa yang akan datang. Khamir tersebut dapat dinamakan khamir kandidat pengembang roti.

Khamir kandidat pengembang roti yang digunakan dalam penelitian ini merupakan khamir yang digunakan pada penelitian sebelumnya yang diisolasi dari buah lokal di Indonesia. Berdasarkan penelitian Darajah (2020) dan Anjani (2020), terdapat khamir yang diisolasi dari buah-buahan yang berpotensi dalam mengembangkan adonan roti, antara lain *Candida tropicalis* yang diisolasi dari jagung manis, *Candida akabenensis* dan *Hanseniaspora opuntiae* yang diisolasi dari nira tebu tebu. Penelitian tersebut melaporkan bahwa khamir dengan spesies *Candida tropicalis*, *Candida akabenensis*, dan *Hanseniaspora opuntiae* berpotensi menjadi agen pengembang roti dilihat dari uji biokimia yang telah dilakukan. Berdasarkan uji biokimia, khamir tersebut mampu memanfaatkan glukosa yang merupakan karakteristik khamir pengembang roti.

Kemudian penelitian lebih lanjut dilakukan oleh Indriana (2021) dan Hanifah (2021), menjelaskan bahwa khamir *Candida tropicalis*, *Candida akabenensis*, dan *Hanseniaspora opuntiae* mampu mengembangkan adonan roti. Pada khamir *Candida tropicalis* dan *Candida akabenensis* mampu menghasilkan volume roti sebesar 200,96 cm³ dan pada *Hanseniaspora opuntiae* menghasilkan volume adonan roti sebesar 125,6 cm³. Hasil tersebut memiliki potensi yang baik jika dibandingkan kontrol positif menggunakan khamir komersial merek fermipan yang menghasilkan volume adonan roti 200,96 cm³. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa *C. tropicalis*, *C. akabenensis* dan *H. opuntiae* berpotensi untuk dipilih menjadi khamir kandidat pengembang roti yang digunakan dalam penelitian ini.

Pertumbuhan dan kemampuan fermentasi dari beberapa jenis khamir kandidat pengembang roti yang digunakan pada penelitian ini belum sepenuhnya optimal merupakan kendala yang dihadapi karena walaupun mencapai volume yang sebanding dengan kontrol positif, waktu yang diperlukan untuk mengembangkan roti masih lebih lambat dibanding kontrol positif. Faktor penyebabnya yaitu biomassa dan jumlah sel yang kurang optimal. Menurut Pelchzar & Chan (2005), konsentrasi mikroba merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi hasil fermentasi. Semakin banyak konsentrasi maka semakin banyak hasil fermentasi yang dihasilkan. Konsentrasi mikroba dalam proses fermentasi ialah biomassa khamir saat dipanen.

Biomassa khamir merupakan hasil dari pertumbuhan khamir yang memiliki karakteristik penting dalam proses fermentasi. Biomassa mengandung mikroba yang akan mengubah karbohidrat menjadi gas karbondioksida dan alkohol. Menurut Maryana, *et al* (2020), semakin tinggi konsentrasi khamir maka semakin tinggi hasil fermentasi yang dihasilkan. Menurut Sitepu (2019), semakin banyak khamir yang ditambahkan maka daya kembang adonan akan semakin besar. Untuk menghasilkan dan memperbanyak khamir diperlukan media atau nutrisi yang mendukung khamir untuk tumbuh.

Wahono (2010) menyatakan bahwa khamir seperti mikroorganisme yang lain memerlukan medium dan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangbiakkannya. Suplementasi media fermentasi dengan nutrisi tertentu dapat meningkatkan viabilitas dan laju fermentasi (Struyf, 2017). Media yang sesuai akan meningkatkan pertumbuhan khamir, dan menyediakan kebutuhan bagi sel supaya dapat tumbuh sehingga menghasilkan banyak sel yang serupa. Oleh

karena itu, untuk meningkatkan pertumbuhan khamir diperlukan media yang mendukung pertumbuhan khamir. Media yang umum digunakan dalam laboratorium dalam menumbuhkan khamir ialah media *Yeast Peptone Glucose* (YPG).

Selain penggunaan media YPG sebagai media tumbuh khamir, diketahui bahwa khamir dapat tumbuh pada media yang mengandung gula atau karbohidrat. Karakteristik tersebut dapat dijadikan landasan atau acuan ketika akan memproduksi khamir dengan skala besar, diperlukan media yang mengandung nutrisi yang sesuai dan ekonomis. Pada penelitian Hardianto, dkk (2018), limbah air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan pada khamir *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae* dapat menggunakan karbohidrat sederhana yang terdapat dalam pada air kelapa tersebut. Unsur karbon dalam air kelapa berupa karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, inositol, dan sorbitol sehingga mudah digunakan sebagai media pertumbuhan khamir. Penelitian Saraswati (2014) juga melaporkan tentang potensi air kelapa sebagai media pertumbuhan khamir, hasil penelitian menjelaskan bahwa air kelapa memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan khamir, dengan konsentrasi air kelapa 100% menghasilkan jumlah koloni *Saccharomyces* yang paling tinggi sebesar $3,2 \times 10^7$ sel/ml dibandingkan konsentrasi 75%, 50%, dan 25%.

Pemanfaatan air kelapa merupakan alternatif yang dapat dilakukan karena air kelapa mengandung nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh khamir. Vigliar *et al.*, (2006) menyatakan bahwa air kelapa mengandung 95,5% air, 4% gula, 0,1 lemak, 0,02% kalsium, 0,01% fosfor, 0,5% zat besi, sejumlah besar asam amino, mineral garam, vitamin B kompleks, vitamin C dan sitokin. Kandungan yang kaya akan

nutrisi dalam air kelapa digunakan secara luas dalam kultur jaringan tanaman, menumbuhkan jamur dan mikroba lain (Renato *et al.*, 2009). Adanya kandungan gula dan komponen lain dapat menggantikan media YPG sebagai media tumbuh khamir. Selain itu, air kelapa yang terkadang tidak dimanfaatkan dapat digunakan sebagai media tumbuh khamir sehingga dapat meminimalisir biaya produksi khamir dan bernilai ekonomis.

Penentuan penggunaan dan konsentrasi air kelapa yang digunakan dalam penelitian ini didukung dengan dilakukannya uji pendahuluan sebelum penelitian berlangsung. Tujuannya agar menghasilkan hasil yang diinginkan. Berdasarkan uji pendahuluan, diperoleh hasil bahwa air kelapa dapat menumbuhkan khamir. Hasil tersebut ditunjukkan dengan adanya kekeruhan pada media air kelapa dibandingkan media air kelapa tanpa diinokulasi khamir. Air kelapa menunjukkan hasil lebih baik dibandingkan molase dan YPG. Air kelapa dengan konsentrasi 50% (25 ml air kelapa dan 25 ml YPG) menghasilkan biomassa sebesar 1.28 gr/50 ml dengan nilai OD (optical density) 2,842, sedangkan pada molase 50% (25 ml molase dan 25 ml YPG) menghasilkan 1,18 gr/50 ml dengan nilai OD 2,666 dan pada YPG menghasilkan 1,1 gr/50 ml dengan nilai OD 2,661. Hasil uji pendahuluan dapat dilihat pada lampiran 12. Berdasarkan hasil uji pendahuluan tersebut, pada penelitian ini digunakan air kelapa dengan konsentrasi 100%, 50%, dan 0%.

Selain biomassa, khamir kandidat pengembang roti juga perlu penyimpanan atau pengawetan agar khamir dapat disimpan dan mudah digunakan. Penggunaan khamir secara langsung saat digunakan sebagai pengembang roti akan membutuhkan banyak biaya dan tenaga, untuk lebih menghemat biaya dan tenaga,

diperlukan metode yang sesuai untuk menjaga viabilitas khamir atau mengawetkan khamir. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah teknik *freeze drying*.

Menurut Puspawati, dkk (2010), *freeze drying* merupakan teknik yang umumnya digunakan untuk mengawetkan kultur. Metode ini juga dikenal dengan metode *lyophilisation*/liofilisasi. Prinsip dasar pengeringan beku adalah proses menghilangkan kandungan air dalam suatu bahan atau produk yang telah beku. Liofilisasi terdiri atas beberapa tahapan yaitu pengkulturan sel, penambahan kultur sel dengan agen protektan, pembekuan, liofilisasi/*freeze drying*, penyimpanan, rehidrasi, dan pemulihan sel. Sumanti, dkk., (2016), melaporkan bahwa penggunaan *freeze drying* pada kultur bakteri *L. plantarum* menghasilkan viabilitas 97,7% yang menunjukkan bahwa proses pengeringan mampu mempertahankan kelangsungan hidup mikroba.

Terdapat komponen penting yang perlu diperhatikan dalam proses *freeze drying* yaitu bahan penyalut. Bahan penyalut merupakan bahan yang digunakan untuk melapisi bahan inti (mikroorganisme) dengan tujuan tertentu seperti menutupi rasa dan bau yang tidak enak, perlindungan terhadap pengaruh lingkungan, meningkatkan stabilitas, dan mencegah penguapan. Menurut Rizqianti (2006), penggunaan protein sebagai penyalut dapat mempertahankan ketahanan bakteri. Puspawati dkk (2010) melaporkan hasil penelitian bahwa bahan pelindung yang paling baik digunakan untuk melindungi kultur kering adalah susu skim. Indrawati (2018) menambahkan bahwa susu skim merupakan bahan penyalut yang umum digunakan pada metode *freeze drying*. Pada *Candida*, tingkat kelangsungan hidup 28,9% ketika ditambahkan susu skim. Susu skim dengan

konsentrasi 15% mampu menghasilkan viabilitas tertinggi pada mikroba yang disimpan melalui proses *freeze drying* (Clarizza, 2015).

Berdasarkan latar belakang diatas, penambahan air kelapa, jenis khamir dan metode *freeze drying* belum banyak dilakukan pada khamir kandidat pengembang roti sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan air kelapa, jenis khamir dan metode *freeze drying* terhadap pertumbuhan dan kemampuan fermentasi khamir kandidat pengembang roti.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini antara lain:

1. Bagaimana pengaruh penambahan air kelapa terhadap pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti?
2. Bagaimana pengaruh jenis khamir terhadap pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti?
3. Bagaimana pengaruh metode *freeze drying* terhadap viabilitas sel dan kemampuan fermentasi khamir kandidat pengembang roti?

1.3 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan air kelapa terhadap pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti.
2. Untuk mengetahui pengaruh jenis khamir terhadap pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti.
3. Untuk mengetahui pengaruh metode *freeze drying* terhadap viabilitas sel dan kemampuan fermentasi khamir kandidat pengembang roti.

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah dan tujuan penelitian yang telah dilaporkan, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Jika H₀ diterima, maka penambahan air kelapa, jenis khamir, dan metode freeze drying tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kemampuan fermentasi khamir kandidat pengembang roti.
2. Jika H₁ diterima, maka penambahan air kelapa, jenis khamir, dan metode freeze drying berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kemampuan fermentasi khamir kandidat pengembang roti.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang pengaruh penambahan air kelapa, jenis khamir dan *freeze drying* terhadap pertumbuhan khamir.
2. Memberikan wawasan tambahan dan informasi tentang khamir yang dapat dimanfaatkan sebagai agen pengembang roti.
3. Memberikan informasi yang dapat dijadikan acuan penelitian selanjutnya.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini antara lain:

1. Air kelapa yang digunakan yaitu air kelapa muda yang didapatkan dari pasar tradisional Landungsari, kota Malang, Jawa Timur
2. Khamir yang digunakan merupakan khamir koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

3. Terdapat 4 (empat) khamir yang digunakan yaitu Y1 (*Candida tropicalis-1*), Y2 (*Candida tropicalis-2*), Y3 (*Hansenispora opuntiae*), dan Y4 (*Candida akabenensis*).
4. Terdapat 3 (tiga) konsentrasi air kelapa yang digunakan yaitu M1 (penambahan air kelapa 100%), M2 (penambahan air kelapa 50%), dan M3 (penambahan air kelapa 0%).
5. Penggunaan metode *freeze drying* tanpa variasi perlakuan, hanya merujuk pada satu perlakuan terpilih berdasarkan literatur.
6. Parameter pertumbuhan khamir yang diamati pada pengujian media perlakuan air kelapa dan jenis khamir meliputi biomassa, kerapatan sel, total sel, dan viabilitas sel.
7. Parameter yang diamati pada pengujian metode *freeze drying* meliputi viabilitas sel dan kemampuan fermentasi khamir (volume adonan roti).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Perspektif Islam tentang Khamir

Mikroorganisme atau mikroba adalah organisme yang berukuran kecil sehingga untuk mengamati membutuhkan bantuan sarana yang diperlukan. Mikroorganisme juga disebut organisme mikroskopis. Mikroorganisme dapat bersifat uniselular atau multiseluler. Dalam mikrobiologi kita dapat mempelajari banyak segi mengenai jasad-jasad renik/mikroorganisme ini: habitatnya, ciri-cirinya, kekerabatannya, dan peranannya dalam kehidupan sehari-hari (Pelczar & Chan, 2005).

Adanya mikroorganisme ini juga dijelaskan dalam Al Qur'an secara tersirat, sebagaimana yang ada pada QS. Yasin ayat 36 dan An-Nahl ayat 8:

إِنَّا جَعَلْنَا فِي أَعْيُنِهِمْ أَغْلًا فَهِيَ إِلَى الْأَذْقَانِ فَهُمْ مُقْمَحُونَ ﴿٣٦﴾

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

وَالْخَيْلَ وَالْبِغَالَ وَالْحَمِيرَ لِتَرْكَبُوهَا وَزِينَةً وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ﴿٨﴾

Yang artinya : “Dan (Dia telah menciptakan) kuda, bagal, dan keledai, untuk kamu tunggangi dan (menjadi) perhiasan, Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui” (An-nahl/16:8).

Frasa “dari apa yang tidak mereka ketahui” dan “Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui” pada dua ayat mengindikasikan adanya bentuk-bentuk kehidupan yang belum diketahui oleh manusia pada saat wahyu Al-Qur'an turun. Saat itu, kuda dan keledai telah diketahui dan dimanfaatkan oleh bangsa Arab

untuk ditunggangi. Bagal, hewan hasil kawin silang kuda betina dengan keledai jantan bahkan sudah dikenal. Hewan-hewan yang sudah diketahui oleh masyarakat pada masa Al-Qur'an turun ini disandingkan dengan sesuatu yang tidak atau belum mereka ketahui, dan dijanjikan untuk diketahui di masa mendatang, diantaranya adalah jasad renik/mikroorganisme (Lajnah Pentashihan Mushaf, 2015). Kemungkinan pada jaman dahulu jasad renik ini belum diketahui keberadaannya karena ukuran dari jasad renik mikroskopis (kecil) tak bisa dilihat dengan mata telanjang. Namun seiring berkembangnya jaman, kini jasad renik dapat diketahui atau dilihat menggunakan mikroskop.

Al Qur'an bahkan berbicara tentang ilmu mikrobiologi dalam QS. Saba ayat 22 :

قُلْ أَدْعُوا الَّذِينَ زَعَمْتُمْ مِّنْ دُونِ اللَّهِ لَا يَمْلِكُونَ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ فِي السَّمَوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَمَا هُمْ فِيهِمَا مِنْ شَرِكٍ وَمَا لَهُ مِنْهُمْ مِّنْ ظَهِيرٍ ﴿٢٢﴾

Yang artinya : katakanlah (Muhammad), “serulah mereka yang kamu anggap (sebagai tuhan) selain Allah! Mereka tidak memiliki (kekuasaan) seberat zarah pun di langit dan di bumi, dan mereka sama sekali tidak mempunyai peran serta dalam (penciptaan) langit dan bumi dan tidak ada di antara mereka yang menjadi pembantu bagi-Nya” (34:22)

Kata *zarah* pada ayat ini berarti benda yang sangat kecil. Katakanlah, dari sudut pandang manusia, benda itu termasuk jasad renik atau molekul atom. Melalui ayat ini Allah mengajari manusia bahwa hanya Dia-lah yang mengatur kehidupan dalam dunia jasad renik yang sangat luas. Dunia jasad renik “tersembunyi” dari manusia, dan mereka tidak memiliki kontrol apapun atasnya. Jasad renik memiliki ukuran sangat kecil, salah satu contohnya ialah khamir.

2.2 Deskripsi tentang Khamir

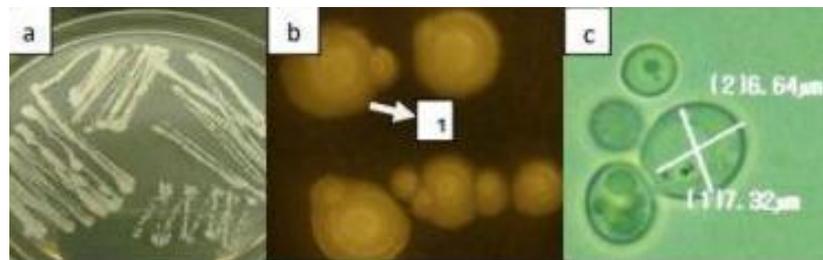
Khamir adalah mikroorganisme eukariotik yang tergolong dalam kingdom Fungi (Pelczar & Chan, 2005). Khamir hidup diberbagai relung ekologi, terutama air, udara, tanah, dan di permukaan tanaman dan buah (Maicas, 2020). Bentuk sel khamir beraneka ragam, seperti bulat, oval, batang, segitiga melengkung, berbentuk botol, bentuk apikulat atau lemon, dan membentuk pseudomiselium. Ukuran sel khamir lebih besar dari sel bakteri. Umumnya sel khamir memiliki lebar mulai 1-5 μm dan panjang 5-30 μm dan sel khamir tidak memiliki flagella (alat gerak) (Pelczar & Chan., 2005). Reproduksi khamir menggunakan pertunasan, dan pembelahan (Oca, *et al.*, 2016).

Pemanfaatan khamir dalam bidang industri sudah berlangsung cukup lama. Khamir dapat berkontribusi pada pembusukan buah yang matang dan berpartisipasi dalam proses fermentasi (Maicas, 2020). Hal tersebut disebabkan karena khamir memiliki potensi yang membantu berbagai proses pembuatan produk industri, seperti industri makanan, minuman, pengolahan limbah, pembuatan bahan kimia, dan lain sebagainya (Nasir *et al.*, 2017). Salah satu industri makanan yang memanfaatkan khamir ialah dalam pembuatan roti.

Khamir kandidat pengembang roti ialah khamir yang berpotensi sebagai agen pengembang roti. Khamir yang pada umumnya dimanfaatkan dalam industri pangan ialah *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* umumnya dikenal sebagai ragi roti atau ragi pembuat bir yang telah digunakan selama berabad-abad (Oca, *et al.*, 2016). Diantara khamir, *Saccharomyces cerevisiae* penting dalam industri karena kemampuannya untuk mengubah gula (glukosa, maltose) menjadi etanol dan karbon dioksida.

2.2.1 *Candida tropicalis*

Koloni *Candida* berwarna krem sampai kekuningan, tumbuh dengan cepat, dan matang dalam 3 hari. Tekstur koloni mungkin pucat, halus, berkilau atau kering, berkerut, dan kusam, tergantung pada spesiesnya. Sel muncul dalam bentuk yang berbeda: globose, ellipsoidal, silindris atau memanjang, dan kadang-kadang ogival, segitiga, atau bulan sabit (Hommel, 2014)



Gambar 2.1. Morfologi *Candida tropicalis* (a. makroskopis, b. mikroskopis, c ukuran sel secara mikroskopis) (Anjani, 2019)

Klasifikasi *Candida tropicalis* antara lain sebagai berikut (IT IS, 2022):

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycota
Kelas	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida tropicalis</i>

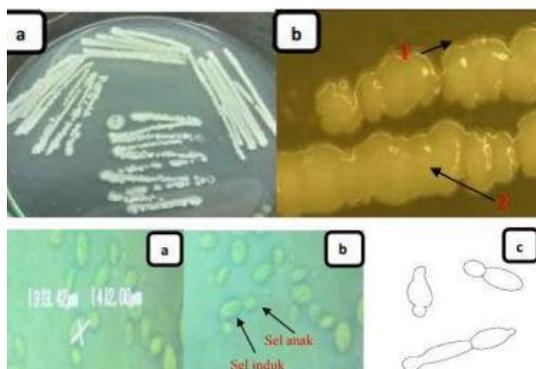
Candida tropicalis merupakan salah satu agen mikroba yang dapat memfermentasi bioethanol dari bahan lignoselulosa. Diketahui etanol yang dihasilkan mirip dengan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* rekombinan yang mengekspresikan amilase dan glukamilase. Hasil menunjukkan

bahwa *Candida tropicalis* dapat diaplikasikan sebagai mikroba agen untuk biokonversi biomassa lignocellulose menjadi etanol (Hermansyah, *et al.* 2016). *C. tropicalis* yang dipadukan dengan *S. cerevisiae* memiliki karakteristik yang lebih baik dalam fermentasi sorgum daripada *S. cerevisiae* dalam keadaan murni. Hal tersebut menunjukkan bahwa *C. tropicalis* berkontribusi terhadap kualitas bir sorgum (Guessan, *et al.* 2010).

2.2.2 *Candida akabenensis*

Candida merupakan salah satu amilolitik yang ditemukan pada berbagai jenis produk fermentasi. *Candida akabenensis* banyak ditemukan dan digunakan dalam proses fermentasi berbagai jenis makanan karena memiliki kemampuan tertentu. *Candida akabenensis* adalah termotoleran dan digunakan dalam proses sakarifikasi fermentasi alkohol dari ampas singkong (Damayanti *et al.*, 2020).

Morfologi koloni *Candida akabenensis* memiliki warna putih sampai krem, koloni bulat, reproduksi vegetatif dengan membentuk budding, dan tidak memiliki reproduksi seksual. *Candida akabenensis* dapat ditemukan pada molase, air, buah, ragi, dan manusia. *Candida akabenensis* termasuk kosmopolit atau mampu hidup di berbagai tempat. Beberapa jenis *Candida* banyak ditemukan di buah-buahan (Suryaningsih, dkk., 2018).



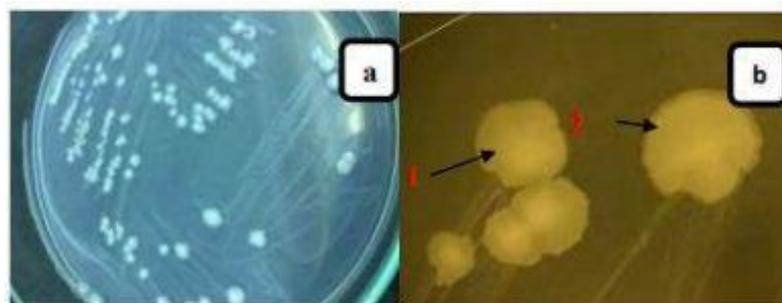
Gambar 2.2 Morfologi *Candida akabenensis* (a. makroskopis, b. mikroskopis, c bentuk sel) (Darojah, 2019)

Klasifikasi *Candida akabenensis* antara lain sebagai berikut (IT IS, 2022):

Kingdom : Fungi
Divisi : Ascomycota
Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida akabenensis*

2.2.3 *Hanseniaspora opuntiae*

Hanseniaspora opuntiae diklasifikan ke dalam kelompok Ascomycetes. Pada umumnya ditemukan pada buah kurma, anggur, buah ara dan di tanah (Kurtzman, 2001). *Hanseniaspora opuntiae* mampu memfermentasi glukosa dan selobiosa. Isolasi khamir dari air sulingan tebu didapatkan spesies khamir dari genus *Hanseniaspora*, diantaranya *Hanseniaspora opuntiae* dan *Hanseniaspora vineae*. Khamir ini memiliki kemampuan fermentasi yang lamban. keduanya dapat dijumpai pada buah-buahan dan telah diisolasi dari fermentasi tebu (Portugal *et al*, 2020).



Gambar 2.3. Morfologi *Hanseniaspora opuntiae* (a. makroskopis, b. mikroskopis) (Darajah, 2019)

Klasifikasi *Hanseniaspora opuntiae* antara lain sebagai berikut (IT IS, 2022):

Kingdom : Fungi
Divisi : Ascomycota
Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : Hanseniaspora
Spesies : *Hanseniaspora opuntiae*

Genus *Hanseniaspora* berkontribusi positif terhadap profil aroma apel yang difermentasi, khamir tersebut menghasilkan alkohol yang lebih tinggi (Pietrowski, et al. 2012). *Hanseniaspora* termasuk khamir non-Sacchromyces yang berpotensi dalam fermentasi. Khamir dari genus *Hanseniaspora* adalah spesies utama yang ada pada anggur dewasa dan memainkan peran penting pada awal fermentasi. Khamir tersebut menghasilkan enzim dan senyawa aroma yang memperbanyak keragaman warna dan rasa anggur. Sepuluh spesies dari genus *Hanseniaspora* telah ditemukan dari anggur dan berasosiasi dalam dua kelompok, *H. valbyensis*, *H. guilliermondii*, *H. uvarum*, *H. opuntiae*, *H. thailandica*, *H. meyeri*, dan *H. clermontiae*; dan *H. vineae*, *H. osmophila*, dan *H. Occidentalis* (Martin et al., 2018).

2.3 Pertumbuhan Khamir

Pertumbuhan pada mikroorganisme diartikan sebagai penambahan jumlah atau total massa sel yang melebihi inokulum asalnya. Pertumbuhan merupakan suatu proses kehidupan yang irreversibel artinya tidak dapat dibalik kejadiannya

(pusdik, 2018). Pertumbuhan didefinisikan sebagai penambahan kuantitas konstituen seluler dan struktur organisme yang dapat dinyatakan dengan ukuran, diikuti penambahan jumlah, penambahan ukuran sel, penambahan berat atau massa dan parameter lain. Sebagai hasil penambahan ukuran dan pembelahan sel atau penambahan jumlah sel maka terjadi pertumbuhan populasi mikroba. Semakin baik zat nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar (Pusdik, 2018).

Pertumbuhan khamir merupakan penambahan massa, ukuran, maupun jumlah sel mikroorganisme. Pertumbuhan khamir memperlihatkan fase-fase pertumbuhan yang terjadi bila diinokulasikan pada media biakan dalam sistem tertutup pada fermentasi. Kurva pertumbuhan khamir terbagi dalam empat fase yaitu:

1. Fase Adaptasi (Lag)

Fase lag berlangsung segera setelah inokulasi pada medium yang baru dan merupakan periode adaptasi. Fase ini merupakan fase penyesuaian terhadap lingkungan tempat mikroorganisme ditumbuhkan. Fase lag dapat sangat pendek atau berkepanjangan. Jika kultur khamir yang digunakan berada pada fase eksponensial dan dinokulasikan pada medium dengan komposisi dan kondisi yang sama maka khamir tidak mengalami fase lag.

2. Fase Eksponensial (log)

Fase pertumbuhan eksponensial merupakan periode pertumbuhan seimbang. Periode pertumbuhan seimbang merupakan pertumbuhan dalam status mantap dengan laju pertumbuhan spesifik konstan. Pada fase eksponensial setiap sel pada populasi mengalami pertumbuhan maksimal sehingga biomassa sel meningkat.

3. Fase Stasioner

Pada fase ini sel menjadi tua mendekati populasi maksimum, laju pembiakan berkurang dan beberapa sel mati karena menyusutnya nutrisi dalam substrat pertumbuhannya. Metabolisme pada fase ini masih berlangsung, terlihat dengan melimpahnya produk metabolisme yang cenderung menumpuk. Sel dalam keadaan tersuspensi dan pertumbuhan sel konstan.

4. Fase Kematian

Jika inkubasi tetap dilanjutkan setelah populasi mencapai fase stasioner, ada kemungkinan sel tetap hidup dan melanjutkan metabolisme atau mati. Pada fase ini jumlah sel akan berkurang karena nutrisi dalam substrat serta cadangan makanan di dalam sel telah habis. Pada proses untuk tujuan komersial, fermentasi dihentikan pada akhir fase eksponensial atau sebelum mulai fase kematian.

2.3.1 Biomassa

Biomassa dapat didefinisikan sebagai material organik yang terbarukan karena bersumber dari berbagai variasi bahan organik yang tersedia di alam. Mikroorganisme adalah salah satu sumber penghasil biomassa yang paling potensial. Mikroorganisme memiliki kemampuan mensintesis beberapa komponen penting yang diakumulasikan sebagai biomassa (Aratboni *et al*, 2019). Biomassa didapatkan dari proses pemanenan mikroorganisme. Terdapat dua jenis biomassa yaitu biomassa basah dan biomassa kering. Biomassa basah memiliki massa yang lebih berat karena tidak melalui proses pengeringan atau penghilangan kandungan air. Biomassa basah didapatkan dari proses sentrifugasi yang dilakukan menggunakan *sentrifuge* setelah proses fermentasi berlangsung, sedangkan

biomassa kering didapatkan dari proses sentrifugasi lalu pengeringan (Rozana *et al*, 2021)

2.3.2 Kerapatan Sel

Kerapatan sel merupakan salah satu parameter pertumbuhan, nilai kerapatan sel dapat dilihat dari tingkat kekeruhan pada suatu media yang ditunjukkan dengan nilai *Optical Density* (OD). Nilai kerapatan menunjukkan pertumbuhan mikrobial uji dibandingkan dengan blanko standar. Bakteri yang bermultiplikasi pada media cair akan menyebabkan media menjadi keruh. Alat yang digunakan untuk pengukuran adalah spektrofotometer atau kolorimeter dengan cara membandingkan OD antara media tanpa pertumbuhan bakteri dan media dengan pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008).

Spektrofotometer dapat mengukur kepekatan sel dalam suspensi dalam %T (transmittance) atau OD (jumlah cahaya yang diabsorpsi dan disebarkan). Dalam mikrobiologi digunakan OD sebagai satuan hitungan, karena OD sebanding dengan kepekatan sel dalam suspensi biakan. Pada spektrofotometer, berkas cahaya ditransmisikan melalui suspensi bakteri lalu diteruskan ke detektor sensitif cahaya. Jika jumlah bakteri meningkat, sedikit cahaya yang akan diteruskan ke detektor. Perubahan intensitas cahaya akan terlihat pada skala yang terdapat pada alat, yaitu nilai absorbans atau densitas optik (optical density) (Radji, 2010).

2.3.3 Total Sel

Salah satu metode kuantitatif yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel yaitu *haemocytometer*. *Haemocytometer* merupakan sebuah alat yang pada awalnya hanya digunakan untuk menghitung sel darah baik sel darah merah

maupun sel darah putih. Alat ini memiliki garis-garis pada permukaan kacanya yang dapat mempermudah perhitungan dan pengamatan sel. Keuntungan dari penggunaan *haemocytometer* yaitu dapat untuk menghitung sel yang mati maupun sel yang hidup tergantung jenis pewarna apa yang digunakan.

2.3.4 Viabilitas Sel

Viabilitas adalah kemampuan atau daya hidup sel untuk tumbuh secara normal pada kondisi optimal. Jumlah mikroba hidup harus cukup untuk memberikan efek positif dan mampu berkolonisasi sehingga dapat mencapai jumlah yang diperlukan selama waktu tertentu (Sumanti *et al*, 2016). Apabila jumlah sel yang hidup semakin banyak dibandingkan dengan jumlah sel yang mati maka dapat menunjukkan kemampuan pertumbuhan dan perkembangan sel yang tinggi (Takeuchi, 2014).

Analisa viabilitas khamir dapat dihitng dengan metode TPC dengan pengenceran bertingkat. Metode TPC dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam suatu kultur dengan cara menghitung koloni mikroorganisme yang ditumbuhkan pada media agar (Yunita, dkk., 2015). Peningkatan dan penurunan pertumbuhan jumlah sel khamir yang tumbuh dapat diakibatkan karena viabilitas mikroorganisme dipengaruhi oleh kondisi lingkungan atau faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan khamir pada medium seperti suhu, pH, waktu inkubasi dan konsentrasi substrat yang digunakan oleh khamir untuk tumbuh (Rahman, dkk., 2013).

2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Khamir

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan khamir antara lain (Madigan, 2022) :

1. Konsentrasi substrat

Pertumbuhan khamir dipengaruhi oleh konsentrasi komponen-komponen penyusun substrat pertumbuhan. Suplai karbon merupakan sumber yang paling berpengaruh pada pertumbuhan optimal. Substrat pertumbuhan harus mencakup senyawa-senyawa yang diperlukan untuk suplai energi. Khamir dapat tumbuh dengan baik pada medium yang mengandung glukosa sebagai sumber nutrisi organik. Substrat dalam proses fermentasi akan digunakan terutama untuk pertumbuhan biomassa, pemeliharaan (maintenance) sel dan pembentukan produk metabolit.

2. Derajat keasaman (pH)

Khamir memiliki batas toleransi pH maksimum dan minimum untuk pertumbuhannya. Pada interval tertentu terdapat nilai pH yang mendukung berlangsungnya pertumbuhan optimum. Khamir dapat hidup pada rentang derajat keasaman yang luas (pH 3,0-8,0) dengan pH optimum antara 4,0-6,5. Umumnya khamir tidak dapat tumbuh pada media basal.

3. Suhu

Pertumbuhan merupakan serangkaian reaksi biokimia di dalam tubuh organisme. Reaksi-reaksi biokimia tersebut dipengaruhi oleh suhu. Suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 30 °C, sedangkan suhu minimumnya adalah 9-11°C dan suhu maksimumnya adalah 35-37°C.

4. Aerasi dan agitasi

Aerasi dan agitasi berfungsi untuk menyediakan oksigen secara merata untuk pertumbuhan dan untuk mengaduk suspensi sel. Pada prinsipnya aerasi dan agitasi dapat didasarkan pada dua segi yaitu kebutuhan mikroorganisme akan oksigen dan tersedianya oksigen dari gelembung udara. Gelembung udara tersebut dengan proses agitasi dipecahkan menjadi gelembung-gelembung yang lebih kecil supaya diperoleh permukaan kontak yang lebih besar, waktu tinggal oksigen yang lebih lama, dan perpindahan oksigen (*oxygen transfer*) terhadap sel yang lebih baik sehingga produksi biomassa sel berjalan dengan baik. Kecepatan aerasi yang efektif untuk pertumbuhan sel khamir dalam fermentor adalah 1,5-3,0 liter per menit per liter substrat.

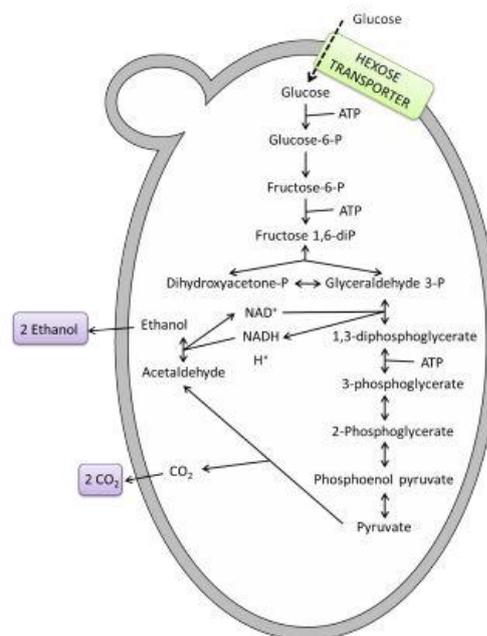
5. Akumulasi hasil metabolisme

Akumulasi hasil metabolisme sel khamir dapat menghambat pertumbuhan khamir. Fermentasi untuk produksi biomassa sel khamir maka oksigen harus cukup tersedia. Jika oksigen yang tersedia kurang atau terlalu tinggi maka banyak terbentuk hasil metabolisme dan hasil antara. Produk-produk hasil metabolisme dan hasil antara tersebut merupakan penghambat pertumbuhan khamir.

2.5 Kemampuan Fermentasi Khamir

Fermentasi adalah proses alami yang dikenal selama ribuan tahun, tujuan dasar proses ini ialah pembuatan minuman beralkohol, roti, dan produk sampingan. Dari sudut pandang biokimia, fermentasi adalah proses metabolisme organisme dalam mengubah karbohidrat, seperti pati atau gula menjadi alkohol atau asam. Sebagai contoh khamir melakukan fermentasi untuk mendapatkan

energi dengan mengubah gula menjadi alkohol. Pada tahun 1850-an dan 1860-an, ahli kimia dan mikrobiologi, Louis Pasteur menjadi ilmuwan pertama yang mempelajari fermentasi. Fermentasi dilakukan oleh khamir dan beberapa bakteri saat piruvat dihasilkan dari metabolisme glukosa dipecah menjadi etanol dan karbon dioksida (Gambar 1) (Maicas, 2020).



Gambar 2.4. Metabolisme utama dari fermentasi pada khamir (Maicas, 2020)

Fermentasi dilakukan oleh khamir dalam berbagai bidang industri, terutama bidang fermentasi makanan maupun minuman (Suryaningsih, 2018). Mikroorganisme seperti khamir, jamur, dan bakteri telah digunakan untuk pengolahan makanan dan produksi minuman berbuih atau minuman beralkohol (Young, 2007). Kemampuan fermentasi khamir ialah mengubah gula (glukosa, maltose) menjadi dua adenosine trifosfat, etanol dan karbon dioksida. Karbon dioksida yang dihasilkan di dalam adonan menyebabkan mengembang. Pada khamir roti, strain yang menghasilkan karbon dioksida lebih umum daripada

etanol, sebaliknya pada industri pembuatan bir lebih umum etanol daripada karbon dioksida (Oca, *et al.*, 2016).

Karakteristik khamir sebagai agen pengembang roti antara lain kemampuan fermentasi atau meragi yang tinggi, toleransi osmosis, toleransi beku, toleransi kimiawi, pemanfaatan melibiose, kemampuan penyimpanan yang baik, dan non-aglomerasi. Kemampuan fermentasi atau meragi yang tinggi adalah karakteristik yang penting untuk menghasilkan roti dengan kualitas yang baik dan waktu yang singkat dalam pembuatan roti (Walker, 1998).

2.6 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Khamir

Menurut Kunaepah (2008), ada banyak faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, oksigen, dan mikroba yang digunakan:

1. Substrat

Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrient-nutrient yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba, sedangkan nutrient lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah sedikit.

2. Suhu

Suhu fermentasi mempengaruhi lama fermentasi karena pertumbuhan mikroba dipengaruhi suhu lingkungan fermentasi. Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda-beda. Menurut Kumalasari (2011), menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* akan tumbuh optimal dalam kisaran 30-35 °C dan puncak produksi alkohol dicapai pada suhu 33 °C. Jika suhu terlalu rendah, maka

fermentasi akan berlangsung lambat dan sebaliknya jika suhu terlalu tinggi maka *Saccharomyces cerevisiae* akan mati sehingga proses fermentasi tidak akan berlangsung.

3. pH Derajat keasaman

(pH) merupakan salah satu faktor penting yang perlu untuk diperhatikan pada saat proses fermentasi. Sifat asam dan basa mempengaruhi enzim yang terdapat dalam metabolisme khamir atau mikroba dalam proses fermentasi.

4. Mikroba

Mikroba sebagai pelaku fermentasi tentu sangat berpengaruh terhadap lama fermentasi. Menurut O'leary *et al* (2004), *Saccharomyces cerevisiae* adalah khamir yang biasa digunakan dalam fermentasi alkohol. *Kluyveromyces fragilis* juga merupakan khamir yang dapat memproduksi alkohol, namun *Saccharomyces* dapat mengkonversi gula lebih cepat.

2.7 Air Kelapa

Air kelapa merupakan bagian dari buah kelapa yang diperoleh dari endosperma cair. Air kelapa termasuk produk alami yang dianggap sebagai produk buangan yang mengandung energi, air, protein, lemak, karbohidrat, kolesterol, vitamin, kalsium, dan mineral lainnya. Jumlah air kelapa yang mengandung di dalam satu buah kelapa tua sekitar 300 ml. Jumlah ini dipengaruhi oleh ukuran kelapa, varietas, kematangan, dan kesegaran kelapa (Tenda, 1992).

Kelapa (*Cocos nucifera L.*) merupakan pohon yang tumbuh subur di negara tropis dan subtropis. Beberapa negara yang menghasilkan kelapa terbesar adalah Indonesia, Filipina, dan India, yang berkontribusi hingga 75% dari produksi kelapa dunia (Pratiwi, 2013). Kelapa dikenal sebagai pohon kehidupan karena

dimanfaatkan hampir semua bagiannya untuk kepentingan umat manusia. Kelapa (*Cocos nucifera*) termasuk jenis tanaman palma yang mempunyai buah berukuran cukup besar. Batang pohon kelapa umumnya berdiri tegak dan tidak bercabang, dapat mencapai 10-14 meter lebih. Daunnya berpelelah, panjangnya dapat mencapai 3-4 meter lebih dari sirip-sirip lidi yang menopang tiap helaian. Buahnya terbungkus dengan serabut dan batok yang cukup kuat sehingga untuk memperoleh buah kelapa harus dikuliti terlebih dahulu (Palungkun, 2004).

Klasifikasi tanaman kelapa sebagai berikut (IT IS, 2022):

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Sub Divisi : Angiospermae
 Kelas : Monocotyledoneae
 Ordo : Palmales
 Family : Arecaceae
 Genus : Cocos
 Spesies : *Cocos nucifera*

Keberadaan tumbuhan dalam Al-Quran terdapat pada Surat Luqman ayat 10 yang berbunyi sebagai berikut:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوَاهَا^ط وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ

فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ^ج وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Yang artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia

(bumi) tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.” (31:10)

Menurut tafsir Ibnu Katsir, Allah SWT melalui ayat ini menjelaskan tentang kekuasaanNya melalui penciptaan langit dan bumi serta segala sesuatu yang ada pada keduanya. Pada kalimat “*Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik*” yakni segala macam tumbuhan yang baik dan indah pemandangannya. Kata “*baik*” menunjukkan bahwa tumbuhan memiliki manfaat untuk kehidupan sehari-hari. Seperti halnya kelapa, kelapa merupakan tumbuhan yang memiliki manfaat untuk kehidupan.

Air kelapa memiliki beberapa manfaat selain dikonsumsi secara langsung. Salah satu contohnya, air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan. Penggunaan bahan organik seperti air kelapa dapat menghasilkan produk yang baik, selain itu penggunaannya mengurangi pemakaian pupuk kimia. Air kelapa sebagai pengganti pupuk kimia dapat membantu mempercepat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa air kelapa kaya akan kalium, mineral diantaranya Kalsium (Ca), Natrium (Na), Magnesium (Mg), Ferum (Fe), Cuprum (Cu), dan Sulfur (S), gula dan protein (Tiwery, 2014).

Air kelapa juga dapat dijadikan media pertumbuhan untuk kultur jamur, makroalga, dan mikroalga. Hal tersebut dikarenakan air kelapa banyak mengandung zat yang bermanfaat seperti makronutrien, vitamin, asam amino, berbagai mineral, dan bahkan hormon pertumbuhan. Pada air kelapa juga terkandung asam amino, dan enzim yaitu asam folat, katalase, dehydrogenase, diastase, peroxidase, dan RNA polymerase. Komposisi air kelapa tersebut

merupakan alternatif pengganti media sinterik pada kultur pertumbuhan (Putri *et al*, 2013).

Tabel 2.1 Komposisi air kelapa

Sumber air (dalam 100 gr)	Kelapa Muda (%)
Kalori	17,0 kal
Protein	0,2 g
Lemak	1,0 g
Karbohidrat	3,8 g
Kalsium	15,0 mg
Fosfor	8,0 mg
Besi	0,2 mg
Aktivitas Vitamin A	0,0 IU
Asam askorbat	1,0 mg
Air	95,5 g

Sumber : Palungkun, 2004

Mineral yang terkandung pada air kelapa adalah zat besi, fosfor dan gula yang terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa. Kadar air yang terdapat pada buah kelapa sejumlah 95,5 gram dari setiap 100 gram (Direktorat Gizi Depkes RI, 1981). Dalam penelitian Widhorini *et al* (2021), menunjukkan bahwa air kelapa dapat digunakan sebagai media alternatif untuk menumbuhkan jamur *Aspergillus flavus*, air kelapa mampu menghasilkan pertumbuhan optimal dengan konsentrasi 70% sedangkan hasil optimal dengan konsentrasi 100%. Berdasarkan hasil penelitian Hardianto, dkk (2018), limbah air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan pada khamir *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae* dapat menggunakan karbohidrat sederhana yang terdapat dalam pada air kelapa tersebut. Air kelapa mengandung karbohidrat sederhana

seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, inositol, dan sorbitol yang dapat digunakan sebagai sumber karbon

2.8 Metode *Freeze drying*

Freeze drying merupakan teknik yang umumnya digunakan untuk mengawetkan kultur. Metode pengawetan kultur yang biasa digunakan adalah pengeringan semprot (*spray drying*), pembekuan (*freezing*), dan pengeringan beku (*freeze drying*) (Puspawati, et al, 2010). Metode ini juga dikenal dengan metode *lyophilisation*/liofilisasi. Prinsip dasar pengeringan beku adalah proses menghilangkan kandungan air dalam suatu bahan atau produk yang telah beku. Liofilisasi terdiri atas beberapa tahapan yaitu pengkulturan sel, penambahan kultur sel dengan agen protektan, pembekuan, liofilisasi/*freeze drying*, penyimpanan, rehidrasi, dan pemulihan sel.

Pengeringan beku adalah metode dehidrasi yang terkenal banyak digunakan untuk mengawetkan mikroorganisme. Hal ini juga biasa digunakan dalam pengawetan makanan dan untuk berbagai aplikasi farmasi, termasuk obat berbasis protein. Dengan kemampuannya menggabungkan pembekuan dan pengeringan dalam operasi yang unik, proses ini dapat menghasilkan produk kering akhir dengan kualitas tertinggi, tetapi langkah pengeringan beku sangat penting karena secara negatif mempengaruhi kelangsungan hidup dan fisiologis keadaan ragi (Brashears dan Gilliland 1995). Metode *freeze drying* tergolong metode yang digunakan dalam proses enkapsulasi. Enkapsulasi adalah suatu proses pembungkusan (*coating*) suatu bahan inti.

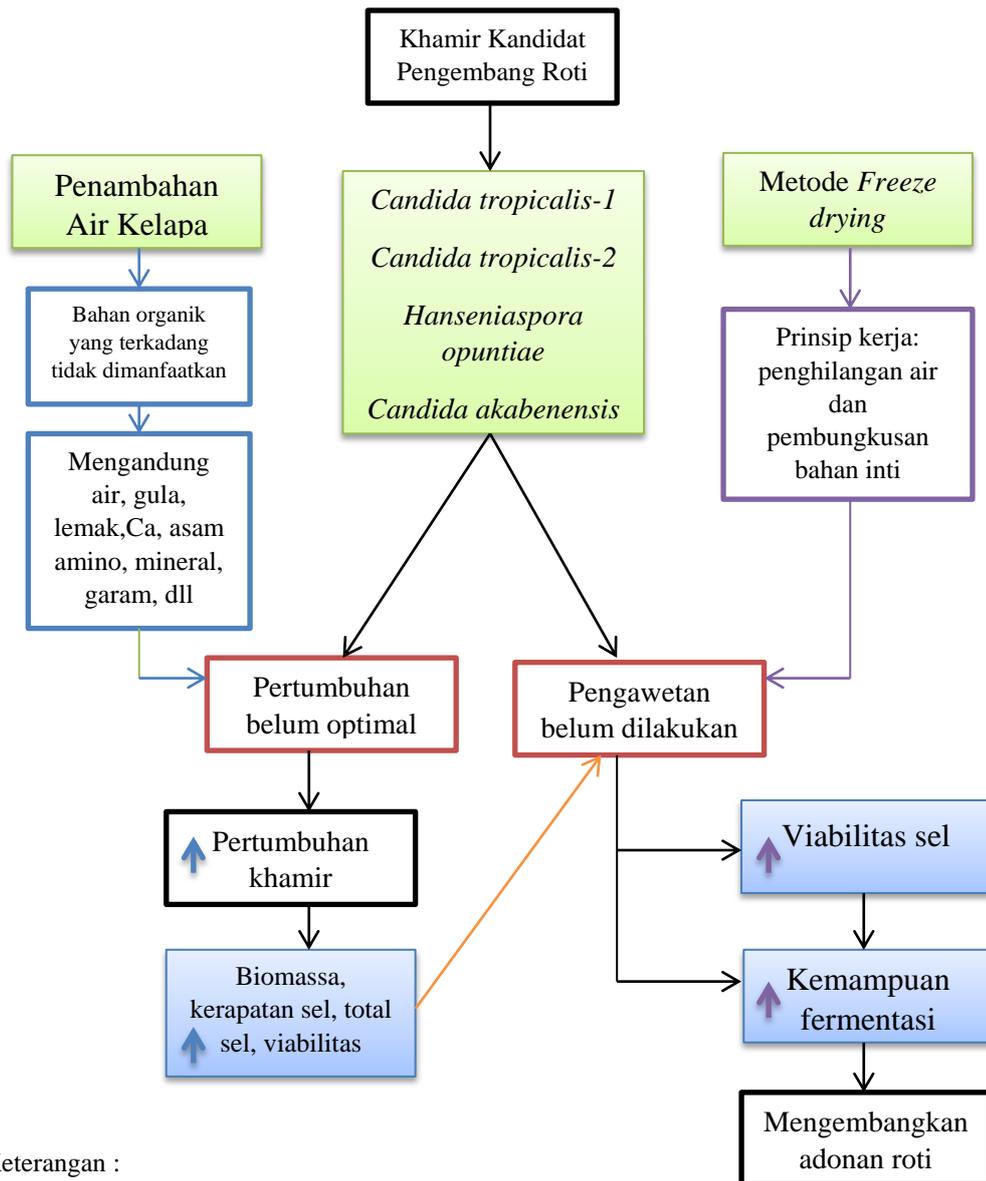
Penggunaan bahan enkapsulasi tertentu yang bermanfaat untuk mempertahankan viabilitas dan melindungi mikroba dari kerusakan akibat kondisi

lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti panas, bahan kimia, asam lambung, dan garam empedu (Sumanti et al, 2016). Kelangsungan hidup mikroba selama proses ini tergantung pada banyak faktor, termasuk sifat resistensi intrinsik dari strain, konsentrasi awal mikroorganisme, pertumbuhan kondisi, dan media pengeringan (Morgan dkk. 2006).

Freeze drying dapat menyebabkan kerusakan sel mikroorganisme. Namun hal tersebut dapat diminimumkan dengan penambahan bahan penyalut tertentu sebelum proses pembekuan dan pengeringan dilakukan (Puspawati, *et al*, 2010). Bahan penyalut merupakan bahan yang digunakan untuk melapisi bahan inti (mikroorganisme) dengan tujuan tertentu seperti menutupi rasa dan bau yang tidak enak, perlindungan terhadap pengaruh lingkungan, meningkatkan stabilitas, dan mencegah penguapan. Bahan penyalut yang umumnya digunakan sebagai enkapsulan dapat berasal dari gum, karbohidrat, dan protein seperti susu skim, laktosa, maltdekstrin, alginat, gum arab, pati, agar, gelatin, karagenan, albumin, dan kasein.

2.9 Kerangka Konseptual Penelitian

Kerangka konsep penelitian merupakan suatu hubungan antara konsep satu dengan konsep yang lainnya yang sejalan dengan permasalahan yang diteliti. Berdasarkan latar belakang dan kajian pustaka, dapat disusun kerangka dari peneliti dalam bentuk bagan sebagai berikut:



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian dalam penelitian ini adalah eksperimental kuantitatif dengan rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan deskriptif. Penelitian terdiri dari 2 (dua) tahap. Tahap pertama menggunakan RAL yaitu pengujian pengaruh penambahan air kelapa dan jenis khamir terhadap pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti. Media perlakuan terdiri dari M1 (penambahan air kelapa 100%), M2 (penambahan air kelapa 50%), dan M3 (penambahan air kelapa 0%). Jenis khamir yang diuji yaitu *C.tropicalis-1*, *C.tropicalis-2*, *H. opuntiae*, dan *C. akabenensis*.

Adapun penelitian secara deskriptif pada tahap kedua. Tahap kedua yaitu pengujian pengaruh metode *freeze drying* terhadap viabilitas sel dan kemampuan fermentasi khamir kandidat pengembang roti.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi air kelapa yang terdiri dari media M1 (penambahan air kelapa 100%), M2 (penambahan air kelapa 50%), dan M3 (penambahan air kelapa 0%); dan jenis khamir yaitu *C.tropicalis-1*, *C.tropicalis-2*, *H. opuntiae*, dan *C. akabenensis*.

3.2.2 Variabel terikat

Varibel terikat yang digunakan dalam penelitan ini adalah pertumbuhan khamir (biomassa, kerapatan sel, total sel, dan viabilitas sel), viabilitas sel dan kemampuan fermentasi (volume adonan roti).

3.2.3 Variabel kontrol

Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah suhu, pH, oksigen, lama fermentasi dan kondisi lingkungan luar yang digunakan dalam penelitian.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan bulan November tahun 2021. Uji pengaruh air kelapa terhadap pertumbuhan khamir dan kemampuan fermentasi pada adonan roti dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Adapun uji perlakuan menggunakan metode *freeze drying* dilaksanakan di Laboratorium Terpadu dan Halal Centre Universitas Islam Malang (UNISMA).

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, spatula, *autoklaf* merk *ALP*, *Laminar Air Flow* (LAF) merk *heraeus*, *incubator*, tabung eppendorf 15 ml, cuvet, *haemasitometer*, alat pengering beku (*freeze drying*) merk *Christ*, *hotplate*, *magnetic stirrer*, *shaker*, *sentrifuge*, oven listrik, erlenmeyer 1000 ml, erlenmeyer 500 ml, erlenmeyer 250 ml, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, beaker glass, botol kaca 100 ml, wadah plastik, gelas ukur, mikropipet, cetakan kue atau loyang bentuk bulat, penggaris dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat khamir *Candida tropicalis-1*, *Candida tropicalis-2*, *Candida akabenensis*, *Hansenia neurospora*, media *Yeast Medium Extract Agar* (YMEA), *Yeast Malt Broth* (YMB), *Yeast Peptone Glucose* (YPG), Sodium L-Lactate, air kelapa, akuades, alkohol 70%,

susu skim, tepung terigu, gula, garam, mentega, khamir komersial merk fermipan, air, kertas kue, kantung plastik, kertas label, alumunium foil, wrap, tisu, spirtus, tip dan kertas label.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang akan digunakan dicuci hingga bersih dan dikeringkan. Sterilisasi dilakukan dengan cara dibungkus alat dan bahan dengan menggunakan kertas dan plastik hingga aman dan tertutupi, kemudian dimasukkan ke dalam *autoklaf* pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (per square inchi) selama 15 menit.

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Pembuatan Media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA)

Media YMEA dibuat dengan acuan buku Kurtzman dan Fell (1998), pembuatan 1000 ml media YMEA membutuhkan 20 gram *microbial agar*, 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 3 gram *yeast ekstrak*, 3 gram *malt extract*, dan 1000 ml aquades. Semua bahan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan dipanaskan diatas *hotplate*. Kemudian media disterilisasi menggunakan *autoklaf* pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (per square inchi) selama 15 menit. Media YMEA yang sudah steril diberikan antibiotik *Sodium DL-Lactate* sebanyak 120 µl pada saat suhu media sekitar 50°C, dan dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan.

3.5.2.2 Pembuatan Media *Yeast Malt Broth* (YMB)

Media YMB dibuat dengan acuan buku Kurtzman dan Fell (1998), pembuatan 1000 ml media YMB membutuhkan 10 gram glukosa, 5 gram pepton,

3 gram *yeast extract*, 3 gram *malt extract* dan 1000 ml aquades. Semua bahan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan dipanaskan diatas *hotplate*. Media kemudian disterilisasi dengan *autoklaf* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inchi) selama 15 menit. Media YMB yang sudah steril ditambahkan antibiotik *Sodium DL-Lactate* sebanyak 120 µl pada saat suhu media sekitar 50°C dan dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan.

3.5.2.3 Pembuatan Media *Yeast Peptone Glucose* (YPG)

Pembuatan media YPG dibuat dengan mengacu penelitian Murad (2019), pembuatan 1000 ml media YPG membutuhkan 3 gram yeast extract, 5 gram pepton, 20 gram glukosa dan 1000 ml akuades. Semua bahan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan dipanaskan diatas *hotplate*. Media kemudian disterilisasi dengan *autoklaf* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inchi) selama 15 menit.. Media YMB yang sudah steril ditambahkan antibiotik *Sodium DL-Lactate* sebanyak 120 µl pada saat suhu media sekitar 50°C dan dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan.

3.5.3 Subkultur Isolat Khamir dan Pembuatan Stok Isolat Khamir

Subkultur isolat khamir menggunakan media YMEA dengan cara, diambil isolat khamir dari stok di Laboratorium menggunakan jarum ose steril lalu digoreskan pada media YMEA steril yang ditelah dipadatkan di cawan petri dengan menggunakan teknik *spread plate* (goresan). Khamir diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Kemudian dibuat stok isolat dengan jumlah 2 buah pada tiap isolat. Isolat disubkultur pada media miring YMEA pada tabung reaksi dengan teknik *spread plate*, diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Kemudian stok kultur disimpan dalam lemari pendingin dan siap untuk digunakan.

3.5.4 Uji Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Jenis Khamir terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti

Uji pengaruh penambahan air kelapa dan jenis khamir dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut: disiapkan air kelapa murni yang telah disterilisasi menggunakan *autoklaf*, kemudian disiapkan sesuai konsentrasi yang digunakan pada perlakuan. Terdapat 3 perlakuan media (M1, M2, M3) pada 4 jenis khamir (Y1, Y2, Y3, Y4) dengan 3 kali pengulangan. Pola rancangan dapat dilihat pada lampiran 2. Langkah inokulasi berdasarkan Hardianto, dkk., (2018) yang dimodifikasi, tiap isolat khamir yang telah disubkultur pada media padat YMEA diambil sebanyak 1 ose kemudian diinokulasikan pada 100 ml media cair YMB, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Selanjutnya 1 ml suspensi khamir hasil fermentasi pada YMB diinokulasikan ke dalam 50 ml media perlakuan sebagai berikut:

M1 = penambahan air kelapa 100% (50 ml air kelapa)

M2 = penambahan air kelapa 50% (25 ml air kelapa + 25 ml YPG)

M3 = penambahan air kelapa 0% (50 ml YPG)

Tiap perlakuan dimasukkan ke dalam tabung kaca berukuran 100 ml. Pengenceran air kelapa menggunakan media YPG (*Yeast Peptone Glucose*) yang merupakan media cair umum untuk fermentasi khamir. M3 yang mengandung 50 ml YPG digunakan sebagai pembanding pada perlakuan. Penentuan konsentrasi air kelapa sebagai media pertumbuhan khamir berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan sebelumnya. Setelah diinokulasi secara steril, tabung ditutup rapat untuk menghindari kontaminasi. Khamir diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30 °C. Pada akhir inkubasi diamati parameter pertumbuhan khamir, berupa berat

biomassa, kerapatan sel, total sel, dan viabilitas sel. Kemudian hasil terbaik pada tiap khamir berdasarkan berat biomassa dikeringbekukan menggunakan *freeze drying*.

3.5.5 Pengamatan Pertumbuhan Sel Khamir

3.5.5.1 Pengamatan Biomasssa Sel Khamir

Pengamatan biomassa dilakukan berdasarkan Karki *et al*, (2017), untuk mendapatkan biomassa khamir dilakukan pemisahan antara media dengan pellet khamir menggunakan *sentrifuge* dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit yang diperoleh dari perlakuan air kelapa 100%, 50%, dan 0%. Kemudian supernatan dibuang dan pellet ditimbang. Penimbangan biomassa yang didapatkan dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$B = B2-B1$$

Keterangan :

B = biomassa yang didapatkan (gr)

B2 = berat eppendorf yang berisi biomassa

B1 = berat eppendorf kosong

3.5.5.2 Pengamatan Kerapatan Sel Khamir

Pengamatan kerapatan sel dilakukan berdasarkan Yucel & Aksu (2015), yaitu dengan menggunakan UV-Vis Spektrofotometer panjang gelombang 600 nm. Perhitungan kerapatan sel dilakukan setelah khamir diinkubasi selama 48 jam pada media perlakuan M1, M2, dan M3. Penggunaan *spektrofotometer* diawali dengan mengatur panjang gelombang 600 nm. Kemudian menentukan nilai absorbansi (OD) blanko sebagai pembanding. Langkah-langkah yang dilakukan berdasarkan Nasir, *et al.*, (2017), yaitu kuvet yang telah dibersihkan diisi dengan 1

ml larutan blanko media tanpa suspensi khamir dan diletakkan kuvet pada tempat pembacaan absorbansi. Selanjutnya dilakukan pembacaan nilai absorbansi (OD) pada tiap sampel perlakuan. Nilai absorbansi yang didapatkan menandakan kerapatan sel pada tiap sampel.

3.5.5.3 Pengamatan Viabilitas Sel Khamir

Pengamatan viabilitas sel *C. tropicalis* berdasarkan metode hitung menggunakan hemositometer yang dihitung berdasarkan perhitungan berikut (Puspitasari, dkk., 2006):

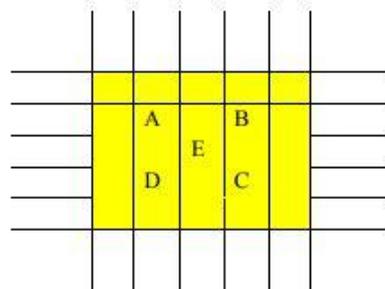
$$\text{Viabilitas sel} = \frac{\text{jumlah sel hidup}}{\text{jumlah total sel (sel hidup+sel mati)}} \times 100\%$$

Pengamatan viabilitas sel menggunakan bantuan *methylene blue*. Pemberian pewarna *methylene blue* dilakukan untuk membedakan antara sel khamir yang hidup dan yang mati. *Methylene blue* akan menghasilkan warna ketika terjadi reaksi reduksi oksidasi. Reduksi menyebabkan warna memudar dan oksidasi menyebabkan muncul warna biru. Sel khamir yang hidup memiliki kemampuan untuk mereduksi pewarna *methylene blue* sehingga warna memudar/tak berwarna. Sedangkan sel khamir yang mati tidak mampu mereduksi pewarna *methylene blue* sehingga muncul warna biru sampai hitam.

3.5.5.4 Pengamatan Total Sel Khamir

Pengamatan total sel dilakukan menggunakan metode hitung berdasarkan Mahardika (2019), sebelum dilakukan perhitungan, *Haemocytometer* dan cover glass disterilkan dengan alkohol 70%. Cover glass steril diletakkan di atas permukaan chamber pada *Haemocytometer*. Diambil 100 μL inokulum khamir dan dimasukkan pada tube 1,5 ml. Ditambahkan 100 μL pewarna methylen blue serta diencerkan dengan akudes steril hingga volume akhir 700 μL . Suspensi

khamir dan pewarna *methylen blue* dihomogenkan menggunakan *vortex*. Kemudian diambil 20 μL suspensi khamir dan dimasukkan ke dalam *chamber* secara perlahan. Sel dihitung di bawah mikroskop komputer dengan perbesaran 400x. Pengamatan sel dilakukan pada 5 kotak dengan pola seperti pada gambar 3.1



Gambar 3.1 pola perhitungan pada *counting chamber*

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

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

$$\text{Faktor pengenceran} = \frac{\text{volume akhir suspensi}}{\text{volume inokulum}}$$

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

Keterangan :

10^4 = konversi 0,1 μL dalam 1 ml

0,1 μL = volume pada kotak sedang

3.5.6 Uji Pengaruh Metode *Freeze drying* terhadap Viabilitas Sel dan Kemampuan Fermentasi Khamir Kandidat Pengembang Roti

Metode *freeze drying* merupakan teknik yang umumnya digunakan untuk pengawetan kultur. Proses ini melibatkan pengeringan beku dan penambahan bahan pelindung pada biomassa basah mikroorganisme (Puspawati *et al*, 2010). Langkah-langkah yang dilakukan berdasarkan Puspawati *et al.*, (2010), disiapkan

biomassa khamir yang telah didapat dari perlakuan menggunakan media air kelapa dan disiapkan larutan susu skim steril dengan konsentrasi 15% (Clarizza, 2015). Kemudian khamir diinokulasi pada susu skim dengan rasio (1:10). Susu skim merupakan bahan penyalut atau bahan pelindung mikroba yang umum dan paling baik digunakan saat proses *freeze drying* berlangsung (Puspawati, *et al.*, 2010). Setelah inokulasi, khamir diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Langkah selanjutnya, kultur dibekukan pada suhu -80 °C selama 24 jam. Kemudian dikeringkan dengan pengering beku pada kondisi suhu -50 °C; 0,01 Mpa selama 2 hari. Kultur khamir yang diperoleh selanjutnya diuji viabilitasnya dengan menghitung total koloni khamir sebelum pengeringan beku dan sesudah pengeringan beku. Setelah pengamatan viabilitas, dilanjutkan pengamatan kemampuan fermentasi khamir pada adonan roti.

3.5.7 Pengamatan Viabilitas Sel Khamir

Pengamatan viabilitas dilakukan dengan mengambil data jumlah koloni khamir sebelum dan sesudah pengeringan beku. Jumlah koloni dihitung dengan metode hitung cawan, yaitu menumbuhkan sel-sel mikroba yang masih hidup pada suatu atau beberapa media sehingga sel tersebut berkembang biak dan membentuk koloni-koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata telanjang tanpa menggunakan mikroskop, dan koloni dapat dihitung dengan menggunakan colony counter (Yunita, 2015). Kemudian jumlah koloni didapatkan dengan cara menghitung jumlah koloni pada cawan petri hasil pengenceran 10^{-3} . Rumus jumlah koloni berdasarkan Pusdik (2018), cawan yang dipilih dan dihitung adalah cawan yang mengandung jumlah koloni 25 sampai 250, jika hasil lebih dari 250, cawan dibagi menjadi beberapa vektor dan dihitung dari satu sektor, kemudian

dikalikan. Kemudian jumlah koloni dikali pengenceran. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dua angka yaitu angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal).

Pengamatan jumlah koloni dilakukan menggunakan media YMEA agar dengan metode *pour plate* dengan seri pengenceran. Pada pengujian viabilitas sel khamir sebelum pengeringan beku, diambil 1 ml kultur, sedangkan pada pengujian viabilitas sel khamir setelah pengeringan, diambil 0,1 gram kultur kering (serbuk). Keduanya diencerkan sampai pengenceran 10^{-3} . Sebanyak 1 ml hasil pengenceran terakhir ditanam ke dalam cawan petri dan dituang media YMEA agar di atasnya, digoyang-goyangkan sampai merata dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Menghitung viabilitas khamir menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) berdasarkan rasio jumlah koloni khamir sesudah dan sebelum pengeringan beku. Data dinyatakan dalam bentuk persentase (%). Rumus perhitungan viabilitas adalah sebagai berikut (Puspawati *et al*, 2010):

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{total koloni sesudah pengeringan beku}}{\text{total koloni sebelum pengeringan beku}} \times 100\%$$

3.5.8 Pengamatan Kemampuan Fermentasi Khamir pada Adonan Roti

Pengamatan kemampuan fermentasi khamir pada adonan roti berdasarkan kemampuan khamir dalam mengembangkan adonan roti. Pembuatan adonan roti berdasarkan Karki *et al*, (2017), disiapkan 50 gram tepung roti, 0,75 gram garam, 3,75 gram gula, air hangat 50 ml, 4 gr mentega, dan 0,6 gr khamir yang akan diuji. Semua bahan dicampur dan diuleni jadi satu hingga adonan kalis. Pada pengamatan pertama, adonan roti *diproofing* dalam keadaan tertutup selama 12 jam, lalu diamati volume adonan yang dihasilkan. Pada pengamatan kedua, adonan *diproofing* dalam keadaan tertutup selama 2 jam. Kemudian adonan

dipanggang dalam oven dengan suhu 180 °C selama 20 menit dan diamati. Khamir komersial merk *fermipan* digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan adonan tanpa khamir digunakan sebagai kontrol negatif. Pengamatan volume adonan diamati secara manual pada beaker glass menggunakan penggaris, kemudian ditentukan volumenya menggunakan volume tabung ($2 \times \pi \times r^2$).

3.6 Analisis Data

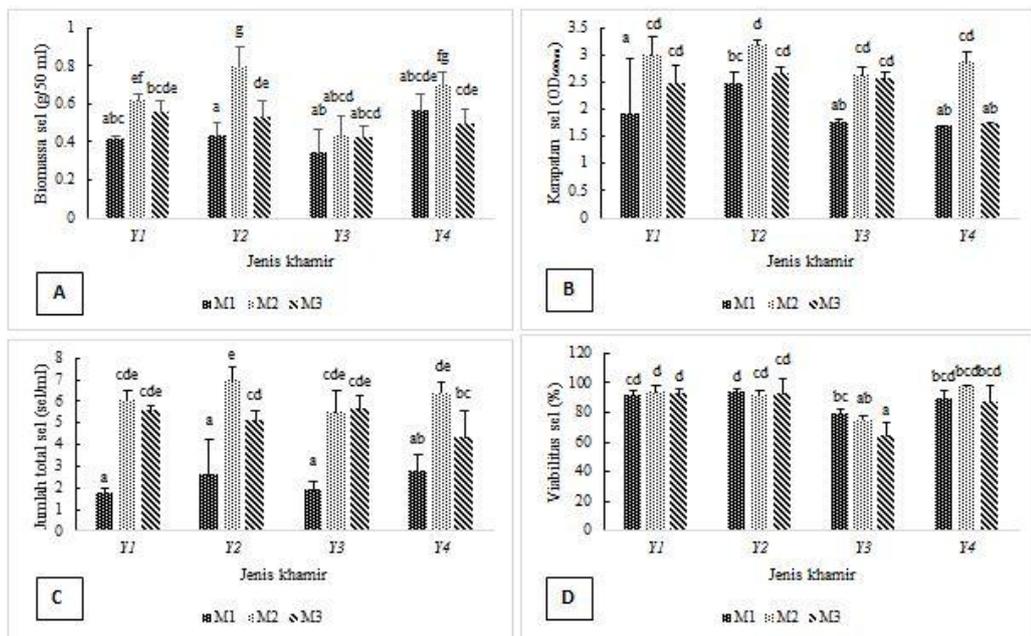
Data yang diperoleh dari penelitian tahap pertama berupa pertumbuhan khamir meliputi biomassa, kerapatan sel, total sel, dan viabilitas sel dianalisis menggunakan Analisis Varian (Anova) dengan taraf signifikan 0,05. Jika terdapat perbedaan secara nyata atau hasil signifikan maka diuji lanjut menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Adapun data pada penelitian tahap kedua berupa viabilitas sel dan kemampuan fermentasi khamir setelah perlakuan *freeze drying* dianalisis secara deskriptif berdasarkan tabulasi dan gambar.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Penambahan Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Sel Khamir

Kandidat Pengembang Roti

Berdasarkan hasil penelitian dan uji Anova, penambahan air kelapa berpengaruh terhadap biomassa, kerapatan sel, dan total sel. Sedangkan pada viabilitas sel tidak berpengaruh secara nyata. Hasil pertumbuhan khamir terbaik pada setiap khamir yaitu menggunakan perlakuan media M2 (penambahan air kelapa 50%). Hasil uji statistika dapat dilihat pada lampiran 9 dan gambar 4.1. Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada grafik, terlihat bahwa media M2 memiliki hasil yang lebih tinggi pada setiap khamir, baik pada biomassa, kerapatan sel, total sel, dan viabilitas sel.

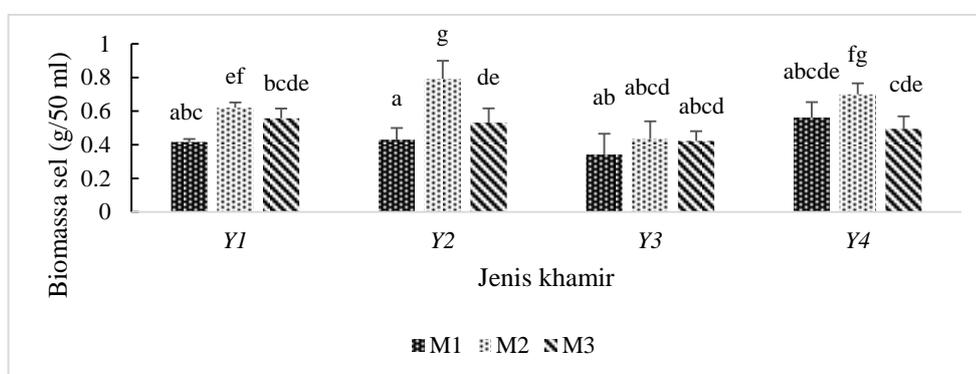


A. Grafik Biomassa khamir; B. Grafik Kerapatan Sel; C. Grafik Total Sel; D. Grafik Viabilitas Sel

Gambar 4.1 Grafik pengaruh penambahan air kelapa terhadap pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti

4.1.1 Biomassa Sel Khamir

Biomassa merupakan material organik yang berada di alam sekitar. Biomassa khamir pada penelitian ini didapatkan dari hasil *sentifuge* berupa pellet setelah fermentasi berlangsung. Berdasarkan hasil analisis uji Anova terdapat pengaruh media terhadap biomassa khamir, hasil menunjukkan signifikansi dibawah 0,05 ($<0,05$) yang artinya terdapat pengaruh atau perbedaan secara nyata pada perlakuan media terhadap biomassa khamir. Hasil uji dapat dilihat pada lampiran 9a.



Gambar 4.2 Pengaruh penambahan air kelapa terhadap biomassa khamir kandidat pengembang roti. M1= penambahan air kelapa 100%, M2= penambahan air kelapa 50% M3= penambahan air kelapa 0%. Y1=*C.tropicalis-1*, Y2=*C. tropicalis-2*, Y3=*H.opuntiae*, Y4=*C. akabenensis*. Keterangan: huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Duncan 5%

Berdasarkan gambar 4.2 dapat diketahui bahwa semua media baik M1, M2, dan M3 ditumbuhi oleh khamir, terlihat dari biomassa yang dihasilkan, namun biomassa yang dihasilkan memiliki jumlah yang berbeda-beda. Pada media M1 yang mengandung air kelapa dengan konsentrasi 100% menunjukkan bahwa air kelapa memiliki potensi sebagai media pertumbuhan khamir, dilihat dari biomassa yang dihasilkan pada setiap khamir, notasinya juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan M3 namun masih cenderung dibawah dari media M2 dan M3. Menurut Hardianto, dkk (2018), limbah air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai media

pertumbuhan pada khamir *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces cerevisiae* dapat menggunakan karbohidrat sederhana yang terdapat dalam pada air kelapa tersebut. Demikian halnya pada *Candida* dan *Hanseniaspora* yang juga tergolong khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae*, menunjukkan bahwa dapat memanfaatkan karbohidrat yang ada pada air kelapa. Menurut Palunggun (2006), kandungan karbohidrat yang terkandung pada air kelapa sebesar 3,8 gram/100 ml. Adanya karbohidrat dalam air kelapa dapat dijadikan nutrisi bagi khamir sehingga terdapat pertumbuhan populasi khamir dibandingkan jumlah awal saat diinokulasinya.

Berdasarkan grafik pada gambar 4.2 diketahui bahwa biomassa yang tinggi diproduksi pada media M2 yaitu media dengan penambahan air kelapa 50% pada setiap khamir, baik *C. tropicalis-1*, *C. tropicalis-2*, *H. opuntiae*, dan *C. akabenensis*. Berdasarkan uji lanjut Duncan dengan taraf 5%, khamir dengan biomassa terbaik ialah khamir Y2 (*Candida tropicalis-2*) yang menghasilkan biomassa sebesar 0,7925 gr/50 ml dengan notasi g dan diikuti oleh Y4 (*Candida akabenensis*) yang menghasilkan biomassa sebesar 0,7 gr/50 ml dengan notasi fg. Notasi g pada Y2 menunjukkan bahwa perlakuan tersebut menghasilkan biomassa terbaik dan memiliki perbedaan secara nyata dibanding perlakuan yang memiliki huruf notasi berbeda. Sedangkan notasi fg pada Y4 menunjukkan adanya pengaruh yang sama pada khamir yang bernotasi f dan g, yaitu pada *C. tropicalis-1* media M2, dan *C. tropicalis-2* media M2.

Media perlakuan yang terbaik ialah pada perlakuan M2. Media M2 terdiri atas 25 ml air kelapa dan 25 ml YPG. Pada perlakuan ini terdapat perpaduan dua bahan yaitu air kelapa dan media YPG, sedangkan pada M1 hanya air kelapa dan

M3 hanya media YPG saja, hal ini yang menyebabkan biomassa yang dihasilkan perlakuan M2 pada tiap khamir cenderung lebih tinggi. Adanya kandungan nutrisi air kelapa menambah nutrisi pada media YPG.

Menurut Putri, *et al.*, (2013), air kelapa termasuk produk alami yang mengandung energi, air, protein, lemak, karbohidrat, kolesterol, vitamin, kalsium, dan mineral lainnya. Vigliar *et al.*, (2006) juga menambahkan bahwa air kelapa mengandung 95,5% air, 4% gula, 0,1 lemak, 0,02% kalsium, 0,01% fosfor, 0,5% zat besi, sejumlah besar asam amino, mineral garam, vitamin B kompleks, vitamin C dan sitokin. Karena kandungan nutrisi yang kaya dalam air kelapa, air kelapa digunakan secara luas dalam menumbuhkan jamur dan mikroba lain (Renato *et al.*, 2009).

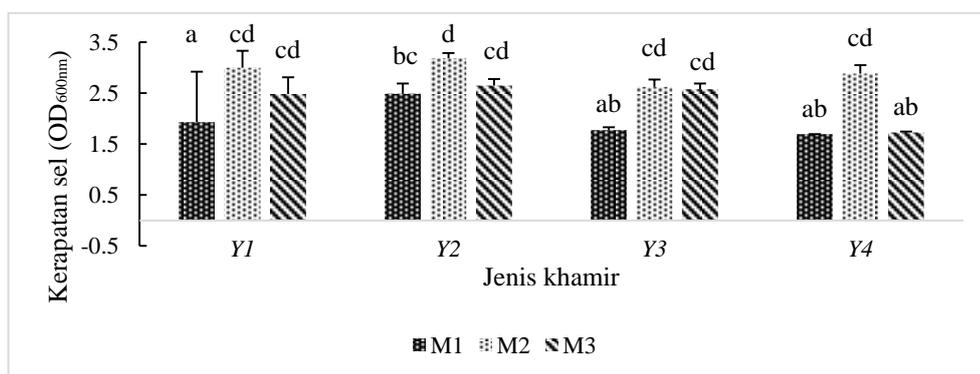
Sedangkan pada media YPG mengandung ekstrak khamir, pepton dan glukosa. Menurut Khan *et al.*, (2020), ekstrak khamir diperoleh dari sel khamir yang lisis, kandungan utama mengandung asam amino, vitamin, nukleotida, peptide, karbohidrat, garam, dan komponen air yang larut dalam sel. Komponen nitrogen dan vitamin merupakan komposisi penting dalam ekstrak khamir. Sehingga dapat diketahui bahwa perpaduan nutrisi antara kandungan air kelapa dan media YPG mampu meningkatkan produksi biomassa khamir kandidat pengembang roti. Menurut Pusdik (2018), semakin baik zat nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar.

Hasil penelitian sesuai dengan Abna (2018), yang melaporkan bahwa media air kelapa dengan konsentrasi 50% (v/v) yang dicampur dengan media dasar fermentasi menghasilkan produksi antimikroba *Bacillus subtilis* lebih tinggi

dibandingkan dengan media kontrol (tanpa penambahan air kelapa). Perpaduan dua media menyebabkan kandungan gula yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Hal itu diketahui dari kadar gula yang dihitung pada awal fermentasi, tambahan gula menyebabkan pertumbuhan mikroba yang pada fermentasi tersebut lebih aktif untuk melakukan metabolisme.

4.1.2 Kerapatan Sel Khamir

Menurut Pratiwi (2008), kerapatan sel menunjukkan tingkat kekeruhan pada suatu populasi. Kerapatan sel ditunjukkan dengan nilai *Optical Density* (OD), nilai kerapatan menunjukkan pertumbuhan mikroorganisme uji dibandingkan dengan blanko standar. Mikroorganisme yang bermultiplikasi pada media cair akan menyebabkan media menjadi keruh.



Gambar 4.3 Pengaruh penambahan air kelapa terhadap kerapatan sel khamir kandidat pengembang roti. M1= penambahan air kelapa 100%, M2= penambahan air kelapa 50%, M3= penambahan air kelapa 0%. Y1=*C. tropicalis-1*, Y2=*C. tropicalis-2*, Y3=*H. opuntiae*, Y4=*C. akabenensis*. Keterangan: huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Duncan 5%

Berdasarkan hasil analisis uji Anova, diperoleh data bahwa perlakuan media air kelapa berpengaruh terhadap kerapatan sel khamir kandidat pengembang roti. Hasil dapat dilihat pada lampiran 9b yang menunjukkan bahwa hasil signifikansi dibawah 0,05 ($< 0,05$). Air kelapa berpotensi menjadi media pertumbuhan khamir *C. tropicalis-1*, *C. tropicalis-2*, *H. opuntiae*, dan *C. akabenensis*. Potensi tersebut

ditunjukkan dengan terbacanya nilai OD keempat isolat pada perlakuan M1 (air kelapa 100%). Adanya nilai OD menunjukkan terdapat kekeruhan pada media yang diuji. Kekeruhan tersebut merupakan tanda bahwa adanya populasi khamir yang tumbuh pada media. Namun kerapatan optik atau *Optical Density* suatu suspensi tidak langsung menunjukkan jumlah sel dalam suatu populasi, melainkan menunjukkan jumlah cahaya yang disebarkan oleh populasi tersebut.

Nilai kerapatan sel atau tingkat kekeruhan mikroba berdasarkan gambar pada 4.2 menunjukkan bahwa yang cenderung menghasilkan kerapatan tinggi dari ketiga media perlakuan ialah perlakuan M2. Secara statistika, nilai OD (*Optical Density*) yang paling tinggi ialah perlakuan M2 dengan penambahan air kelapa 50% pada isolat khamir *Candida tropicalis-2*. Nilai OD *Candida tropicalis-2* sebesar 3,1847 dengan notasi d. Khamir yang mengandung notasi d tidak hanya *C. tropicalis-2*, pada *C.tropicalis-1*, *C.akabenensis* dan *H. opuntiae* memiliki notasi cd. Notasi dengan huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara nyata atau pada perlakuan tersebut pengaruhnya sama. Pada khamir yang memiliki notasi cd artinya tidak berbeda secara nyata dengan khamir yang memiliki notasi c dan d.

Pada perlakuan M1 yang mengandung penambahan air kelapa 100% memiliki notasi yang sama dengan perlakuan M3 dengan penambahan air kelapa 0% yang berisi media YPG 100% pada *Candida akabenensis*, artinya air kelapa memiliki pengaruh yang sama dengan YPG, hal ini merupakan sebuah temuan bahwa media air kelapa memiliki hasil yang sama dengan media standart laboratorium yang biasanya digunakan sehingga dapat dijadikan pertimbangan sebagai alternatif pengganti media saat proses pemanenan khamir. Berdasarkan Vigliar *et*

al., (2006), pada 50 ml air kelapa mengandung 2 gram gula, sedangkan berdasarkan Murad (2019), pada 50 ml media YPG mengandung 1 gram gula. Kandungan gula yang hampir sama ini menyebabkan kerapatan sel juga tidak berbeda secara nyata.

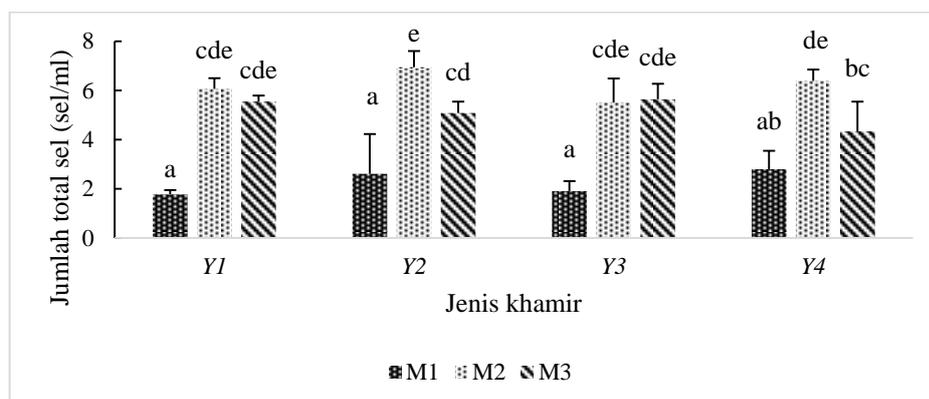
Semakin tinggi nilai OD maka semakin keruh populasi pada media, yang menunjukkan populasi mikroba yang tumbuh lebih banyak. Hasil adanya nilai OD pada media air kelapa juga dilaporkan oleh Hardianto, dkk (2018), media limbah air kelapa dengan penambahan fosfat (KH_2PO_4) sebanyak 0.5% menghasilkan nilai OD tertinggi yaitu sebesar 1.07 pada pertumbuhan khamir *Saccharomyces cerevisiae*.

Kerapatan sel biasanya digunakan untuk mencari kurva pertumbuhan suatu mikroba. Pada penelitian ini, pengukuran nilai OD dilakukan setelah masa inkubasi 24 jam karena berdasarkan penelitian Julistiono (2012), melaporkan bahwa pada jam ke-24. *Candida tropicalis* mencapai fase stationer diperkirakan kepadatan sel mencapai puncaknya dan dapat dilakukan pemanenan. Menurut Pelchzar & Chan (2005), terdapat empat fase dalam sebuah kurva pertumbuhan mikroba, yaitu 1) fase lag atau disebut fase adaptasi mikroba pada media lingkungannya sehingga kurva menunjukkan kepadatan sel yang rendah, 2) fase log atau eksponensial dimana setiap sel pada populasi mengalami pertumbuhan maksimal, 3) fase stasioner, fase puncak dan kepadatan sel seimbang (konstan), dan 4) fase kematian, yaitu fase dimana kepadatan sel mengalami penurunan.

4.1.3 Total Sel

Data yang diperoleh dari uji yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perlakuan air kelapa terhadap total sel khamir. Berdasarkan uji anova,

hasil signifikansi (Sig) dibawah 0,05 ($< 0,05$) menunjukkan adanya pengaruh atau perbedaan secara nyata perlakuan terhadap total sel khamir (pada lampiran 7c). Berdasarkan gambar 4.4 diketahui bahwa total sel yang terbaik ialah khamir dengan notasi e yaitu, khamir *C. tropicalis-2* pada media M2 dengan penambahan air kelapa 50% dengan hasil jumlah sel $6,9 \times 10^5$ sel/ml sedangkan total sel yang rendah ialah khamir dengan notasi a yaitu *C. tropicalis-1*, *C. tropicalis-2*, dan *H. opuntiae* pada media M1 (air kelapa 100%) secara berturut-turut berjumlah $1,8 \times 10^5$ sel/ml, $2,6 \times 10^5$ sel/ml, dan $1,9 \times 10^5$ sel/ml. Pada ketiga khamir tersebut memiliki notasi yang sama yaitu a, artinya hasil tidak berbeda secara nyata.



Gambar 4.4 Pengaruh penambahan air kelapa terhadap total sel khamir kandidat pengembang roti. M1= penambahan air kelapa 100%, M2= penambahan air kelapa 50% M3= penambahan air kelapa 0%. Y1=*C. tropicalis-1*, Y2=*C. tropicalis-2*, Y3=*H. opuntiae*, Y4=*C. akabenensis*. Keterangan: huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Duncan 5%

Jumlah sel yang tinggi pada *C. tropicalis-2* media M2 yang mengandung penambahan air kelapa 50% disebabkan oleh faktor nutrisi yang terkandung pada media pertumbuhan khamir. Nutrisi pada media M2 yang terdiri atas 25 ml air kelapa dan 25 ml YPG mengandung senyawa yang lebih kompleks dibandingkan M1 (air kelapa 100%) yang terdiri atas 50 ml air kelapa dan M3 (air kelapa 0%) yang terdiri atas 50 ml YPG. Adanya perpaduan nutrisi antara air kelapa dan YPG sehingga mengakibatkan total sel khamir lebih banyak. Hal ini disebabkan bahwa

air kelapa dengan konsentrasi penambahan 50% memenuhi kebutuhan nutrisi mikroba. Soedarto (2015), menyatakan pertumbuhan maksimal terjadi jika kondisi media kultur optimal bagi kehidupan mikroba.

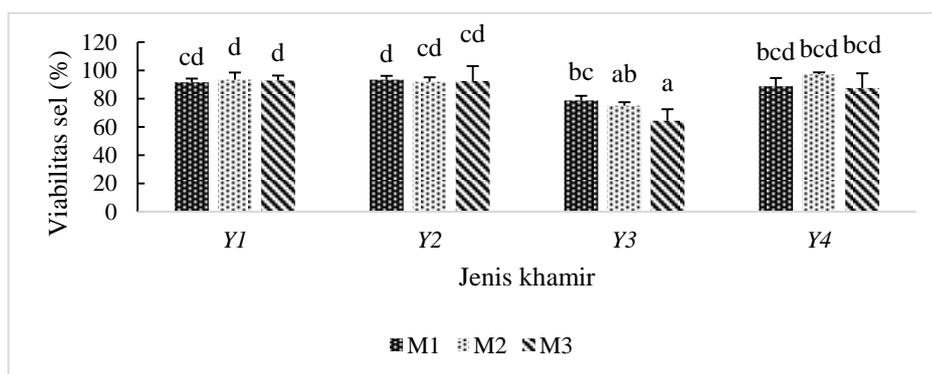
Berdasarkan grafik yang ditunjukkan pada gambar 4.4, jumlah sel pada tiap khamir dan tiap media perlakuan yang digunakan memiliki hasil yang berbeda-beda. Hal tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi substrat dan strain mikroba. Pada jenis khamir yang sama, namun substrat yang berbeda menghasilkan jumlah sel yang berbeda. Contohnya pada *C.akabenensis*, pada media M1 jumlah sel sebesar $2,8 \times 10^5$ sel/ml, pada media M2 jumlah sel sebesar $6,4 \times 10^5$ sel/ml, pada media M3 jumlah sel sebesar $3,4 \times 10^5$ sel/ml. Perbedaan konsentrasi substrat mengakibatkan pertumbuhan khamir yang dihasilkan berbeda.

Berdasarkan penelitian Saraswati (2014), semakin tinggi konsentrasi air kelapa maka semakin tinggi jumlah koloni *S. cerevisiae* yang dihasilkan. Semakin banyak kandungan media maka semakin banyak nutrisi pada media yang dimanfaatkan oleh khamir, sehingga khamir dapat cepat tumbuh dan bermultiplikasi. Sriwijajanti, dkk., (2019), menambahkan bahwa khamir tumbuh subur jika ditumbuhkan pada media yang cukup nutrisi, kurangnya sumber karbon pada media menyebabkan sel khamir mengalami penurunan. Namun Insani, dkk (2018), menyatakan bahwa nutrisi atau penambahan gula yang berlebihan menyebabkan larutan terlalu pekat dan dapat mengakibatkan kematian pada khamir. Sehingga untuk meningkatkan pertumbuhan suatu mikroba tidak hanya butuh konsentrasi yang tinggi melainkan konsentrasi yang optimal bagi mikroba tersebut. Penjelasan tersebut sesuai dengan hasil penelitian bahwa jumlah sel yang

tinggi pada perlakuan M2 dengan penambahan air kelapa 50%, bukan pada M1 dengan penambahan air kelapa 100%.

4.1.4 Viabilitas Sel

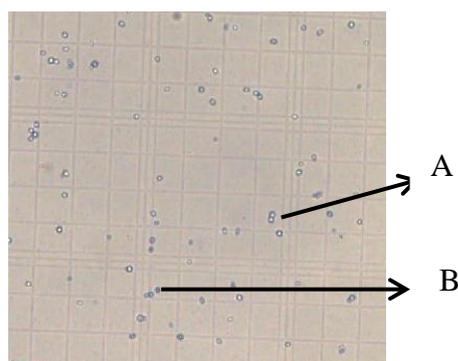
Viabilitas adalah kemampuan atau daya hidup suatu mikroba dalam sebuah media tertentu. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh data bahwa perlakuan air kelapa tidak pengaruh terhadap viabilitas khamir. Berdasarkan analisis uji Anova, uji air kelapa menghasilkan signifikan dibawah 0,05 ($> 0,05$) yang artinya perlakuan tidak berpengaruh terhadap viabilitas khamir kandidat pengembang roti. Data tersebut dapat dilihat pada lampiran 7e. Viabilitas terbaik pada perlakuan adalah khamir dengan notasi d, yaitu *C. tropicalis-1* pada M2 sebesar 93% dan M3 sebesar 92%, dan *C. tropicalis-2* pada M1 sebesar 93%.



Gambar 4.5 Pengaruh penambahan air kelapa terhadap viabilitas khamir kandidat pengembang roti. M1= penambahan air kelapa 100%, M2=penambahan air kelapa 50%, M3=penambahan air kelapa 0%. Y1=*C.tropicalis-1*, Y2=*C. tropicalis-2*, Y3=*H.opuntiae*, Y4=*C. akabenensis*. Keterangan: huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Duncan 5%

Rata-rata khamir memiliki viabilitas yang tinggi pada tiap perlakuan baik perlakuan penambahan air kelapa 100%, penambahan air kelapa 50% dan penambahan air kelapa 0% *C. tropicalis-1* memiliki viabilitas diatas 80% pada semua perlakuan, *C. tropicalis-2* memiliki viabilitas diatas 80% pada semua perlakuan, *C. akabenensis* memiliki viabilitas diatas 80% pada semua perlakuan,

sedangkan *H. opuntiae* memiliki viabilitas 80%, 76%, dan 67% pada media M1, M2, dan M3 secara berturut-turut. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian air kelapa tidak menghasilkan perbedaan yang nyata karena viabilitas hampir sama. Namun hasil menjelaskan bahwa media air kelapa merupakan media yang cocok untuk menumbuhkan keempat khamir dilihat dari viabilitas yang tinggi. Menurut Hartati, dkk (2020), empat jenis gula yang dapat dimanfaatkan oleh khamir *C. tropicalis* yaitu sukrosa, trehalosa, dan mannitol. Kandungan gula yang terdapat dalam air kelapa ialah sukrosa, sehingga menyebabkan khamir *C. tropicalis* mampu memanfaatkan gula tersebut dan dapat tumbuh dengan viabilitas yang tinggi.



Gambar 4.6 Pengamatan sel khamir menggunakan haemocytometer. A. sel hidup (warna bening/tidak berwarna), B. sel mati (warna sel biru)

Viabilitas pada penelitian ini diitung menggunakan *haemocytometer*. Pada alat tersebut, sel hidup dan mati akan terlihat dengan mengamati warna sel. Sel diberi pewarna methylene blue untuk memudahkan pengamatan. Menurut Puspitasari, dkk (2006), *Methylene blue* akan menghasilkan warna ketika terjadi reaksi reduksi oksidasi. Reduksi menyebabkan warna memudar dan oksidasi menyebabkan muncul warna biru. Sel khamir yang hidup memiliki kemampuan untuk mereduksi pewarna methylene blue sehingga warna memudar/tak berwarna. Sedangkan sel khamir yang mati tidak mampu mereduksi pewarna *methylene blue*

sehingga muncul warna biru sampai hitam. Pengamatan sel hidup dan mati dapat dilihat pada gambar 4.6.

4.2 Pengaruh Jenis Khamir terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti

Jenis khamir yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 4 jenis yaitu *Candida tropicalis-1*, *Candida tropicalis-2*, *Hanseniaspora opuntiae*, dan *Candida akabenensis*. Keempat jenis khamir ini diuji untuk mengetahui pertumbuhannya. Berdasarkan hasil penelitian dan uji statistika, jenis khamir berpengaruh terhadap biomassa, kerapatan sel, dan viabilitas sel khamir. Sedangkan pada total sel khamir tidak memiliki pengaruh. Khamir terbaik yang mampu meningkatkan pertumbuhan ialah jenis khamir Y2 yaitu *Candida tropicalis-2*. Hasil statistika dan hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 4.1 dan lampiran 7.

Tabel 4.1 Hasil Uji Pengaruh Jenis Khamir terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti

Jenis Khamir	Jenis media	Biomassa (gr)	Parameter pertumbuhan		
			Kerapatan sel (Nilai OD)	Total sel (sel/ml)	Viabilitas (%)
Y1	M1	0,4175 abc	1,929 a	1.8×10^5 a	91.9 cd
	M2	0,6200 ef	3,000 cd	6.1×10^5 cde	93.0 d
	M3	0,5575 bcde	2,481 cd	5.5×10^5 cde	92.8 d
Y2	M1	0,4300 a	2,489 bc	2.6×10^5 a	93.0 d
	M2	0,7925 g	3,184 d	6.9×10^5 e	92.7 cd
	M3	0,5325 de	2,649 cd	5.1×10^5 cd	93.1 cd
Y3	M1	0,3425 ab	1,774 ab	1.9×10^5 a	80.6 bc
	M2	0,4350 abcd	2,622 cd	5.5×10^5 cde	75.6 ab
	M3	0,4225 abcd	2,576 cd	5.6×10^5 cde	66.6 a
Y4	M1	0,5625 abcde	1,695 ab	2.8×10^5 ab	90.1 bcd
	M2	0,7000 fg	2,883 cd	6.4×10^5 de	97.5 bcd
	M3	0,4950 cde	1,726 ab	4.3×10^5 bc	89.7 bcd

Keterangan: M1= penambahan air kelapa 100%, M2= penambahan air kelapa 50%, M3= penambahan air kelapa 0%. Y1= *C.tropicalis-1*, Y2= *C. tropicalis-2*, Y3= *H.opuntiae*, Y4= *C. akabenensis*. Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Duncan

Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa khamir terbaik ialah *Candida tropicalis*-2. Hal ini dapat dikarenakan sebab setiap khamir memiliki kemampuan masing-masing. *Candida tropicalis* merupakan salah satu agen mikroba yang dapat memfermentasi bioethanol dari bahan lignoselulosa. Diketahui etanol yang dihasilkan mirip dengan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* rekombinan yang mengekspresikan amilase dan glukoamilase. Hasil menunjukkan bahwa *Candida tropicalis* dapat diaplikasikan sebagai mikroba agen untuk biokonversi biomassa lignocelulosi menjadi etanol (Hermansyah, *et al.* 2016). *C. tropicalis* yang dipadukan dengan *S. cerevisiae* memiliki karakteristik yang lebih baik dalam fermentasi sorghum daripada *S. cerevisiae* dalam keadaan murni. Hal tersebut menunjukkan bahwa *C. tropicalis* berkontribusi terhadap kualitas bir sorgum (Guessan, *et al.* 2010). Berdasarkan literature tersebut dapat diketahui jika spesies ini memiliki kemampuan yang baik dalam fermentasi sehingga menghasilkan biomassa yang lebih banyak dari jenis khamir yang lain.

Faktor strain mikroba mempengaruhi jumlah sel yang dihasilkan, jenis khamir yang berbeda pada substrat yang sama menghasilkan jumlah sel yang berbeda. Contohnya pada *C. tropicalis* I media M1 menghasilkan jumlah sel sebesar $1,8 \times 10^5$ sel/ml sedangkan pada *C. akabenensis* media M1 menghasilkan jumlah sel sebesar $2,8 \times 10^5$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setiap strain atau jenis khamir memiliki kemampuannya masing-masing dalam merespon suatu media. Menurut Pelzchar & Chan (2005), kondisi mikroba merupakan faktor internal yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Faktor internal yang mempengaruhi pertumbuhan suatu makhluk hidup terdiri atas hormon dan gen.

Hormon dan gen pada tiap spesies memiliki karakteristiknya masing-masing sehingga pada spesies yang berbeda menghasilkan kemampuan pertumbuhan yang berbeda juga, terdapat yang tumbuh dengan cepat dan tumbuh dengan lambat.

4.3 Pengaruh Metode *Freeze Drying* terhadap Viabilitas Sel dan Kemampuan Fermentasi Khamir Kandidat Pengembang Roti

4.3.1 Viabilitas Sel Khamir

Khamir setelah diproses dalam metode *freeze drying* menghasilkan bentuk yang berbeda dari sebelum dilakukan *freeze drying*. Bentuk awal berupa khamir yang tersuspensi dalam media cair, setelah dilakukan *freeze drying* berubah menjadi bentuk serbuk. Hasil proses *freeze drying* berupa serbuk dapat dilihat pada lampiran 7. Menurut Puspawati, *et al*, (2010), *freeze drying* merupakan teknik yang umumnya digunakan untuk mengawetkan kultur. *Freeze drying* atau pengeringan beku adalah metode dehidrasi yang terkenal banyak digunakan untuk mengawetkan mikroorganisme. Dengan kemampuannya menggabungkan pembekuan dan pengeringan, proses ini dapat menghasilkan produk akhir kering (Brashears dan Gilliland 1995). Sehingga diketahui bahwa bentuk akhir dari hasil *freeze drying* ialah serbuk kering karena adanya proses penghilangan air (dehidrasi) yang menyebabkan kadar air berkurang.

Pengamatan yang dilakukan pada uji ini ialah pengamatan viabilitas khamir. Viabilitas khamir didapatkan dari rasio jumlah koloni khamir sesudah dan sebelum dilakukan *freeze drying*. Menurut Sumanti *et al.*, (2016) viabilitas adalah kemampuan atau daya hidup sel untuk tumbuh secara normal pada kondisi optimal. Hasil viabilitas khamir pada penelitian ini ditunjukkan pada tabel 4.1. Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui khamir dapat hidup dilihat dari koloni

yang tumbuh pada cawan petri dan jumlah koloni yang terhitung namun viabilitas khamir tergolong rendah yaitu dibawah 20%, yang artinya tingkat kelangsungan hidup khamir rendah setelah diberi perlakuan *freeze drying*.

Khamir *C. tropicalis-1* memiliki viabilitas sebesar 14,67%, *C. tropicalis-2* sebesar 10,80%, *H. opuntiae* sebesar 9 %, dan *C. akabenensis* sebesar 10%. Hasil viabilitas yang berbeda pada tiap isolat khamir dipengaruhi oleh faktor gen pada khamir. Strain khamir berpengaruh terhadap kelangsungan hidup mikroba karena setiap khamir memiliki ciri khas atau karakter pertumbuhannya masing-masing. Walaupun perlakuan *freeze drying* yang dilakukan sama, khamir memiliki respon tersendiri tergantung pada unsur genetiknya untuk merespon sehingga hasil viabilitas tiap khamir berbeda. Menurut Pelchzar & Chan (2005), genetik mikroba merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan atau kelangsungan hidup suatu makhluk hidup.

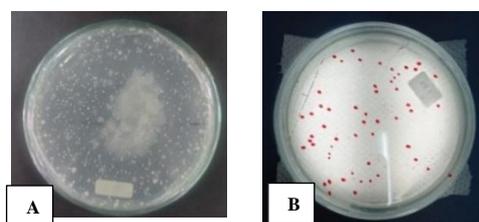
Tabel 4.2 Viabilitas Sel Khamir pada *Freeze drying*

Jenis Khamir	Jumlah koloni sebelum <i>freeze drying</i> (cfu/ml)	Jumlah koloni sesudah <i>freeze drying</i> (cfu/ml)	Viabilitas Sel (%)
<i>C. tropicalis-1</i>	$1,5 \times 10^6$	$2,2 \times 10^5$	14,67
<i>C. tropicalis-2</i>	$2,5 \times 10^6$	$2,7 \times 10^5$	10,80
<i>H. opuntiae</i>	6×10^5	$5,4 \times 10^4$	9,00
<i>C. akabenensis</i>	$8,4 \times 10^5$	$8,4 \times 10^4$	10,00

Menurut Ilyas (2007), batasan tinggi rendahnya viabilitas dapat ditentukan berdasarkan banyak sedikitnya rata-rata kerapatan koloni yang tumbuh. Isolat yang menunjukkan tingkat viabilitas tinggi (rerata CFU $\geq 1 \times 10^7$ /ml) dan sedang (rerata CFU $\geq 1 \times 10^6$ /ml). Adapun isolat yang menunjukkan tingkat viabilitas yang rendah (rerata CFU berkisar 1×10^5 /ml) atau sangat rendah (rerata CFU $\leq 1 \times 10^4$ /ml). Sehingga dapat diketahui bahwa viabilitas khamir setelah *freeze*

drying menunjukkan tingkat yang rendah karena jumlah koloni berkisar pada rentang 1×10^5 CFU/ml.

Kelangsungan hidup (viabilitas) khamir yang rendah yang ditunjukkan pada tabel 4.7 disebabkan oleh penurunan jumlah koloni setelah dilakukan *freeze drying* dibandingkan sebelum dilakukan *freeze drying*. Contohnya pada khamir *H. opuntiae* jumlah koloni sebelum *freeze drying* sebesar 6×10^5 cfu, sedangkan sesudah *freeze drying* sebesar $5,4 \times 10^4$ cfu. Penurunan jumlah koloni disebabkan oleh kondisi lingkungan tempat mikroba tumbuh. Menurut Pelchzar & Chan (2005), faktor eksternal atau lingkungan juga mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup makhluk hidup. Perubahan jumlah koloni secara visual dapat dilihat pada gambar 4.6.



Gambar 4.7. Pengamatan jumlah koloni pada khamir *Hanseniaspora opuntiae* pada pengenceran 10^{-3} (A. Jumlah koloni sebelum dilakukan *freeze drying*, B. Jumlah koloni sesudah dilakukan *freeze drying*)

Penurunan jumlah sel selama *freeze drying* disebabkan oleh proses *freeze drying*. Menurut Ray (1993), proses pembekuan menyebabkan sel kehilangan kestabilannya, sehingga menjadi mudah rusak selama pengeringan. Faktor utama penyebab kerusakan akibat pengeringan sel bakteri karena *shock osmotic* dengan kerusakan membran dan perpindahan ikatan hidrogen yang berpengaruh terhadap sifat-sifat makromolekul hidrofilik dalam sel. Puspawati, *et al*, (2010) menyatakan bahwa *freeze drying* dapat menyebabkan kerusakan sel mikroorganisme. Sehingga

proses tersebut menyebabkan sel mati dan mempengaruhi jumlah sel setelah proses *freeze drying*.

Pada penelitian ini menggunakan suhu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ pada saat proses pembekuan sebelum dilakukannya *freeze drying* dan tidak melakukan rehidrasi sebelum khamir digunakan. Hal tersebut diduga penyebab viabilitas khamir hasil *freeze drying* rendah. Menurut Abadias *et al.*, (2001), pembekuan pada $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ merupakan pilihan terbaik pada perlakuan terhadap *Candida sake* dengan kelangsungan hidup sebelum *freeze drying* $>85\%$ dan sesudah *freeze drying* berkisar 30% . Rehidrasi pada media standart juga diperlukan sebelum khamir digunakan.

Menurut Morgan dkk. (2006) dan Brashears dan Gilliland (1995), kelangsungan hidup mikroba selama proses ini tergantung pada banyak faktor, yaitu sifat resistensi intrinsik dari strain, konsentrasi awal mikroorganisme, kondisi pertumbuhan, media pengeringan, dan langkah atau prosedur pengeringan beku. Prosedur pengeringan beku sangat penting karena secara negatif mempengaruhi kelangsungan hidup dan fisiologis keadaan ragi. Walaupun proses *freeze drying* ini cenderung menyebabkan penurunan mikroba terdapat media tambahan yang bisa menstabilkan kondisi mikroba agar tetap memiliki viabilitas yang tinggi, yaitu bahan penyalut.

Bahan penyalut juga dimungkinkan menjadi faktor yang menyebabkan viabilitas yang rendah, karena dalam proses *freeze drying*, bahan penyalut memiliki peran yang penting sebagai pelindung dan nutrisi mikroba. Menurut Puspawati, *et al.*, (2010), bahan penyalut merupakan bahan yang digunakan untuk melapisi bahan inti (mikroorganisme) dengan tujuan tertentu seperti menutupi

rasa dan bau yang tidak enak, perlindungan terhadap pengaruh lingkungan, meningkatkan stabilitas, dan mencegah penguapan. Bahan penyalut yang umumnya digunakan sebagai enkapsulan dapat berasal dari gum, karbohidrat, dan protein seperti susu skim, laktosa, maltdekstrin, alginat, gum arab, pati, agar, gelatin, karagenan, albumin, dan kasein. Namun penggunaan bahan penyalut untuk enkapsulasi perlu pertimbangan, karena masing-masing bahan mempunyai karakter yang berbeda dan belum tentu cocok dengan bahan inti yang akan dienkapsulasi (Sumanti, *et al.*, 2016).

Susu skim yang digunakan dalam proses *freeze drying* pada penelitian ini merupakan bahan pilihan yang cocok sebab pada umumnya susu skim digunakan sebagai bahan penyalut pada proses *freeze drying*. Susu skim merupakan media pengeringan populer dan pelindung karena mengandung protein yang mencegah kerusakan sel (Puspawati, *et al.*, 2010). Namun berdasarkan hasil penggunaan satu jenis susu skim sebagai bahan penyalut diduga kurang optimal untuk viabilitas sel khamir sehingga diperlukan media tambahan lain untuk mendukung viabilitas sel agar tetap terjaga karena diduga penggunaan satu bahan penyalut menyebabkan viabilitas khamir rendah. Menurut Lin, *et al.*, (1995), pemilihan bahan penyalut yang akan melindungi bahan inti. Efisiensi yang optimal dapat dihasilkan dari matriks protein dan karbohidrat. Penggunaan dua bahan enkapsulan menghasilkan efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan penggunaan satu enkapsulan atau bahan penyalut. Penggunaan bahan penyalut yang hanya satu jenis pada penelitian ini diduga penyebab viabilitas khamir rendah.

Penambahan maltodekstrin yang dikombinasikan dengan susu skim 10% menghasilkan viabilitas sel *Lactobacillus plantarum* yang tinggi sebesar 97,76%

(Sumanti, dkk., 2017). Semakin tinggi konsentrasi penyalut, efisiensi enkapsulasi semakin meningkat, lapisan kulit (*shell*) semakin baik dan kuat, sehingga dapat melindungi bahan inti dengan baik serta melindungi zat yang mudah menguap ketika proses pengeringan berlangsung, yang berakibat retensi bahan inti semakin meningkat. Namun jumlah penyalut yang terlalu tinggi membuat suspensi menjadi kental sehingga menyulitkan atomisasi dan menurunkan retensi bahan inti (Sugindro, dkk., 2008). Oleh karena itu, diperlukan konsentrasi bahan penyalut yang optimal.

Penelitian Polomska (2012), juga melaporkan bahwa kelangsungan hidup khamir pada tiga kombinasi yang terdiri dari susu skim, trehalose, dan glutamate menghasilkan hasil signifikan dibandingkan dengan bahan yang digunakan tunggal. Media terbaik untuk *Candida kefyr*, dan *Candida sphaerica* ialah susu skim dan trehalose dengan viabilitas berkisar antar 74-80% setelah proses *freeze drying* dan relatif stabil selama penyimpanan satu tahun.

Mosilhey (2003), menyatakan bahwa material enkapsulan atau bahan penyalut yang berbeda menyebabkan retensi bahan isian yang juga berbeda. Putri, dkk., (2008), protektan juga berpengaruh terhadap ketahanan viabilitas sel akibat proses pengeringan. Sukrosa mempunyai berat molekul yang besar sehingga memungkinkan bagi sukrosa untuk melapisi membran sel dari luar. Akibatnya selain penyedia energi, sukrosa juga dapat berperan sebagai bahan protektan ekstraseluler.

Khamir *C. tropicalis-1* memiliki viabilitas sebesar 14,67%, *C. tropicalis-2* sebesar 10,80%, *H. opuntiae* sebesar 9 %, dan *C. akabenensis* sebesar 10%. Hasil viabilitas yang berbeda pada tiap isolat khamir dipengaruhi oleh faktor gen pada

khamir. Strain khamir berpengaruh terhadap kelangsungan hidup mikroba karena setiap khamir memiliki ciri khas atau karakter pertumbuhannya masing-masing. Walaupun perlakuan *freeze drying* yang dilakukan sama, khamir memiliki respon tersendiri tergantung pada unsur genetiknya untuk merespon sehingga hasil viabilitas tiap khamir berbeda. Menurut Pelchzar & Chan (2005), genetik mikroba merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan atau kelangsungan hidup suatu makhluk hidup.

4.3.2 Kemampuan Fermentasi Khamir

Kemampuan fermentasi khamir ialah kemampuan khamir dalam mengubah gula (glukosa, maltose) menjadi adenosine trifosfat (ATP), etanol dan karbon dioksida. Karbon dioksida yang dihasilkan di dalam adonan menyebabkan adonan mengembang. Pada khamir roti, strain yang menghasilkan karbon dioksida lebih umum daripada etanol, sebaliknya pada industri pembuatan bir lebih umum etanol daripada karbon dioksida (Oca, *et al.*, 2016).

Khamir yang digunakan dalam uji ini merupakan khamir hasil *freeze drying* yang telah diberi perlakuan *freeze drying* pada tahap sebelumnya, yang awalnya isolat tersuspensi dalam media cair, kemudian berubah bentuk menjadi serbuk kering. Khamir berupa serbuk tersebut yang diuji pada adonan roti. Bentuk serbuk dapat dilihat pada lampiran 1 e. Adapun tujuan dari uji ini ialah untuk mengetahui kemampuan fermentasi khamir yang telah diberi perlakuan *freeze drying* pada adonan roti.

Pengamatan kemampuan fermentasi diamati berdasarkan volume yang dihasilkan pada adonan roti yang telah diberi tambahan khamir. Menurut Maicas (2020), reaksi kimia yang terjadi saat fermentasi khamir berlangsung pada adonan

roti ialah khamir mengubah glukosa pada adonan menjadi karbondioksida, etanol dan ATP. Adanya gas karbon dioksida ditandai dengan mengembangnya adonan roti. Rongga-rongga yang ada pada adonan merupakan hasil dari gas karbon dioksida yang dihasilkan. Sehingga untuk mempermudah pengamatan kemampuan fermentasi khamir pada adonan roti, dapat dilakukan pengamatan berdasarkan volume adonan yang dihasilkan. Seperti halnya yang dilakukan pada penelitian Karki, *et al.*, (2017), dalam menyeleksi isolat khamir yang berpotensi sebagai khamir roti, salah satu uji yang dilakukan dengan mengamati volume adonan roti yang dihasilkan. Khamir yang menghasilkan volume adonan roti paling tinggi berpotensi sebagai khamir kandidat pengembang roti.

Pengamatan kemampuan fermentasi dilakukan 2 kali yaitu volume adonan roti setelah dilakukan *proofing* selama 12 jam dan volume roti setelah dilakukan *proofing* selama 2 jam kemudian dipanggang. *Proofing* adalah suatu tahap untuk mengistirahatkan adonan dalam proses pembuatan roti. Tujuan dari proses ini yaitu membuat roti mampu mengembang dengan sempurna. Berdasarkan hasil pengamatan pertama pada adonan roti yang telah dilakukan *proofing* selama 12 jam yang ditunjukkan pada gambar 4.7, diperoleh data bahwa keempat khamir yang diuji, yaitu *C. tropicalis-1*, *C. tropicalis-2*, *H. opuntiae*, dan *C. akabenensis* tidak menghasilkan volume adonan jika dibandingkan dengan kontrol positif yang menggunakan khamir komersial (merk fermipan).

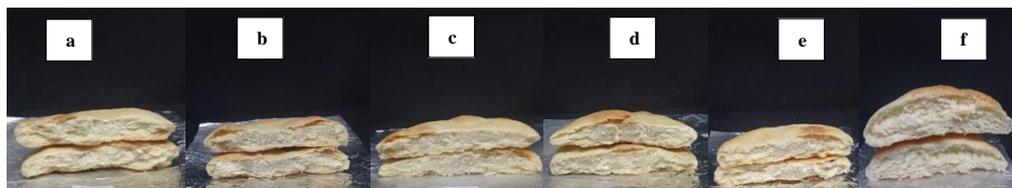
Adonan roti yang diberi *C. tropicalis-1*, adonan menghasilkan tinggi 1,5 cm dengan volume 33,55 cm³, *C. tropicalis-2* menghasilkan tinggi 1,5 cm dengan volume 33,55 cm³, *H. opuntiae* menghasilkan tinggi 1,5 cm dengan volume 33,55 cm³ dan *C. akabenensis* menghasilkan tinggi 1,5 cm dengan volume 33,55 cm³.

Sedangkan pada kontrol positif menghasilkan tinggi adonan 3,5 cm dengan volume $182,71\text{cm}^3$. Keempat isolat khamir yang diuji memiliki tinggi yang sama dengan kontrol negatif (tanpa diberi khamir), yang artinya keempat khamir tidak mampu mengembangkan adonan roti tersebut



Gambar 4.8 Pengamatan kemampuan fermentasi isolat khamir berdasarkan volume adonan roti yang telah *diproofing* selama 12 jam (a. *C. Tropicalis-1*, b. *C.tropicalis-2*, c. *H. Opuntiae*, d. *C. Akabenensis*, e. kontrol negatif (tanpa khamir), f. Kontrol positif (ragi komersial merk fermipan))

Pengamatan kedua ialah pengamatan volume roti setelah dilakukan *proofing* selama 2 jam dan kemudian dipanggang. Hasil pengamatan ditunjukkan pada gambar 4.9. Diperoleh hasil yang sama dengan volume adonan roti yang *diproofing* selama 12 jam, yaitu keempat isolat khamir kandidat pengembang roti juga tidak mampu mengembangkan roti jika dibandingkan kontrol positif.



Gambar 4.9 Pengamatan kemampuan fermentasi isolat khamir berdasarkan volume adonan roti yang telah *diproofing* selama 2 jam dan dipanggang (a. *C. Tropicalis-1*, b. *C.tropicalis-2*, c. *H. Opuntiae*, d. *C. Akabenensis*, e. kontrol negatif (tanpa khamir), f. Kontrol positif (ragi komersial merk fermipan))

Ketidakmampuan khamir dalam mengembangkan adonan roti tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Menurut Kunaepah (2008), ada banyak faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, oksigen, dan mikroba yang digunakan. Berdasarkan metode yang digunakan dalam penelitian ini, faktor yang paling mempengaruhi kemampuan fermentasi pada penelitian ini ialah mikroba yang digunakan karena substrat, suhu, pH, dan oksigen memiliki kondisi yang seragam, sedangkan pembedanya hanya pada mikroba yang digunakan.

Faktor yang menyebabkan khamir tidak mampu mengembangkan adonan roti ialah kondisi mikroba. Pada penelitian sebelumnya, mikroba atau khamir yang digunakan dalam penelitian ini adalah khamir kandidat pengembang roti yang berpotensi mengembangkan adonan roti. Berdasarkan penelitian Indriani (2021), dalam kondisi isolat khamir murni (tanpa perlakuan *freeze drying*), *C. akabenensis* menghasilkan volume 200,96 cm³ pada menit ke-720 (12 jam) dan menghasilkan volume 75,36 cm³ pada menit ke-120 (2 jam). Sedangkan pada *Hanseniaspora opuntiae* menghasilkan 125,6 cm³ pada menit ke-720 (12 jam) dan menghasilkan volume 125,6 cm³ pada menit ke-120 (2 jam). Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Indriani (2021) terkait isolat khamir yang digunakan ialah khamir dengan spesies yang sama, maka dapat diketahui bahwa perlakuan *freeze drying* yang telah dilakukan pada tahap sebelumnya pada penelitian ini yang mengakibatkan adonan roti tidak mengembang karena ketika isolat murni yang diuji secara langsung tanpa perlakuan *freeze drying* menghasilkan volume adonan roti dan sebanding dengan kontrol positif.

Keempat isolat khamir kandidat pengembang roti, setelah dilakukan *freeze drying* memiliki viabilitas yang rendah dan jumlah koloni yang rendah jika dibandingkan sebelum dilakukan *freeze drying*. Hal tersebut yang mengakibatkan adonan tidak mengembang. Menurut Pelczar & Chan (2005), jumlah atau konsentrasi mikroba merupakan faktor yang mempengaruhi hasil fermentasi. Jumlah mikroba berbanding lurus dengan hasil fermentasi, jika jumlah mikroba yang ditambahkan pada adonan tinggi maka hasil fermentasinya juga tinggi. Apabila jumlah mikroba yang ditambahkan pada adonan rendah maka hasil fermentasi juga rendah.

Pada penelitian ini, jumlah sel mikroba yang ditambahkan pada adonan tidak sama dengan kontrol positif, yang sama hanya biomasanya atau berat kering yang digunakan. Jumlah koloni yang ditambahkan pada penelitian ini sebesar $2,2 \times 10^5$ cfu, $2,7 \times 10^5$ cfu, $5,4 \times 10^4$ cfu, dan $8,4 \times 10^4$ cfu sedangkan pada kontrol positif jauh lebih tinggi dari jumlah tersebut. Seperti halnya pada penelitian Zahroh (2021), pada khamir dengan biomassa yang sama menghasilkan volume adonan yang berbeda karena pada biomassa yang sama belum tentu memiliki jumlah sel yang sama. Pada biomassa yang sama yaitu 0,6 gr, khamir YIS-3 memiliki jumlah sel 3×10^7 sel/ml sedangkan pada kontrol positif merk fermipan memiliki jumlah sel 4×10^7 sel/ml.

Faktor lain yang menyebabkan mikroba tidak mampu mengembangkan adonan seperti kontrol positif ialah kandungan tambahan pada kontrol positif. Mikroba pada kontrol positif ialah *Saccharomyces cerevisiae* yang telah umum digunakan untuk mengembangkan adonan sejak lama. Menurut Oca, *et al.*, (2016) Khamir yang pada umumnya dimanfaatkan dalam industri pangan ialah

Saccharomyces cerevisiae. *Saccharomyces cerevisiae* umumnya dikenal sebagai ragi roti atau ragi pembuat bir yang telah digunakan selama berabad-abad. Khamir kontrol positif (fermipan) mengandung pengemulsi sorbitan monostearate E49 dalam komposisinya. Menurut Mortensen *et al.*, (2017), dalam pembuatan roti, pengemulsi sorbitan monostearate berfungsi memperbaiki dan menambah volume roti sehingga lebih mengembang dan menjaga kestabilan tekstur roti. Pengemulsi tersebut yang menyebabkan adonan roti mengembang dibandingkan isolat khamir tanpa pengemulsi.

4.4 Tinjauan Hasil Penelitian dalam Perspektif Al-Qur'an

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan air kelapa dan jenis khamir memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan khamir, dilihat dari parameter biomassa, kerapatan sel, total sel, dan viabilitasnya. Dapat disimpulkan bahwa air kelapa berpotensi digunakan sebagai media pertumbuhan khamir. Air kelapa merupakan bagian dari tumbuhan yang ada di alam. Berdasarkan Al Quran yang merupakan sumber informasi dalam kehidupan yang fana ini, keberadaan tumbuhan di alam ialah rahmat dari Allah SWT yang diberikan kepada manusia. Sebagaimana yang terdapat dalam Al Quran surah Taha ayat 53 sebagai berikut:

5 الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً

فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

Artinya : “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (Q.S Taha :53)

Menurut tafsir jalalain, Allah SWT menurunkan air dari langit yakni hujan. Allah SWT menggambarkan apa yang telah disebutkanNya itu sebagai nikmat dariNya. Maka ditumbuhkan dari air hujan tadi tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya. Pada kata “bermacam-macam” artinya keanekaragaman, Allah SWT menegaskan bahwa dalam penciptaanNya terdiri dari berbagai macam jenis makhluk hidup dengan manfaatnya masing-masing. Tidak ada makhluk hidup yang diciptakan sia-sia tanpa adanya manfaat yang ada. Salah satunya adalah tumbuhan kelapa. Kelapa (*Cocos nucifera L.*) merupakan pohon yang tumbuh subur di negara tropis dan subtropis. Air kelapa merupakan bagian dari buah kelapa yang diperoleh dari endosperma cair. Air kelapa termasuk produk alami yang dianggap sebagai produk buangan yang mengandung energi, air, protein, lemak, karbohidrat, kolesterol, vitamin, kalsium, dan mineral lainnya. Air kelapa diciptakan tidak sia-sia, dalam penelitian ini air kelapa dapat disimpulkan bahwa air kelapa merupakan rahmat dari Allah SWT yang dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti.

Selain itu, pemanfaatan air kelapa sebagai sesuatu yang bermanfaat dapat tersirat dalam Al Quran surat surat Ali Imron ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
 السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Yang artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk,

atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata). “Ya Tuhan, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka” (QS:3:190-191).

Menurut tafsir, surat Ali Imron ayat 190-191 menerangkan bahwa ketika penciptaan langit dan bumi serta silih bergantinya malam dan siang yang menandakan kekuasaan Allah SWT untuk ulul albab. Buya hamka menjelaskan dalam tafsir Al-Azhar bahwa Allah mengarahkan hamba-hambaNya untuk merenungkan alam, langit. Dan bumi. Dia mengarahkan semua hambaNya supaya memakai pikirannya dan memperhatikan pergantian antara siang dan malam.

Semua itu penuh dengan tanda-tanda kekuasaan dan kebesaran Allah SWT. Setiap orang yang bisa memahami bahwa penciptaan langit dan bumi serta pergantian siang dan malam adalah tanda kekuasaan Allah SWT, maka mereka adalah ulul albab. Menurut Ibnu Katsir, mereka merupakan orang yang memiliki akal sempurna dan memiliki kecerdasan.

Ali Imron ayat 191 menerangkan tentang ciri-ciri ulul albab. Ulul albab merupakan orang yang sering berdzikir dan berpikir. Ia berdzikir dalam semua kondisi, baik berdiri, duduk, maupun berbaring. Ia juga memikirkan penciptaan alam semesta sampai pada kesimpulan bahwa Allah yang menciptakan alam tidaklah sia-sia. Oleh sebab itu, ia pun kemudian berdoa kepada Allah SWT dan memohon perlindungan dari kejahnya siksa neraka.

Kalimat “Allah menciptakan alam tidaklah sia-sia” pada surat Ali Imron ayat 191 dapat menjadi sumber informasi bahwa apa yang ada di bumi tidak ada yang sia-sia jika manusia mau berpikir dengan akal pikirannya. Seperti halnya air kelapa yang terkadang tidak dimanfaatkan, ternyata berdasarkan hasil penelitian

ini, memiliki manfaat lain yang dapat digunakan sebagai media pertumbuhan khamir kandidat pengembang roti.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah:

1. Penambahan air kelapa berpengaruh terhadap biomassa, kerapatan sel, dan total sel khamir kandidat pengembang roti, sedangkan pada viabilitas sel tidak berpengaruh. Penambahan air kelapa dengan konsentrasi 50% (M2) merupakan konsentrasi terbaik pada setiap khamir.
2. Jenis khamir berpengaruh terhadap biomassa, kerapatan sel, dan viabilitas sel, sedangkan pada total sel tidak berpengaruh. Khamir terbaik ialah Y2 (*Candida tropicalis*-2) dengan biomassa sebesar 0,7925 gr/50 ml, kerapatan sel sebesar 3,18475, total sejumlah $6,95 \times 10^5$ sel/ml, dan viabilitas sebesar 93%.
3. Metode *freeze drying* belum mampu menghasilkan viabilitas dan kemampuan fermentasi yang optimal. Viabilitas yang dihasilkan sebesar < 20% pada setiap khamir dan volume adonan roti sebesar 33,55 cm³.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini antara lain media dengan penambahan air kelapa dengan konsentrasi 50% dapat digunakan sebagai alternatif media untuk menumbuhkan khamir serta diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai metode *freeze drying* yang lebih sesuai dan bahan penyalut tambahan agar viabilitas khamir tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abna, I. M. 2018. Pemanfaatan Limbah Air Kelapa sebagai Substrat oleh *Bacillus subtilis* ATCC 6051 untuk Produksi Antibiotika. *Forum Ilmiah*, 15 (2).
- Abadias, M., Benabarre, A., Teido, N., dan Vinas. 2001. Effect of Freeze Drying and Protectants On Viability of The Biocontrol Yeast *Candida sake*. *International Journal foof Microbiology*, 65.
- Anjani, N. 2020. Isolasi dan Identifikasi Khamir Endofit Dari Jagung Manis (*Zea Mays* Var. *Saccharata* Sturt) Dan Buah Pepaya (*Carica Papaya* L.) Serta Uji Potensinya Sebagai Pengembang Roti. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Clarizza, V. 2015. Pengaruh Konsentrasi Cryoprotectant Susu Skim terhadap Viabilitas *L. plantarum* Selama pembekuan, *Freeze drying*, dan Penyimpanan. 2015. *Skripsi*. Jurusan teknologi pangan dan hasil pertanian. Univerrrsitas gajah mada.
- Darajah, R. 2020. Isolasi dan Identifikasi Khamir Endofit Yang Berpotensi Sebagai Pengembang Roti Dari Nira Tebu (*Saccharum Offiicinarum Linnaeus*) Dan Buah Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* Lamk). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sais Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Gilliland, S. E. 1985. *Bacterial Starter Cultures for Food*. CRC Press Inc., Florida.
- Hanifah . 2021. Uji Kemampuan Isolat Khamir Endofit *Candida Tropicalis* Hasil Isolsi Dari Jagung Manis Sebagai Pengembang Roti. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hardianto, Muhibuddin, dan Sektiono, W. 2018. Optimalisasi Fosfat untuk Meningkatkan Pertumbuhan Kerapatan Populasi dan Kemampuan Antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 10 (2).
- Hartati, Sri., Sumbari, T.A., Naahi, C., & Kurniawan. 2020. Penambahan Gula pada Medium Biakan untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Kemampuan Antagonisme *Candida tropicalis* terhadap Patogen Penyebab Penyakit Layu *Fusarium* Tomat. *Jurnal Agrikultura* 2020, 31 (2).
- Ilyas, Muhammad. 2007. Uji Viabilitas Koleksi Kapang LIPI-MC dalam Ampul Penyimpanan Kering-beku L-drying setelah Satu Tahun Penyimpanan pada Suhu 5° C. *Biodiversitas*. Vol 8. No 1.
- Indriani, P. 2021. Uji Kemampuan Isolat Khamir Endofit Hasil Isolasi Dari Nira Tebu Sebagai Pengembang Roti. 2021. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Insani, H., Rizqiati, H., dan Pratama, Y. 2018. Pengaruh Variasi Konsentrasi Sukrosa terhadap Total Khamir, Total Padatan Terlarut, Kadar Alkohol dan Mutu Hedonik pada Water Kefir Buah Naga Merah (*Hyloreceus polyrhizus*). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(2).
- IT IS, 2022. <https://www.itis.gov/> (online)

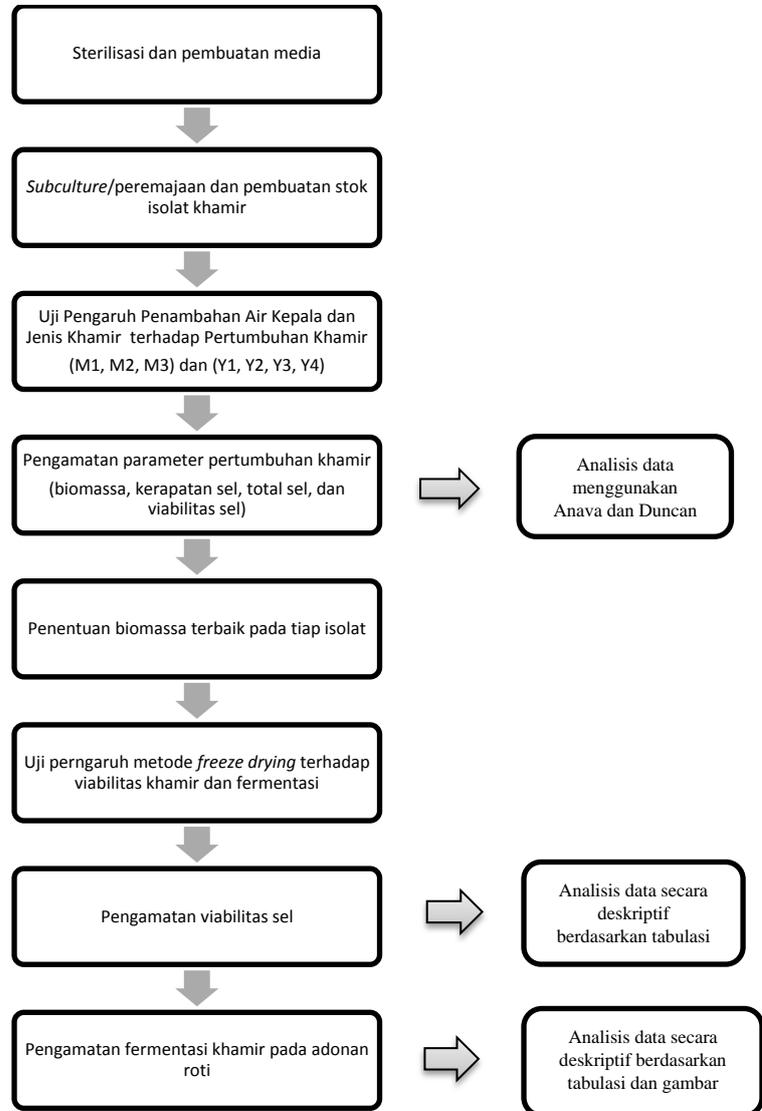
- Julistiono, H. 2012. Cekaman Oksidasi Sel Khamir *Candida Tropicalis* Yang Diperlakukan Dengan Parasetamol Dan Antioksidan (+)-Katekin* [Oxidative Stress in *Candida tropicalis* Treated with Paracetamol and Antioxidant]. *Berita Biologi* 11(1)
- Karki, T.B., Timilsina, P.M., A., Pandey, G. R., Joshi, Y., Bhujel, S., & Neupane, K. 2017. Selection and Characterization of Potential Baker's Yeast from Indigenous Resources of Nepal. *Biotechnology research international*.
- Khan, M. A., Javed, M.M., Ain, Q., Zahoor, & Iqbal, K. 2020. Process optimization for the production of Yeast Extract from fresh Baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). www.preprints.org.
- Kunaepah. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Gula terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kutzman, C. P. & Fell, J. W. 1998. *Definition, classification, and nomenclature of the yeast*. The Yeast : Fourth Edition.
- Lay, W.B, 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lajnah Pentashihan Mushaf Al Qur'an. 2015. Tafsir Ilmi : Jasad Renik dalam Perspektif Al Qur'an dan Sains. DIPA.
- Li, Z, & Cui, Mingyu. 2019. Performance of non-*Saccharomyces* yeast isolated from Jiaozi in dough fermentation and steamed bread making. *LWT*, 111.
- Madigan, M. T., J. M. Martindo, dan J. Parker. 2002. *Brock Biology of Microorganism*. Prentice Hall Inc. New Jersey.
- 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).
- Maicas, S. 2020. *The Role of Yeast in Fermentation Processes*. *Microorganism*, 8.
- Maryana, T., Silsia, D., & Budiyo. 2020. Pengaruh Konsentrasi dan Jenis Ragi pada Produksi Bioetanol dari Ampas Tebu. *Jurnal Agroindustri*. 10 (1), 47-56.
- Mortensen, A., Aguilar, Ff., Crebelli, R. 2017. Re-Evaluation Of Sorbitan Monostearate (E 491), Sorbitan Tristearate (E 492), Sorbitan Monolaurate (E 493), Sorbitan Monooleate (E 494) And Sorbitan Monopalmitate (E 495) When Used As Food Additives. *EFSA Journal*, 15 (5).
- Mosilhey, S. H. 2003. Influence of Different Capsule Materials on the Physiological properties of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. www.academicjournal.org.
- Murad, H.A., Hosseiny, E.N., Elhamid, A.M.A., El-Khair, A. G., Azzaz, H.H., & Zahran, M. O. 2019. Utilization of Hydrolyzed UF-permeate Supplemented with Different Nitrogen Sources and Vitamins for Production of Baker's Yeast. *Biotechnology*. 18 (2), 55-63.
- Nasir, A., Rahman, S.S., Hossain, M.M & Choudury, N. 2017. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* from pineapple and orange and study of metal's effectiveness on ethanol production. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 7 (1).
- Oca, M., Salem, A.Z. M., Kholif, A. E., Monroy, H., Perez, L. S., Zamora, J. L., & Gutierrez, A. 2016. *Yeast : Description And Structure*.

- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Portugal, C. B., da Cruz, S. H., & Andreote, F. D. 2020. Shifts In Microbial Community Structure Could Be Linked To Weather Anomalies? A Case Study On Cachaca (Sugarcane Distilled Spirit) Fermentation. *Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agriculture*, 95 (1).
- Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*,. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Pusdik. 2018. *E-learning pusat pendidikan kelautan dan perikanan*. www.pusdik.kkp.go.id.
- Puspawati, N., Nuraida L, dan Adawiyah D. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung Untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Air Susu Ibu Pada Proses Pengeringan Beku. *J. Teknologi Dan Industri Pangan*, 21 (1).
- Puspitasari, I., Haryanti, S., & Prihastanti, E. 2006. Efektivitas Konsentrasi Sorbitol dalam Medium Purifikasi dalam Menghasilkan Jumlah Sel Viabel pada Isolasi Sel Mesofil Daun Pegagan (*Centella asiatica L.*). *Bulletin Anatomi dan Fisiologi*, 14 (2).
- Putri, W. D., Widyaningsih, T. D., & Ningtyas, D.W. Produksi Biolaktat Kering Kultur Campuran *Lactobacillus sp.* Dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 9 (2).
- Polomska, X., Wojtatowicz, M. arowska, B., &Chrzanowska. 20012. Freeze drying Preservation of Yeast Culture For Cheese Production. *Polish Journal od Food and Nutrition Science*, 62 (3).
- Radji, M., 2010, *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*, Penerbit EGC, Jakarta.
- Renato G, Rau U. 2009. Coconut Water As A Novel Culture Medium For The Biotechnological Production Of *Schiophyllan*. *J Nature Study*, 7 (2).
- Rizqiati, H. 2006. Ketahanan Dan Viabilitas L. Plantarum Yang Dienkapsulasi Dengan Susu Skim Dan Gum Arab Setelah Pengeringan Dan Penyimpanan. *Tesis*. ITB Bogor.
- Sitepu, K. M. 2019. Penentuan Konsentrasi Ragi Pada Pembuatan Roti. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Agrokompleks*, 2 (1), 20-26.
- Sriwijayanti, Bintang, M., dan Hasan, A.E. 2019. Aktivitas Inhibisi Ekstrak Etil Asetat Bakteri Endofit Daun Sirsak (*Annona Muricata L*) Terhadap Viabilitas Khamir *Saccharomyces*. *Jurnal Itekima*, 5 (1).
- Struyf, N., Maelen, E. V., Hemdane, Sami., Verspreet, J., Verstrepn, K. J., & Coutin, C. M. 2017. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*. 00.
- Sudarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Sumanti, D., Lanti, I, Hanidah, I., Sukarminah E., Giovanni A. 2016. Pengaruh Konsentrai Susu Skim Dan Maltodeskrtrin Sebagai Penyalut Terhadap Viabilitas Dan Karakteristik Mikroenkapsulai Suspense Bakteri *Lactobacillus Plantarum* Menggunakan Metode *Freeze drying*. *Jurnal Penelitian Pangan*, 1 (1).
- Suryaningsih, V., Ferniah, R. S., dan Kusdiyantini. 2018. Karakteristik Morffologi, Biokimia, dan Molekuler Isolat khamir IK-2 Hasil Isolasi dari Kus Buah Sirsak (*Annona ,muricata*). *Jurnal Biologi*, 7 (1), 18-25.

- Tafsir Kemenag RI. (online tafsir pada AlQuran).
- Takeuchi, T. 2001. Cell Proliferation And Development. *Development Growth And Differentiation*, 56 (5).
- Vigliar R, Sdepanian VL, Fagundes Neto. 2006. Biochemical Profile Of Coconut Water From Coconut Palm Planted In An Inland Region. *J Pediatr*. Vol 82.
- Walker, G.M. (1998) *Baker's yeast*. In: *Yeast Physiology and Biotechnology*, pp. 303. Wiley and Sons, Chichester.
- Zahroh, N.F.I. 2021. Pengaruh Penambahan Sumber Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Roti Hasil Fermentasi dari Khamir Endofit Buah Salak. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malaulana Malik Ibrahim Malang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Prosedur Penelitian



Lampiran 2.Pola Rancangan

Tabel 2.1 Pola Variabel bebas dan Terikat pada Penelitian pada Uji Pengaruh Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Khamir Kandidat Pengembang Roti

Jenis Khamir	Jenis media	Parameter pertumbuhan			
		Biomassa (gr)	Kerapatan sel (Nilai OD)	Total sel (sel/ml)	Viabilitas (%)
Y1	M1	B11	K11	T11	V11
	M2	B12	K12	T12	V12
	M3	B13	K13	T13	V13
Y2	M1	B21	K21	T21	V21
	M2	B22	K22	T22	V22
	M3	B23	K23	T23	V23
Y3	M1	B31	K31	T31	V31
	M2	B32	K32	T32	V32
	M3	B33	K33	T33	V33
Y4	M1	B41	K41	T41	V41
	M2	B42	K42	T42	V42
	M3	B43	K43	T43	V43

Hasil terbaik pada tiap khamir berdasarkan biomassa di uji lanjut menggunakan metode *freeze drying*.

Tabel 2.2 Pola Hasil Uji Pengaruh *Freeze drying* terhadap Viabilitas Khamir

Khamir	Media	Jumlah koloni sebelum <i>FD</i>	Jumlah koloni sesudah <i>FD</i>	Viabilitas Sel (%)
Y1	M2	JAY1	JBY1	VY1
Y2	M2	JAY2	JBY2	VY2
Y3	M2	JAY3	JBY3	VY3
Y4	M2	JAY4	JBY4	VY4

Tabel 2.3 Pola Data Hasil Uji Pengaruh Khamir Hasil *FD* terhadap Kemampuan Fermentasi pada Adonan Roti

Khamir hasil <i>FD</i>	Volume adonan proofing 12 jam	Volume adonan proofing 2 jam dan dipanggang

Y1	VAY1	VBY1
Y2	VAY2	VBY2
Y3	VAY3	VBY3
Y4	VAY4	VBY4

Lampiran 3. Hasil Pengamatan Biomassa Sel Khamir

Tabel 3.1 Biomassa sel khamir setelah diberi perlakuan pada media air kelapa

Jenis Khamir	Jenis media	Ulangan				Rerata biomassa (gr/50ml)	Notasi
		1	2	3	4		
Y1	m1	0,43	0,43	0,42	0,39	0,4175	abc
	m2	0,66	0,6	0,64	0,58	0,6200	ef
	m3	0,5	0,6	0,5	0,63	0,5575	bcde
Y2	m1	0,34	0,39	0,47	0,52	0,4300	a
	m2	0,82	0,74	0,95	0,66	0,7925	g
	m3	0,61	0,62	0,43	0,47	0,5325	de
Y3	m1	0,35	0,46	0,42	0,14	0,3425	ab
	m2	0,52	0,54	0,4	0,28	0,4350	abcd
	m3	0,51	0,43	0,35	0,4	0,4225	abcd
Y4	m1	0,56	0,47	0,51	0,71	0,5625	abcde
	m2	0,78	0,69	0,73	0,6	0,7000	fg
	m3	0,56	0,51	0,54	0,37	0,4950	cde

Lampiran 4. Hasil Pengamatan Kerapatan Sel Khamir

Tabel 4.1 Kerapatan sel khamir setelah diberi perlakuan pada media air kelapa

Jenis Khamir	Perlakuan media	Ulangan				Rerata kerapatan sel (nilai OD)	Notasi
		1	2	3	4		
Y1	m1	0,235	2,25 9	2,47 2	2,75	1,929	a
	m2	3,428	3,21 5	2,74	2,61 7	3,000	cd
	m3	2,602	2,43 1	2,90 3	1,99	2,4815	cd
Y2	m1	2,426	2,21 9	2,54 2	2,77	2,4892	bc
	m2	3,292	3,28 5	3,08 1	3,08 1	3,1847	d
	m3	2,654	2,68 8	2,45 1	2,80 4	2,6492	cd
Y3	m1	1,777	1,85 4	1,77 4	1,69 4	1,7747	ab
	m2	2,376	2,73 4	2,69	2,69	2,6225	cd
	m3	2,435	2,66 9	2,49 6	2,70 4	2,576	cd
Y4	m1	1,695	1,69 4	1,69 7	1,69 6	1,6955	ab
	m2	3,171	2,80 5	2,75 3	2,80 5	2,8835	cd
	m3	1,741	1,70 8	1,74 7	1,70 8	1,726	ab

Lampiran 5. Hasil Pengamatan Total Sel Khamir

Tabel 5.1 Total sel khamir setelah diberi perlakuan pada media air kelapa

Jenis khamir	Jenis media	Ulangan				Rerata total sel (sel/ml) x 10^5	Notasi
		u1	u2	u3	u4		
Y1	M1	1.96	1.82	1.54	3.08	1.773333	a
	M2	6.44	5.46	6.3	5.46	6.066667	cde
	M3	5.46	5.32	5.88	5.6	5.553333	cde
Y2	M1	1.4	4.9	1.54	2.66	2.613333	a
	M2	6.3	6.72	7.84	8.26	6.953333	e
	M3	4.48	5.6	5.18	6.3	5.086667	cd
Y3	M1	2.38	1.4	1.96	7.7	1.913333	a
	M2	6.58	4.2	5.74	7.28	5.506667	cde
	M3	4.9	5.6	6.44	3.36	5.646667	cde
Y4	M1	3.78	2.66	1.96	2.24	2.8	ab
	M2	6.3	7	5.88	7.42	6.393333	de
	M3	4.9	5.46	2.66	3.78	4.34	bc

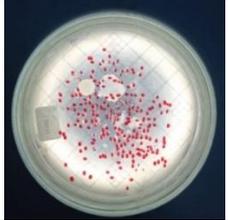
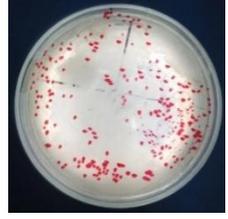
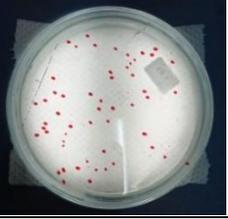
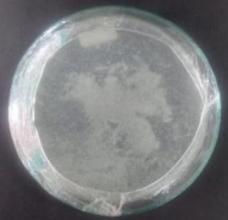
Lampiran 6. Hasil Pengamatan Viabilitas Sel

Tabel 6.1 Viabilitas sel setelah diberi perlakuan pada media air kelapa

Jenis khamir	Jenis media	Ulangan				Rerata viabilitas (%)	Notasi
		u1	u2	u3	u4		
Y1	M1	88.6363 6	95	91.3043 5	93.0232 6	91.9909 9	cd
	M2	87.5	92.8571 4	100	91.6666 7	93.0059 5	d
	M3	90.1960 8	90.6976 7	97.8260 9	92.8571 4	92.8942 5	d
Y2	M1	96.9697	93.0232 6	90.2439	91.8367 3	93.0184	d
	M2	88.2352 9	96	91.8032 8	95.1612 9	92.7999 7	cd
	M3	100	77.7777 8	100	95	93.1944 4	cd
Y3	M1	80.2469 1	74.3243 2	81.8181 8	86.1111 1	80.6251 3	bc
	M2	71.4285 7	76.9230 8	76.6666 7	77.4193 5	75.6094 2	ab
	M3	74.6031 7	54.5454 5	64.0625	73.2394 4	66.6126 4	a
Y4	M1	96.4285 7	82.6087	87.5	94.1176 5	90.1637 3	bcd
	M2	98.4848 5	98.0392 2	95.4545 5	98.1481 5	97.5316 9	bcd
	M3	92.1052 6	97.5	73.0769 2	96.4285 7	89.7776 9	bcd

Lampiran 7. Viabilitas Sel Setelah *Freeze drying*

Tabel 7.1 Viabilitas Sel selama proses *Freeze drying*

Jenis Khamir	Jumlah koloni sebelum <i>freeze drying</i>	Jumlah koloni sesudah <i>freeze drying</i>	Viabilitas Sel (%)
Y1	1544	221	14,67
Gambar koloni			
Y2	2456	270	10,80
Gambar koloni			
Y3	596	54	9,00
Gambar koloni			
Y4	836	84	10,00
Gambar koloni			

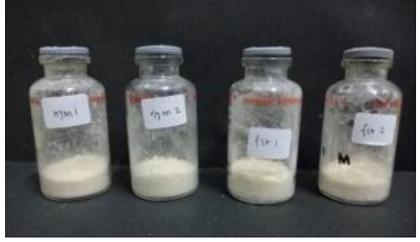
Perhitungan jumlah koloni :

Contoh pada Y1 sebelum FD = $1544 \times 10^3 = 1,5 \times 10^6$

Pada Y1 sesudah FD = $221 \times 10^3 = 2,2 \times 10^5$

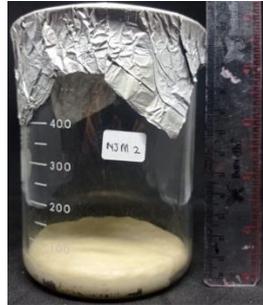
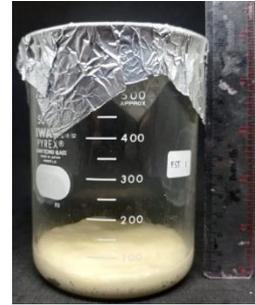
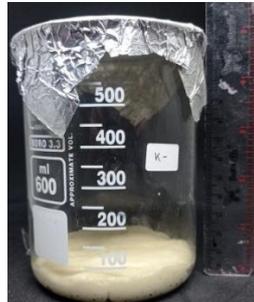
$$\begin{aligned} \text{Viabilitas Y1} &= \frac{\text{jumlah koloni sesudah FD}}{\text{jumlah koloni sebelum FD}} \times 100\% \\ &= \frac{2,2 \times 10^5}{1,5 \times 10^6} \times 100\% = 14,67\% \end{aligned}$$

Tabel 7.2 Bentuk khamir setelah dilakukan *freeze drying*

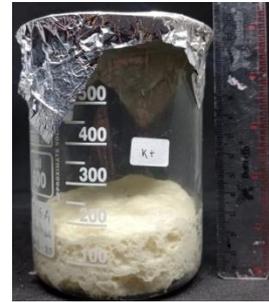
Gambar pengamatan	Keterangan
 Four glass vials containing white powdery yeast isolates after freeze drying. The vials are labeled 'isolat 1', 'isolat 2', 'isolat 1', and 'isolat 2' from left to right. Each vial contains a small amount of white powder at the bottom.	Bentuk isolat khamir : serbuk

Lampiran 8. Hasil Pengamatan Kemampuan Fermentasi

- a. Pengamatan kemampuan fermentasi khamir hasil *freeze drying* pada adonan roti sebelum dioven/dipanggang

Y1 (*C. tropicalis-1*)Y2 (*C. tropicalis-2*)Y2 (*C. tropicalis-2*)Y4 (*C. akabenensis*)

K- (tanpa khamir)



K+ (fermipan)

- b. Pengamatan kemampuan fermentasi khamir hasil *freeze drying* pada adonan roti setelah dioven/dipanggang



Y1 (*C. tropicalis-1*)



Y2 (*C. tropicalis-2*)



Y3 (*H. opuntiae*)



Y4 (*C. akabensis*)



K- (tanpa khamir)



K+ (fermipan)

Lampiran 9. Hasil Analisis Data menggunakan SPSS

a. Biomassa Sel Khamir

- Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Biomassa sel
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.5411
	Std. Deviation	.14146
Most Extreme Differences	Absolute	.115
	Positive	.115
	Negative	-.078
Test Statistic		.115
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

Sig > 0,05 artinya data normal

- Uji Homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Biomassa sel	Based on Mean	1.810	11	24	.108
	Based on Median	.465	11	24	.907
	Based on Median and with adjusted df	.465	11	10.473	.889
	Based on trimmed mean	1.677	11	24	.140

Sig > 0,05 artinya data homogen

- Uji Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.598	11	.054	12.741	.000
Within Groups	.102	24	.004		
Total	.700	35			

Sig < 0,05 artinya terdapat pengaruh perlakuan terhadap biomassa

- Duncan^a

kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
4.00	3	.4000						
7.00	3	.4100	.4100					
1.00	3	.4267	.4267	.4267				
9.00	3	.4300	.4300	.4300	.4300			
8.00	3	.4867	.4867	.4867	.4867			
10.00	3	.5133	.5133	.5133	.5133	.5133		
3.00	3		.5333	.5333	.5333	.5333		
12.00	3			.5367	.5367	.5367		
6.00	3				.5533	.5533		
2.00	3					.6333	.6333	
11.00	3						.7333	.7333
5.00	3							.8367
Sig.		.071	.050	.079	.050	.053	.073	.065

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Biomassa sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.598 ^a	11	.054	12.741	.000
Intercept	10.541	1	10.541	2.471E3	.000
Khamir	.142	3	.047	11.116	.000
Media	.345	2	.173	40.458	.000
Khamir * Media	.110	6	.018	4.314	.004
Error	.102	24	.004		
Total	11.241	36			
Corrected Total	.700	35			

a. R Squared = .854 (Adjusted R Squared = .787)

Jenis khamir berpengaruh terhadap biomassa sel (Sig. < 0,05)

Jenis media berpengaruh terhadap biomassa sel (Sig. < 0,05)

b. Kerapatan Sel Khamir

- Uji normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

kerapatan sel

N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.4094
	Std. Deviation	.63597
Most Extreme Differences	Absolute	.149
	Positive	.090
	Negative	-.149
Test Statistic		.149
Asymp. Sig. (2-tailed)		.041 ^c

Data normal (>0,05)

- Uji homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
kerapatan sel	Based on Mean	9.583	11	24	.000
	Based on Median	.999	11	24	.475
	Based on Median and with adjusted df	.999	11	2.663	.580
	Based on trimmed mean	8.080	11	24	.000

Data homogen ($> 0,05$)

- Uji ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.416	11	.947	6.075	.000
Within Groups	3.741	24	.156		
Total	14.156	35			

Perlakuan berpengaruh (Sig $< 0,05$)

- Uji lanjut Duncan^a

Kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	3	1.6553			
10.00	3	1.6953	1.6953		
12.00	3	1.7320	1.7320		
7.00	3	1.8017	1.8017		
4.00	3		2.3957	2.3957	
9.00	3			2.5333	2.5333
6.00	3			2.5977	2.5977
8.00	3			2.6000	2.6000
3.00	3			2.6453	2.6453

11.00	3			2.9097	2.9097
2.00	3			3.1277	3.1277
5.00	3				3.2193
Sig.		.683	.056	.057	.074

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:kerapatan sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10.416 ^a	11	.947	6.075	.000
Intercept	208.990	1	208.990	1.341E3	.000
Khamir	1.889	3	.630	4.041	.019
Media	6.981	2	3.490	22.394	.000
Khamir * Media	1.546	6	.258	1.653	.176
Error	3.741	24	.156		
Total	223.147	36			
Corrected Total	14.156	35			

a. R Squared = .736 (Adjusted R Squared = .615)

Jenis khamir berpengaruh terhadap kerapatan sel (Sig < 0,05)

Jenis media berpengaruh terhadap kerapatan sel (Sig < 0,05)

c. Total Sel Khamir

- Uji normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Total sel
N		36
Normal Parameters ^a	Mean	4.6317
	Std. Deviation	2.05985
Most Extreme Differences	Absolute	.163
	Positive	.136
	Negative	-.163
Kolmogorov-Smirnov Z		.978
Asymp. Sig. (2-tailed)		.295
a. Test distribution is Normal.		

Sig > 0,05 artinya data normal

- Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Total sel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.774	11	24	.018

Sig > 0,05 artinya data homogen

- Uji Anova

Total sel					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	109.217	11	9.929	10.888	.000
Within Groups	21.887	24	.912		
Total	131.104	35			

Sig < 0,05 artinya terdapat pengaruh perlakuan terhadap total sel

- Uji Duncan

kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1	3	1.7733				
7	3	1.9133				
4	3	2.6133				
10	3	2.8000	2.8000			
12	3		4.3400	4.3400		
6	3			5.0867	5.0867	
8	3			5.5067	5.5067	5.5067
3	3			5.5533	5.5533	5.5533
9	3			5.6467	5.6467	5.6467
2	3			6.0667	6.0667	6.0667
11	3				6.3933	6.3933
5	3					6.9533
Sig.		.240	.060	.060	.151	.113

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	121.914 ^a	11	11.083	10.003	.000
Intercept	772.284	1	772.284	697.042	.000
Khamir	1.840	3	.613	.553	.651
Media	110.214	2	55.107	49.738	.000
Khamir * Media	9.860	6	1.643	1.483	.226
Error	26.591	24	1.108		
Total	920.788	36			
Corrected Total	148.504	35			

a. R Squared = .821 (Adjusted R Squared = .739)

Khamir tidak berpengaruh terhadap total sel (Sig > 0,05)

Media berpengaruh terhadap total sel (Sig < 0,05)

d. Viabilitas Sel Khamir

- Uji normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viabilitas sel
N		36
Normal Parameters ^a	Mean	86.6690
	Std. Deviation	10.85919
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.110
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		1.016
Asymp. Sig. (2-tailed)		.253
a. Test distribution is Normal.		

Sig > 0,05 artinya data normal

- Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Viabilitas sel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.000	11	24	.075

Sig > 0,05 artinya data homogen

- Uji anovva

ANOVA

Viabilitas sel					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2789.821	11	253.620	4.551	.001
Within Groups	1337.452	24	55.727		
Total	4127.273	35			

Sig < 0,05 artinya perlakuan berpengaruh terhadap viabilitas

- Uji Duncan

kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9	3	64.4037			
8	3	75.0061	75.0061		
7	3		78.7965	78.7965	
11	3		87.5607	87.5607	87.5607
10	3		88.8458	88.8458	88.8458
12	3		88.8458	88.8458	88.8458
1	3			91.6469	91.6469
5	3			92.0129	92.0129
6	3			92.5926	92.5926
4	3				93.4123
2	3				93.4524
3	3				93.4524
Sig.		.095	.051	.058	.411

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viabilitas sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2789.821 ^a	11	253.620	4.551	.001
Intercept	270414.523	1	270414.523	4.852E3	.000
Khamir	2443.103	3	814.368	14.613	.000
Media	69.474	2	34.737	.623	.545
Khamir * Media	277.244	6	46.207	.829	.559
Error	1337.452	24	55.727		
Total	274541.797	36			
Corrected Total	4127.273	35			

a. R Squared = .676 (Adjusted R Squared = .527)

Jenis khamir berpengaruh terhadap viabilitas,
 Jenis media tidak berpengaruh,

Lampiran 10. Alat dan Bahan yang digunakan dalam penelitian

Pengering beku



Autoklaf



Mikroskop digital

*Haemocytometer*

Lampiran 11. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian



Inokulasi khamir



Subkultur khamir



Penimbangan
biomassa khamir



Pellet khamir



Khamir pada media Air
kelapa dan YPG



Isolat khamir



Serbuk khamir hasil
freeze drying



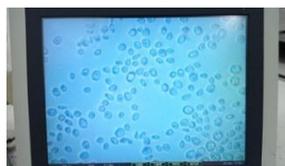
Hasil fermentasi khamir
pada media air kelapa dan
YPG



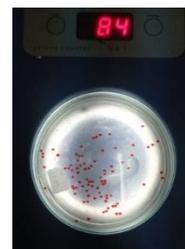
Hasil fermentasi
khamir pada media air
kelapa dan YPG



Pengamatan kerapatan
sel menggunakan
spektrofotometer



Pengamatan jumlah sel
dan total sel



Pengamatan koloni
khamir

Lampiran 12. Hasil Uji Pendahuluan

Hasil Uji Pendahuluan Pemanfaatan Media Air Kepala dan Molase pada Pertumbuhan Khamir Isolat NJM 1 (*Candida tropicalis*)

Perlakuan	Biomassa (gr/50 ml)	Kerapatan sel (Nilai OD 600 nm)	Gambar Pellet/Biomassa basah yang dihasilkan
25 ml air kelapa + 25 ml YPG	1,28	2,842	
25 ml molase + 25 ml YPG	1,18	2,666	
50 ml YPG	1,10	2,661	

25 ml Air kelapa + 25 ml Molase	0,81	2,433	
50 ml molase	0,78	2,117	
50 ml air kelapa	0,60	2,259	

Gambar hasil pengamatan sebelum disentrifuge



Media air kelapa dan kontrol



Media molase dan kontrol



Media air kelapa, molase, dan YPG



Media AK +YPG, AK+MLS,
M+YPG



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

KARTU KONSULTASI TESIS

Nama : Aldila Yunia Putri
NIM : 19820004
Program Studi : Magister Biologi
Semester : Genap
Pembimbing : Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
Judul Tesis : Pengaruh Penambahan Air Kelapa, Jenis Khamir, dan Metode *Freeze Drying* terhadap Pertumbuhan dan Kemampuan Fermentasi Khamir Pengembang Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD. Pembimbing
1	18 Januari 2021	Konsultasi BAB I, II, dan III	
2	31 Maret 2021	Konsultasi BAB I, II, dan III	
3	14 Juni 2022	Konsultasi BAB IV dan V	
4	20 Juni 2022	Revisi BAB IV dan V	
5	24 Juni 2022	Revisi BAB I, II, III, IV, dan V	

Pembimbing Tesis,

Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 1965050919903 2 002



Prof. Dr. Hj. Bayyinatul M. M.Si
NIP. 197109192000 03 2 001



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

KARTU KONSULTASI TESIS

Nama : Aldila Yunia Putri
 NIM : 19820004
 Program Studi : Magister Biologi
 Semester : Genap
 Pembimbing : Dr. Nur Kusmiyati, M.Si
 Judul Tesis : Pengaruh Penambahan Air Kelapa, Jenis Khamir, dan Metode *Freeze Drying* terhadap Pertumbuhan dan Kemampuan Fermentasi Khamir Pengembang Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD. Pembimbing
1	25 Maret 2021	Konsultasi BAB I, II, dan III	
2	6 September 2021	Konsultasi BAB I, II, dan III	
3	14 Juni 2022	Konsultasi BAB IV dan V	
4	20 Juni 2022	Revisi BAB IV dan V	
5	27 Juni 2022	Revisi BAB I, II, III, IV, dan V	

Pembimbing Tesis,

Dr. Nur Kusmiyati, M.Si
 NIP. 198908162016080 1 2061



Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M. M.Si
 NIP. 197109192000 03 2 001