

**ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI BUAH SAWO  
(*Manilkara zapota*) SEBAGAI PENGEMBANG ROTI**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**AMIRAH MAHFUDHAH  
NIM. 16620112**



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

**ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI BUAH SAWO  
(*Manilkara zapota*) SEBAGAI PENGEMBANG ROTI**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**AMIRAH MAHFUDHAH  
NIM. 16620112**

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

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

**ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI BUAH SAWO  
(*Manilkara zapota*) SEBAGAI PENGEMBANG ROTI**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**AMIRAH MAHFUDHAH**  
NIM. 16620112

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
Tanggal : 6 September 2022

Pembimbing I

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

Pembimbing II

Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A  
NIP. 19740602 200901 1 010



Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi

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

**ISOLASI DAN UJI POTENSI KHAMIR ENDOFIT DARI BUAH SAWO  
(*Manilkara zapota*) SEBAGAI PENGEMBANG ROTI**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**AMIRAH MAHFUDHAH**  
NIM. 16620112

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

Tanggal : 18 Oktober 2022

**Susunan Dewan Penguji**

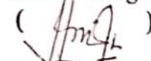
Ketua Penguji : Ir. Liliek Harianie A.R M.P  
NIP. 19620901 199803 2 001

Anggota Penguji 1 : Prilva Dewi Fitriyani, M. Sc  
NIP. 19900428 2016080 1 2062

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

Anggota Penguji 3 : Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A.  
NIP. 19740602 200901 1 010

**Tanda Tangan**

()


()

()

()



Mengesahkan,  
Ketua, Program Studi Biologi

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

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi untuk memperoleh gelar sarjana. Skripsi ini saya persembahkan untuk orang-orang tercinta yang telah memberi ilmu yang bermanfaat, doa-doa, dukungan dalam selesainya pengerjaan tugas akhir sehingga terkabulnya salah satu hajat, dan kelancaran dalam menggapainya cita-cita kedepannya.

Saya persembahkan karya skripsi ini, kepada:

1. Bapak H. Zulkifli Ali Saat, S. T., Ibu Dra. Hj. Istiqomah dan kakak Adibatul Latifah, S. Pi yang telah memberi dukungan dan doa untuk kemudahan dalam setiap proses skripsi saya.
2. Ibu Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M. Si dan Bapak Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A. selaku dosen pembimbing yang telah memanjatkan doa untuk kelancaran skripsi dan sabar dalam membimbing saya.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M. Si. Selaku wali dosen yang telah memotivasi saya dan memberi arahan selama proses perkuliahan.
4. Teman-teman jurusan biologi angkatan 2016 saya ucapkan terima kasih telah memotivasi dan berproses dalam mengerjakan skripsi bersama-sama.

## MOTTO

*“Allah SWT akan menguji hambanya sesuai kemampuannya, semakin banyak cobaan yang diberikan Allah SWT pertanda akan meningkatnya ilmu dan derajat manusia”*

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Amirah Mahfudhah

NIM : 16620112

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi Dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Buah  
Sawo (*Manilkara Zapota*) Sebagai Pengembang Roti

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

Malang, 6 September 2022

**Yang Membuat Pernyataan**



**Amirah Mahfudhah**

**NIM. 16620112**

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi yang berjudul “Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Buah Sawo (*Manilkara zapota*) sebagai Pengembang Roti tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



# **Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Buah Sawo (*Manilkara zapota*) sebagai Pengembang Roti**

Amirah Mahfudhah, Ulfah Utami, M. Imamudin

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

## **ABSTRAK**

Khamir merupakan mikroorganisme yang dibutuhkan dalam pengembang roti. Khamir ditemukan dalam buah yang sudah matang dan manis. Penelitian ini dilakukan isolasi dari daging buah sawo manila (*Manilkara zapota* L.) untuk mendapatkan khamir murni yang berpotensi sebagai pengembang roti. Pengaplikasian khamir dalam adonan roti dimanfaatkan sebagai pengembang roti sehingga Indonesia mampu menggantikan ragi roti import. Hasil isolasi dari daging buah sawo manila ditemukan isolat Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3. Ketiga isolat khamir diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis yang termasuk dalam kelas *Ascomycetes* dengan subkelas *Hemiascomycetes*. Seluruh isolat khamir kemudian dilakukan uji fermentasi karbohidrat, uji pertumbuhan khamir pada medium *Glukosa Yeast Peptone* konsentrasi 50%, uji hidrogen sulfida, uji toleransi suhu, uji toleransi etanol, uji flokulasi dan uji kemampuan khamir sebagai pengembang adonan roti. Ketiga isolat khamir berpotensi sebagai pengembang roti. Isolat khamir Yeast-1 dari daging buah sawo memiliki kemampuan paling baik dalam mengembangkan adonan roti.

**Kata Kunci:** Khamir, *Manilkara zapota* L., Pengembang Adonan roti

**Isolation and Potential Test of Endophytic Yeast from Sapodilla Fruit  
(*Manilkara zapota*) as a Bread Developer**

Amirah Mahfudhah, Ulfah Utami, M. Imamudin

Biology Department, Faculty of Science and Technology, State Islamic University  
of Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRACT**

Yeast is a microorganism needed in bread development. Yeast is found in ripe and sweet fruit. This research was carried out by isolating the flesh of the sapodilla manila fruit (*Manilkara zapota* L.) to obtain pure yeast that has the potential as a bread developer. The application of yeast in bread dough is used as a bread developer so that Indonesia is able to replace imported bread yeast. The isolation results from the pulp of the sapodilla manila fruit were found to be Yeast-1, Yeast-2 and Yeast-3 isolates. The three yeast isolates were identified macroscopically and microscopically belonging to the *Ascomycetes* subclass *Hemiascomycetes*. All yeast isolates were then tested for carbohydrate fermentation, yeast growth test on *Glucose Yeast Peptone*, hydrogen sulfide test, temperature tolerance test, ethanol tolerance test, flocculation test and test the ability of yeast as a bread dough developer. The three yeast isolates have the potential as bread developers. Yeast-1 yeast isolate from sapodilla fruit flesh had the best ability to develop bread dough.

**Keywords:** Yeast, *Manilkara zapota* L., Bread Dough Developer

## عزل واختبار قدرة الخميرة الداخلية من فاكهة السابوديلا كمطور للخبز

أميرة محفوظه، ألفة أوتامى، محمد إمام الدين

برنا مج دراسة علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

### الملخص

الخميرة هي كائن حي دقيق ضروري لتطوير الخبز. وجدت الخميرة في الفاكهة الناضجة والحلوة. أجرت هذا البحث عن طريق عزل لحم فاكهة السابوديلا مانيليا (*Manilkara zapota L.*) للحصول على خميرة نقية للقدرة على تطوير الخبز. يستخدم تطبيق الخميرة في عجينة الخبز كمطور للخبز حتى يتمكن إندونيسيا من استبدال خميرة الخبز المستوردة. نتائج العزل من لحم فاكهة السابوديلا مانيليا وجدت على عزلات *Yeast-1*، *Yeast - 2*، *Yeast - 3*. تم عزلات الخميرة الثلاثة بشكل مجهرى ومجهر تنتمي إلى فئة الفطريات الخميرة مع فئة (*Ascomycetes*) وقئة فرعية (*Hemiascomycetes*). بعد ذلك تم اختبار جميع عزلات الخميرة لتخمير الكربوهيدرات. واختبار نمو الخميرة على 50% خميرة البيبتون الجلوكوز المتوسط، واختبار كبريتيد الهيدروجين، واختبار تحمل درجة الحرارة، واختبار تحمل الإيثانول، واختبار التلبد واختبار قدرة الخميرة كمطور عجينة الخبز. تمتلك عزلات الخميرة الثلاثة القدرة على تطوير الخبز. *Yeast-1* المعزولة من فاكهة السابوديلا لديها أفضل قدرة على تطوير عجينة الخبز.

الكلمات الرئيسية: الخميرة، مانيلكارا زابوتال، ومطور عجينة الخبز

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit Dari Buah Sawo (*Manilkara zapota*) Sebagai Pengembang Roti”. Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW, yang telah menegakkan *diinul Islam* yang terpatri hingga *akhirul zaman*. Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M. A. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Ulfah Utami, M. Si. dan Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A. selaku dosen pembimbing, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Ir. Hj. Liliek Harianie A.R, M.P dan Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku penguji yang telah memberikan saran, nasihat dan dukungan dalam memperbaiki skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Prof. Dr. Retno Susilowati, M. Si. selaku dosen wali, yang telah memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan dengan baik.
7. Dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium.
8. Orang tua saya Zulkifli Ali Saat dan Istiqomah, kakak saya Adibatul Latifah yang telah memberikan doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
9. Teman-teman peneliti khamir Yumna, Reta, Rofi, Nila, Mbak Yekti, Esamada, Hana, Qoyin, Badruz, teman-teman Biologi 2016 dan teman-teman seperjuangan di Laboratorium.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 6 September 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>المخلص</b> .....	<b>x</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan .....	5
1.4 Manfaat .....	5
1.5 Batasan Masalah .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1 Khamir .....	7
2.2 Taksonomi Khamir .....	8
2.2.1 Kelas <i>Ascomycetes</i> .....	8
2.2.1.1Sub kelas <i>Hemiascomycetes</i> .....	9
2.2.1.2Sub kelas <i>Euascomycetes</i> .....	9

2.2.1.3Sub kelas <i>Archiascomycetes</i> .....	10
2.2.2 Kelas <i>Basidiomycetes</i> .....	10
2.2.2.1Sub Kelas <i>Urediniomycetes</i> .....	11
2.2.2.2Sub Kelas <i>Hymenomycetes</i> .....	11
2.2.2.3Sub Kelas <i>Ustilaginomycetes</i> .....	12
2.3 Morfologi Khamir .....	12
2.4 Habitat Khamir .....	13
2.5 Buah Sawo ( <i>Manilkara zapota</i> ) .....	13
2.6 Kriteria Khamir sebagai Pengembang Roti .....	15
2.6.1 Uji Fermentasi Karbohidrat.....	15
2.6.2 Uji Toleransi Suhu .....	18
2.6.3 Uji H <sub>2</sub> S .....	18
2.6.4 Uji Toleransi Etanol .....	19
2.6.5 Uji Flokulasi.....	20
2.7 Khamir yang Dimanfaatkan sebagai Pengembang Roti .....	20
2.7.1 Fermentasi Khamir pada Pengembang Roti .....	21
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>24</b>
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	24
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	24
3.3 Alat dan Bahan .....	25
3.3.1 Alat .....	25
3.3.2 Bahan .....	25
3.4 Prosedur Penelitian .....	26
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	26
3.4.2 Pembuatan Media .....	26
3.4.2.1 Media <i>Yeast Malt Extract Agar (YMEA)</i> .....	26
3.4.2.2 Media <i>Yeast Malt Broth (YMB)</i> .....	26
3.4.2.3 <i>Glucose Yeast Peptone Medium</i> Konsentrasi Glukosa 50% .....	27
3.4.2.4 Media Fermentasi Karbohidrat .....	27
3.4.2.5 YPGB .....	28
3.4.2.6 Lead Acetate .....	28
3.4.3 Isolasi Khamir.....	29

3.4.4 Purifikasi.....	30
3.4.5 Identifikasi Morfologi Khamir .....	30
3.4.5.1 Pengamatan Makroskopik .....	30
3.4.5.2 Pengamatan Mikroskopik .....	31
3.4.6 Uji Biokimia.....	31
3.4.6.1 Fermentasi Karbohidrat .....	31
3.4.6.2 Uji Pertumbuhan khamir pada Medium GYP Konsentrasi 50% .....	32
3.4.6.3 Uji H <sub>2</sub> S.....	33
3.4.6.4 Uji Etanol .....	33
3.4.6.5 Uji Toleransi Suhu .....	34
3.4.6.6 Uji Flokulasi .....	34
3.4.6.7 Uji Kemampuan Khamir sebagai Pengembang Roti .....	35
3.5 Teknik Analisis Data .....	35
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1 Khamir Hasil Isolasi dari Daging Buah Sawo .....	37
4.1.1 Pengamatan Isolat Khamir Yeast 1 .....	40
4.1.2 Pengamatan Isolat Khamir Yeast 2 .....	42
4.1.3 Pengamatan Isolat Khamir Yeast 3 .....	44
4.2 Uji Fermentasi Karbohidrat .....	46
4.3 Uji Pertumbuhan Khamir pada Medium GYP Konsentrasi 50%.....	48
4.4 Uji Suhu .....	49
4.5 Uji Etanol .....	50
4.6 Uji H <sub>2</sub> S .....	51
4.7 Uji Flokulasi .....	53
4.8 Uji Kemampuan Khamir sebagai Pengembang Roti .....	53
4.9 Penelitian Khamir dari Buah Sawo sebagai Pengembang Roti dalam Islam...58	
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>63</b>
5.1 Kesimpulan .....	63
5.2 Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>64</b>

<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>72</b>
----------------------	-----------



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b> Kandungan Nutrisi Sawo Manila .....	15
<b>Tabel 4.1</b> Karakter Morfologi Secara Makroskopis Isolat Khamir pada Daging Buah Sawo ( <i>Manilkara zapota</i> ) .....	37
<b>Tabel 4.2</b> Karakter Morfologi Secara Mikroskopis Isolat Khamir pada Daging Buah Sawo ( <i>Manilkara zapota</i> ) .....	38
<b>Tabel 4.3</b> Kemampuan Khamir pada Uji Fermentasi Karbohidrat hari ke-7 .....	47
<b>Tabel 4.4</b> Uji Pertumbuhan Khamir pada Medium GYP Konsentrasi 50% .....	49
<b>Tabel 4.5</b> Kemampuan Khamir dalam Inkubasi Suhu 30°C, 37°C dan 45°C .....	50
<b>Tabel 4.6</b> Kemampuan Khamir dalam Uji Toleransi Etanol.....	51
<b>Tabel 4.7</b> Kemampuan Khamir dalam menghasilkan H <sub>2</sub> S .....	52
<b>Tabel 4.8</b> Khamir Endofit Menghasilkan Flokulan .....	53
<b>Tabel 4.9</b> Karakter Roti Dari 3 Isolat dan Kontrol Positif .....	57

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Bagan Jalur Utama Fermentasi .....	16
<b>Gambar 2.2</b> Fermentasi Karbohidrat oleh Khamir .....	17
<b>Gambar 3.1</b> Tempat Pengambilan Sampel Buah Sawo Manila di Desa Clumprit Kecamatan Pagelaran Kabupaten Malang .....	25
<b>Gambar 4.1</b> a) Koloni isolat yeast-1 pada media padat, b) Koloni isolat yeast-1 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x .....	41
<b>Gambar 4.2</b> a) Hasil pengamatan mikroskop pada isolat yeast-1 perbesaran 1000x, b) Pengukuran Lebar dan Panjang isolat yeast-1, (b1. sel induk yeast-1, b2. sel anak yeast-1), c) pertunasan monopolar .....	42
<b>Gambar 4.3</b> Koloni isolat yeast-2 pada media padat, b) Koloni isolat yeast-2 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x .....	43
<b>Gambar 4.4</b> a) Hasil pengamatan mikroskop pada isolat yeast-2 perbesaran 1000x, b) Pengukuran lebar dan Panjang isolat yeast-2, (b1. sel induk yeast-2, b2. sel anak yeast-2), c) pertunasan monopolar .....	44
<b>Gambar 4.5</b> Koloni isolat yeast-3 pada media padat, b) Koloni isolat yeast-3 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x .....	45
<b>Gambar 4.6</b> a) Hasil pengamatan mikroskop pada isolat yeast-3 perbesaran 1000x, b) Pengukuran lebar dan panjang isolat yeast-3, (b1. sel induk yeast-3, b2. sel anak yeast-3), c) pertunasan monopolar .....	46
<b>Gambar 4.7</b> Volume Adonan Roti .....	54
<b>Gambar 4.8</b> Roti Setelah di Panggang a) Khamir Yeast–1 b) Khamir Yeast–2 c) Khamir Yeast–3 d) Khamir Kontrol Positif (Fermipan) .....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1</b> Isolasi Khamir dari Daging Buah Sawo Manila .....	72
<b>Lampiran 2</b> Fermentasi Karbohidrat .....	73
<b>Lampiran 3</b> Hasil Akhir Fermentasi Karbohidrat .....	75
<b>Lampiran 4</b> Hasil Uji H <sub>2</sub> S .....	78
<b>Lampiran 5</b> Hasil Uji Flokulasi .....	79
<b>Lampiran 6</b> Hasil Uji Aktivasi Isolat Khamir .....	80
<b>Lampiran 7</b> Hasil Uji Pengembangan Adonan Roti .....	81

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Negara tropis salah satunya adalah negara Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati tertinggi dari seluruh dunia (Sumerta dan Kanti, 2016). Keanekaragaman hayati mengacu pada keanekaragaman kehidupan di bumi, seperti berbagai macam jenis tumbuhan, hewan, mikroorganisme termasuk perbedaan genetik antar organisme (Sunarmi, 2014). Keanekaragaman mikroorganisme di Indonesia, iklim dan lingkungannya mendukung khamir untuk tumbuh (Sumerta dan Kanti, 2016).

Khamir berasal dari golongan fungi. Khamir merupakan mikroorganisme uniseluler yang memiliki sifat eukariotik dan hidup sebagai saprofit atau parasite (Widiastutik & Alami, 2014). Khamir merupakan Kingdom Fungi yang digolongkan menjadi dua kelas, yaitu *Basidiomycetes* dan *Ascomycetes* (Hamamoto dan Nakase, 2000). Khamir bersifat heterotrof (Carlile *et al.*, 2001).

Susunan dinding sel dari khamir berupa kittin (Alfenore *et al.*, 2004). Sel khamir memiliki berbagai macam bentuk antara lain batang atau silinder, segitiga dengan lengkung, berbentuk seperti botol, bulat, lonjong, bentuk apikulat atau lemon dan ada sel yang membentuk *Pseudomycelium* (Widiastutik & Alami, 2014). Khamir memiliki tingkat keragaman sangat tinggi yang disebabkan oleh wilayah persebaran yang luas dan kemampuannya untuk hidup di tumbuhan, udara, air, tanah dan makanan (Kurtzman dan Fell, 1998; Kurtzman & Piskur, 2006). Firman Allah di Surah An-Nahl pada ayat 13 sebagai berikut:

وَمَا ذَرَأَا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَذَكَّرُونَ

Artinya: “Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran”.

Surah An-Nahl ayat 13 di atas merupakan dasar bahwa Allah telah menciptakan bumi dengan berbagai macam isinya. Tafsir dari Ibnu Katsir (Katsir, 2004) menjelaskan bahwa kata “مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ” memberikan makna bahwa Allah SWT. telah mengingatkan dengan adanya tanda-tanda pada langit serta penciptaannya di bumi. Objek yang dijelaskan pada ayat ini selain tumbuhan, hewan dan mikroorganisme salah satunya adalah khamir dengan berbagai macam bentuknya. Khamir merupakan makhluk hidup uniseluler yang berukuran kecil.

Khamir memiliki sifat endofit yang hidup dalam jaringan tumbuhan (Schulz & Boyle, 2005). Khamir endofit digunakan untuk proses fermentasi yang dapat diisolasi dari bahan-bahan alam antara lain tanah, air, bunga dan buah-buahan (Komatsuzaki *et al.*, 2016). Khamir dapat diisolasi dengan mudah pada buah karena buah mengandung konsentrasi gula yang tinggi (Tsegaye, 2006).

Dari beberapa hasil riset oleh peneliti terkait khamir pada buah yaitu teridentifikasi, diantaranya *Saccharomyces cerevisiae* yang ada di buah mangga (*Mangifera indica*), sirsak (*Annona muricata*) dan kelengkeng (*Dimocarpus longan*) (Ma'aruf *et al.*, 2011). Pada buah sirsak (*Annona muricata*) (Suryaningsih dkk., 2018), terdapat khamir *Candida tropicalis*, buah mangga (*Mangifera indica*), khamir *Candida apicola*, *Saccharomyces boulardii* dan *Zygosacharomyces fermentatii*. Pada buah pepaya (*Carica papaya*) terdapat khamir *Zygosacharomyces bisporus* dan *Pichia holstii*. Khamir *Candida*

*sorboxylosa*, *Kluyveromyces delphensis* dan *Issatchenkia orientalis* terdapat pada buah jeruk (*Citrus sinensis*) (Tsegaye, 2016). Khamir banyak ditemukan di bagian daun, buah, bunga dan biji-bijian yang memiliki kandungan gula yang banyak (Suryaningsih dkk., 2018). Jumlah khamir pada buah diketahui 2,5 kali lebih banyak jika dibandingkan pada bunga. Khamir yang ideal ditemukan dari buah yang sudah matang (Vadkertiova *et al.*, 2012).

Buah memiliki beberapa kandungan seperti kandungan karbohidrat dan air. Habitat ideal untuk pertumbuhan khamir yaitu berada pada kandungan air dan karbohidrat dalam buah (Ramirez-Castrillon *et al.*, 2019). Khamir memanfaatkan glukosa, fruktosa, sukrosa dan maltosa sebagai sumber energinya (Barnett, 1975). Sumber energi pada khamir berupa karbon dan nitrogen sehingga dapat dilakukan penelitian terkait isolasi khamir pada buah sawo di Indonesia.

Buah sawo matang memiliki rasa manis dan beraroma harum (Harto *et al.*, 2016). Buah mangga juga memiliki rasa manis dengan kandungan gula sebesar 13,95% pada mangga varietas podang, 7,96% mangga varietas gadung, dan 11,7% pada mangga varietas hampalan (Yulianti & Evi, 2017; Kartikorini, 2018; Antarlina, 2009). Buah sawo manila memiliki kandungan gula yang tinggi, yaitu sebesar 72,8% sedangkan buah sawo kecil memiliki kandungan gula sebesar 12-18% (Eden, dkk., 2019; Ranjitha *et al.*, 2015). Kandungan gula yang tinggi dapat dijadikan substrat khamir untuk tumbuh (Wulandari dkk., 2017). Khamir dapat ditemukan dalam substrat buah. Buah memiliki pH rendah sesuai dengan habitat khamir (Silva *et al.*, 2008).

Khamir membutuhkan nutrisi dalam perkembangan dan pertumbuhannya. Khamir dapat digunakan sebagai pengembang roti (Asyikeen *et al.*, 2013).

Menurut Fleury Rey *et al.*, (2002) bahwa potensi khamir sebagai pengembang adonan roti sangat besar, karena saat ini produk *bakery* masih menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai salah satu bahan fermentasi.

Negara Indonesia masih menggunakan ragi roti impor yaitu merk *fermipan*. Beberapa ragi impor seperti: Mauripan (Australia), Gold Pakmaya (Turki) dan Saf-instan (Prancis) yang digunakan oleh rata-rata industri roti di Indonesia (Ma'aruf *et al.*, 2011). Maka dari itu, pada penelitian dilakukan isolasi khamir dari daging buah sawo manila yang dimanfaatkan sebagai pengembang roti sehingga Indonesia mampu memproduksi ragi roti sendiri. Proses pembuatan roti terdiri dari pengulenan adonan, pencampuran adonan, fermentasi adonan dan pemasakan adonan (Cho & Peterson, 2010).

Proses fermentasi pada adonan roti dibantu oleh khamir (Gelinas, 2012). Khamir mampu melakukan proses fermentasi karbohidrat: gula sukrosa, glukosa dan fruktosa (Karki *et al.*, 2017). Fermentasi khamir pada adonan roti memanfaatkan gula untuk menghasilkan CO<sub>2</sub>, asam amino dan etanol yang berperan sebagai pengembang, pemberi rasa dan aroma pada adonan roti (Cho & Peterson, 2010; Ma'aruf *et al.*, 2011). Kandidat khamir yang digunakan sebagai pengembang roti antara lain toleran terhadap konsentrasi glukosa, etanol, tidak menghasilkan hidrogen sulfida, mampu membentuk flokulan dan tumbuh dalam suhu optimum 25-37°C (Karki *et al.*, 2017).

Strain khamir yang termasuk genus *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula* dan *Candida* yang tidak bersifat patogen berpotensi sebagai pengembang roti (El Helow *et al.*, 2015). Hasil pengujian isolat-isolat khamir dari buah kelengkeng (*Dimocarpus longan*), rebung (*Bambusa vulgaris*), dan salak

(*Salacca zalacca*) memiliki kemampuan yang sama dengan ragi komersial sebagai pengembang roti (Ma'aruf *et al.*, 2011). Kandungan gula pada buah kelengkeng sebesar 12-23%, rebung 24,39%, salak kombucha 7,54% (Zhang, *et al.*, 2020; Mohmod, *et al.*, 1992; Zubaidah, *et al.*, 2018). Eksplorasi khamir endofit dilakukan pada daging buah sawo manila yang mampu dimanfaatkan sebagai pengembang roti.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini berdasarkan latar belakang di atas adalah sebagai berikut:

1. Apa kategori sub kelas khamir pada daging buah sawo yang berpotensi sebagai pengembang adonan roti ?
2. Bagaimana potensi khamir pada daging buah sawo sebagai pengembang adonan roti?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui kategori sub kelas khamir pada daging buah sawo yang berpotensi sebagai pengembang adonan roti.
2. Untuk mengetahui kemampuan khamir pada daging buah sawo sebagai pengembang adonan roti.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan jenis khamir pada daging buah sawo dan menambah keanekaragaman khamir di Indonesia.



2. Penelitian ini diharapkan dapat memanfaatkan ragi yang diperoleh untuk proses pengembangan roti di Indonesia dan diproduksi dalam skala besar sehingga dapat mengurangi import ragi roti.

### **1.5 Batasan Masalah**

Adapun batasan masalah yang akan digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Sampel penelitian menggunakan daging buah sawo layak untuk dikonsumsi, segar, manis dan matang.
2. Isolat khamir dalam klasifikasi berupa sub kelas.
3. Isolat khamir yang digunakan tidak mencapai tahap serbuk seperti fermipan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Khamir

Khamir merupakan jamur uniseluler yang bereproduksi secara seksual dengan memproduksi basidiospora serta askospora, dan memiliki reproduksi secara aseksual berupa tunas (*budding*) serta pembelahan (fisi) (Boekhout dan Phaff, 2003). *Budding* pada sel induk khamir membentuk sel baru atau sel anak yang ukurannya lebih kecil (Yeong, 2005). Khamir terdapat sifat endofit yang hidup dalam jaringan tumbuhan (Schulz & Boyle, 2005).

Khamir endofit termasuk dalam kelas *Ascomycetes* dan *Basidiomycetes*. Khamir endofit dalam daging buah termasuk kelas *Ascomycetes* dengan genus *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Candida*, *Meyerozyma*, *Metschnikowia*, *Aureobasidium* dan *Saccharomyces* (Glushakova dan Kachalkin, 2017). Allah S.W.T berfirman dalam surah Al-Baqarah ayat 26 sebagaimana berikut:

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

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.*”

Ayat di atas menjelaskan tentang perumpamaan hewan nyamuk atau hewan yang lebih rendah dari itu. Menurut tafsir Jalalain (2010), dalam kata

*masalam maa ba'uudhatan fa maa fauqohaa* menjelaskan bahwa perumpamaan pada ayat ini suatu kata benda yang tidak tentu secara umum. Perumpamaan ini juga dapat dikatakan sesuatu hal yang kecil seperti pada hewan nyamuk atau yang berukuran lebih kecil dari hewan tersebut, dapat diibaratkan seperti mikroorganisme berukuran kecil masih dapat dilihat oleh mata telanjang salah satunya yaitu khamir. Khamir berukuran kecil memiliki banyak manfaat bagi manusia dan salah satu manfaatnya khamir adalah sebagai pengembang roti.

Faktor-faktor pertumbuhan khamir dalam pengembang roti yaitu pertama pH bersifat asam (4-4,5), nilai pH dalam bahan pangan secara umum antara 3-8, khamir tidak mampu hidup di luar pH 2-10. Kedua, suhu optimum dalam pertumbuhan khamir antara 28-30°C. Ketiga, pertumbuhan khamir membutuhkan nutrisi dalam pengembangan dan pertumbuhan. Nutrisi yang digunakan seperti unsur C, P, N, vitamin dan mineral (Andaka dan Sentani, 2016).

## **2.2 Taksonomi Khamir**

Khamir merupakan Kingdom Fungi yang digolongkan menjadi dua kelas, yaitu *Basidiomycetes* dan *Ascomycetes* (Hamamoto dan Nakase, 2000). Kelas *Ascomycetes* merupakan kumpulan khamir yang menghasilkan askospora (ascosporogenous) sedangkan *Basidiomycetes* memiliki kumpulan khamir yang menghasilkan basidiosporogenous (basidiosporogenous).

### **2.2.1 Kelas *Ascomycetes***

Kelas *Ascomycetes* khamir tidak mempunyai warna pigmen sehingga nampak warna seperti putih dan krem (Kurtzman, dan Fell, 1998). Khamir *Ascomycetes* bereproduksi seksual dalam askus membentuk askospora sedangkan reproduksi aseksual membentuk konidium tunggal pada ujung hifa disebut

konidiofor (Kurtzman dan Sugiyama, 2001). *Ascomycetes* terdapat jenis *Ascomycetes anamorphic* dan *Ascomycetes teleomorphic*. Spesies khamir golongan *Ascomycetes anamorphic* antara lain *Candida*, *Geotrichum* dan *Trigonopsis*. Spesies pada khamir *Ascomycetes teleomorphic* antara lain *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* dan *Pichia* (Kurtzman dan Fell, 1998). Kelas *Ascomycetes* terbagi menjadi tiga sub kelas yaitu *Archiascomycetes*, *Hemiascomycetes* dan *Euascomycetes* (Hamamoto & Nakase, 2000).

#### **2.2.1.1 Sub kelas *Hemiascomycetes***

*Hemiascomycetes* merupakan khamir dengan ciri dua lapis dinding sel, askus tidak tertutup oleh askokarp dapat disebut dengan tubuh buah. Reproduksi aseksual khamir dari sub kelas *Hemiascomycetes* membentuk tunas holoblastik atau disebut dengan pembentukan arthrokonidia (Hamamoto & Nakase, 2000; Kurtzman & Sugiyama, 2001). Beberapa golongan khamir yang berada pada *Hemiascomycetes anamorfik* antara lain genus *Saccharomyces* dan *Candida*, kemudian khamir pada *Hemiascomycetes teleomorfik* antara lain genus *Debaryomyces* serta *Pichia* (Kurtzman dan Fell, 1998).

#### **2.2.1.2 Sub kelas *Euascomycetes***

Subkelas dari *Euascomycetes* askusnya tertutup oleh askokarp (tubuh buah). Sub-kelas *Euascomycetes* secara umum merupakan khamir *yeast-like fungi*. *Euascomycetes* secara umum dikenal sebagai kelas jamur yang menyerupai khamir (Hamamoto & Nakase, 2000). Beberapa subkelas pada *euascomycetes anamorphic* antara lain genus *Aureobasidium*. Contoh lain dari sub kelas *Euascomycetes* yaitu adalah genus *Endomyces* dengan spesies *Endomyces*

*scopularu*. Koloni pada umumnya memiliki warna putih dan cenderung menggumpal (Kurtzman & Fell, 1998).

### **2.2.1.3 Sub kelas *Archiascomycetes***

Khamir pada *Archiascomycetes* memiliki karakteristik ascus yang tidak tertutup oleh askokarp (tubuh buah) dan juga memiliki dinding sel berlapis ganda. Reproduksi yang terjadi yaitu aseksual dengan pembentukan tunas yaitu pembelahan sel atau enteroblastik (Hamamoto & Nakase, 2000; Kurtzman & Sugiyama, 2001). Subkelas *Archiascomycetes anamorfik* antara lain genus *Lalaria* R.T. Moore Sedangkan pada subkelas *Archiascomycetes teleomorfik* antara lain genus *Protomyces unger* dan *Schizosaccharomyces lindner*. Genus *Lalaria* merupakan salah satu golongan *Archiascomycetes* dengan reproduksi aseksual berupa semburan tunas di kutub sel atau dekat kutub sel. Genus *Lalaria* biasa ditemukan tumbuh dengan warna koloni merah jambu atau kekuningan. Genus *Lalaria* memiliki karakter fisiologis tidak dapat memfermentasi gula (Kurtzman & Fell, 1998).

### **2.2.2 Kelas *Basidiomycetes***

*Basidiomycetes* termasuk kelompok khamir yang menghasilkan basidiospora (basidiosporogenous) sebagai alat reproduksi seksual dan struktur yang berbentuk ganda yaitu basidium (Kurtzman dan Fell, 2006). Karakteristik khamir dalam kelas *Basidiomycetes* memiliki dinding sel banyak lapis dan reproduksi aseksual dengan pertunasan enteroblastik (Fell *et al.*, 2000). *Basidiomycetes* terdapat jenis *Basidiomycetes anamorphic* dan *Basidiomycetes teleomorphic*. Spesies khamir golongan *Basidiomycetes anamorphic* antara lain *Sporobolomycetaceae* dan *Cryptococcaceae* sedangkan pada *Basidiomycetes*

*teleomorfik* antara lain *Tremellales*, *Filobasidiales* dan *Septobasidiales* (Kurtzman dan Fell, 1998). Filum *Basidiomycota* terbagi atas tiga sub kelas, yaitu *Urediniomycetes*, *Ustilaginomycetes* dan *Hymenomycetes* (Choudhary & Johri, 2009).

#### **2.2.2.1 Sub Kelas *Urediniomycetes***

*Urediniomycetes* memiliki pori-pori sederhana pada septa. Terdapat banyak mannose pada dinding sel *Urediniomycetes* dengan kadar glukosa tertentu dan sejumlah kecil rhamnose dan fruktosa. Senyawa seperti pati dan inositol contohnya xylosa tidak terdapat dalam *Urediniomycetes*. Khamir sub golongan *Urediniomycetes anamorphic* berasal dari genus *Cryptococcus vuillemin* dan *Rhodotorula* sedangkan *Urediniomycetes teleomorfik* adalah *Filobasidium* dan *Rhodosporidium banno* (Satyanarayana & Kunze, 2009). Contoh lain khamir *Urediniomycetes* seperti *Cystofilobasidium* dengan spesies *Cystofilobasidium infirmominiatum* memiliki koloni warna merah muda, permukaan halus, sedikit timbul, berkilau dan bentuknya oval hingga elongate (Kurtzman dan Fell, 1998).

#### **2.2.2.2 Sub Kelas *Hymenomycetes***

Khamir pada *Hymenomycetes* terdapat tipe dolipore. Dinding sel mengandung gula glukosa, manosa dan xilosa. Inositol berasimilasi dengan senyawa mirip pati yang diproduksi oleh sebagian besar *Hymenomycetes*. Genus *Bullera* Derx merupakan subkelas *Hymenomycetes anamorphic* sedangkan subkelas *Hymenomycetes teleomorphie* seperti genus *Bulleromyces* Boekhout (Satyanarayana & Kunze, 2009). Morfologi makroskopis *Bullera armeniaca* berwarna oranye terang hingga oranye kemerahan dan mengkilap, tekstur koloni seperti mentega dengan elevasi timbul dan datar (Kurtzman dan Fell, 1998).

### 2.2.2.3 Sub Kelas *Ustilaginomycetes*

Khamir subkelas *Ustilaginomycetes* memiliki ciri septa “*micropore-like*” dengan margin yang bertingkat. Peningkatan margin antar spesies bervariasi. Dinding sel mengandung glukosa, galaktosa dan manosa yang tinggi dan tidak mengandung xilosa. Subkelas *Ustilaginomycetes anamorphic* antara lain genus *Pseudozyma* Bandoni emend. Boekhout dan *Tilletiopsis* Derx ex Derx., sedangkan subkelas *Ustilaginomycetes teleomorphic* yaitu genus *Ustilago* (De Candolle) Corda (Satyanarayana & Kunze, 2009). Morfologi makroskopis dari khamir *Pseudozyma aphidis* memiliki koloni warna putih sampai krem sedikit kuning, kusam dengan elevasi datar dan ada kandungan seperti halnya tetesan minyak (Kurtzman dan Fell, 1998).

## 2.3 Morfologi Khamir

Ciri-ciri morfologi khamir dalam klasifikasi dan identifikasi berdasarkan ukuran, bentuk dan posisi pembentukan sel baru atau sel tunas pada sel induk. Morfologi khamir secara makroskopis yang digunakan sebagai parameter identifikasi adalah memiliki bentuk koloni, elevasi koloni, warna koloni, tekstur koloni, permukaan koloni dan margin koloni. Morfologi khamir secara makroskopis mempunyai spora, tidak mengkilat, tidak berlendir, dan berwarna putih susu atau putih kekuningan (Pelczar, 1998). Morfologi khamir secara mikroskopis diidentifikasi berdasarkan ukuran yang bervariasi, yaitu memiliki panjang sekitar 1–20  $\mu\text{m}$  dan lebarnya itu sekitar 1-10 $\mu\text{m}$  dengan bentuk sel khamir oval, bulat, silinder (batang), botol, segitiga melengkung, apikulat (lemon) dan sel khamir membentuk pseudomiselium (Fardiaz, 1992). Selain itu, morfologi

mikroskopis yang digunakan sebagai parameter identifikasi dilihat ada tidaknya reproduksi vegetatif (Kurtzman & Fell, 1998).

Parameter yang digunakan sebagai identifikasi morfologi dapat menunjukkan dugaan awal perbedaan antar koloni khamir yang tumbuh, kandungan khamir, serta kelompok kelas atau genus khamir seperti warna khamir merah, oranye dan kuning menunjukkan kandungan karotenoid pada khamir, sedangkan karotenoid merupakan karakteristik dari genus *Phaffia*, *Rhodospiridium* dan *Sporidiobolus*. Reproduksi vegetatif khamir juga dapat menunjukkan kelompok genus *Schizosaccharomyces* untuk pembelahan sel (*fission cell*), kelas *Ascomycetes* dari ordo *Saccharomycetales* dengan sel pertunasan holoblastik serta kelas *Basidiomycetes* untuk sel pertunasan *enteroblastik* (Kurtzman & Fell, 1998).

#### **2.4 Habitat Khamir**

Khamir ditemukan pada habitat perairan dan daratan (Kurtzman dan Fell, 1998). Habitat khamir pada perairan antara lain air tawar dan muara (muara) atau laut (Carlile *et al.*, 2001). Tumbuhan, hewan dan tanah merupakan habitat terestrial khamir (Kurtzman dan Fell, 1998). Habitat terestrial khamir berada dalam bunga, daun, buah, permukaan kulit, usus pada hewan homoikiloterm dan tanah (Thapa *et al.*, 2015). Khamir ditemukan dalam biji-bijian dan buah-buahan dengan kadar gula tinggi (Suryaningsih dkk, 2018).

#### **2.5 Buah Sawo (*Manilkara zapota*)**

United States Department of Agriculture (USDA) mengklasifikasikan sawo (*Manilkara zapota*) sebagaimana berikut:



Kingdom : Plantae  
Sub Kingdom : Tracheobionta  
Superdivision : Spermatophyta  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Sub class : Dilleniidae  
Order : Ebenales  
Family : Sapotaceae  
Genus : Manilkara  
Spesies : *Manilkara zapota* L.

Tanaman sawo tumbuh pada daerah tropis dan subtropis. Sawo termasuk dalam famili sapotaceae (Tulloch *et al.*, 2019). Buah ini memiliki berbagai nama yaitu naseberry (Hindia Barat Inggris), chicku (India), chicopote, chickozapote (Meksiko), dilly (Bahamas), kauki (Asia Tenggara), mispu, mispel, mispelboon (Suriname), muyozapot (El Salvador), nispero (Puerto rico), sapitija, sawo plum, sawo (Hindia Belanda), sawo (Kuba), sapoti atau sapotilha (Brasil), Sapotille dan Sapotillier (Hindia Barat Prancis) (Mickelbart, 1996).

*Manilkara zapota* terkenal di dunia dan sangat dihargai karena nilai gizi dan khasiat obat. Buah sawo berbentuk lonjong atau bulat telur diameter 7cm. Sawo dapat disimpan 3–7 hari dalam suhu 25°C. Daging buah bagian dalam lembut dan mudah dicerna. Warna coklat muda dengan tekstur berpasir dan biasanya mengandung 6 biji pipih hitam. Daging varietas unggul tidak berbiji dan memiliki tekstur lebih halus (Tulloch *et al.*, 2019).

Kulitnya memiliki tekstur yang kasar dan berwarna coklat. Rasa manis buah ini disebabkan oleh kandungan gula sederhana seperti glukosa, sukrosa dan fruktosa (Tulloch *et al.*, 2019). Buah sawo manila memiliki kandungan gula yang tinggi sebesar 72,8% (Eden, dkk., 2019). Sawo memiliki rasa manis pada buah yang telah matang (Jadhav *et al.*, 2018). Menurut Vadkartiova (2012), khamir dapat dijumpai pada buah matang. Menurut Jadhav *et al.*, (2018), kandungan gizi sawo manila dapat dilihat pada Tabel 2.1 berikut:

**Tabel 2.1** Kandungan nutrisi sawo manila

<b>Nutrisi</b>	<b>Nilai Nutrisi (g/mg)</b>
Karbohidrat	23 g
Protein	0,7 g
Lemak	1,1 g
Serat	2,6 g
Kalsium	28 g
Besi	2,0 g
Fodfor	27 g
Asam Askorbat	6,0 g

Sumber: Jadhav, 2018

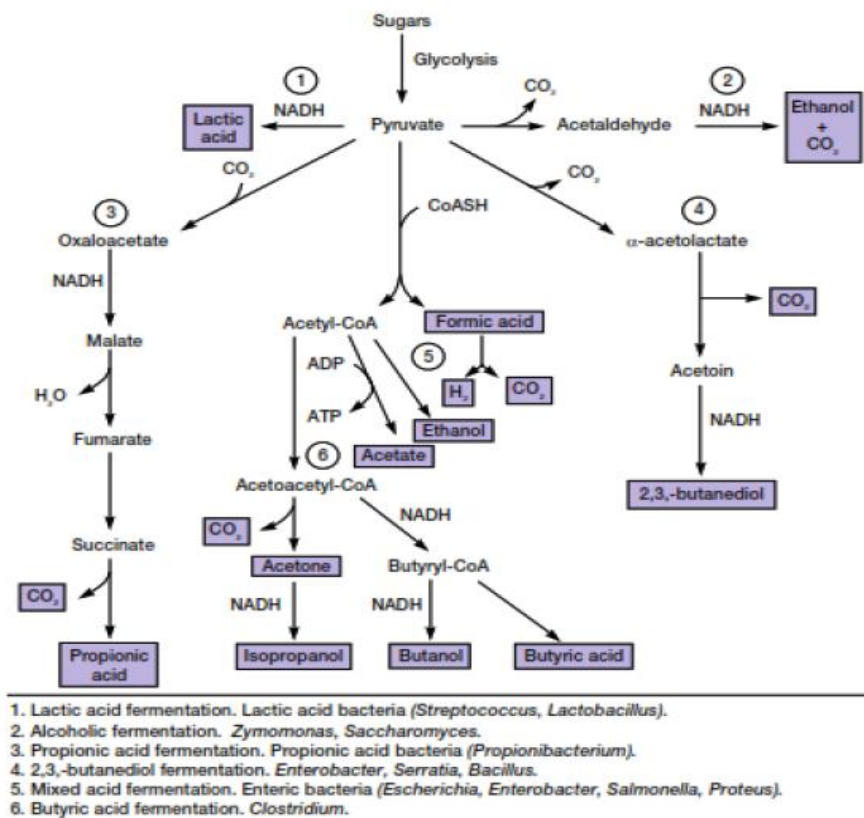
## **2.6 Kriteria Khamir sebagai Pengembang Roti**

### **2.6.1 Uji Fermentasi Karbohidrat**

Khamir yang mampu memfermentasi karbohidrat dapat menghasilkan karbondioksida yang dapat membantu proses pengembangan roti (Ma'aruf *et al.*, 2011). *Sacharomyces cerevisiae* merupakan khamir komersial digunakan sebagai pengembang roti. *Sacharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan dalam memfermentasikan jenis gula glukosa, fruktosa dan sukrosa (Karki *et al.*, 2017). Khamir mampu hidup pada kandungan gula maksimal 20% (Ali dan Khan, 2014).

Jenis gula laktosa tidak mampu melakukan proses fermentasi karena kurangnya sistem laktosa (Karki *et al.*, 2017). Apabila sistem laktosa dan  $\beta$  laktosa kurang, *Sacharomyces cerevisiae* tidak mampu melakukan fermentasi

laktosa (El-Nemr, 2001). Sel ragi memiliki enzim yang berperan sebagai katalis dalam proses fermentasi yakni maltase, invertase dan kompleks zymase. Maltase memiliki kemampuan untuk mengubah maltosa yang terbentuk dari degradasi pati oleh beta dan alfa amilase menjadi glukosa yang bertindak ketika gula sederhana telah dihentikan. Invertase mampu merubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Kompleks zimase merubah glukosa, fruktosa dan gula sederhana lainnya menjadi CO<sub>2</sub> dan etanol. Gas CO<sub>2</sub> mampu meningkatkan adonan selama fermentasi (Ali *et al.*, 2012).

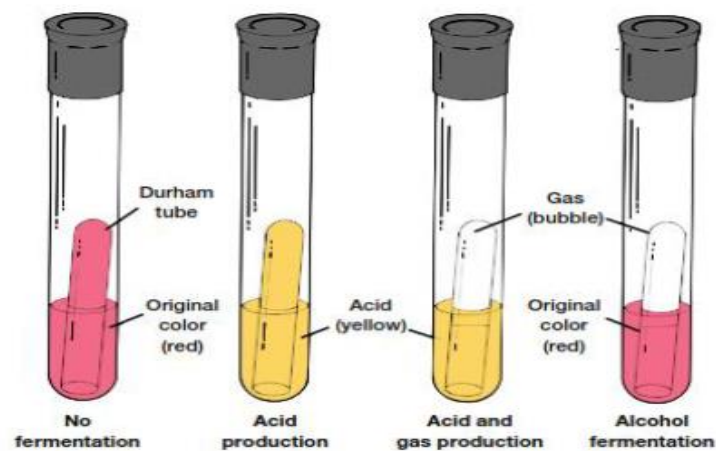


**Gambar 2.1** Bagan Jalur Utama Fermentasi (Harley & Prescott, 2002)

Fermentasi adalah suatu respon biokimia, menghasilkan energi pada makhluk hidup dalam keadaan anaerobik dan campuran alami sebagai media pematangan (Harley dan Prescott, 2002). Interaksi fermentasi karbohidrat yang terjadi oleh ragi menghasilkan korosif asam, gas dan etanol (Okafor, 2007).

Karbohidrat dapat difermentasi ke sejumlah produk akhir yang berbeda tergantung pada mikroba yang terlibat (Gambar 2.1). Produk akhir pada proses fermentasi karbohidrat dapat berupa alkohol, asam, gas atau molekul organik lainnya.

Fermentasi karbohidrat dapat digambarkan dengan perubahan varietas merah menjadi merah muda dalam medium dan udara naik dalam tabung durham. Hasil akhir dari fermentasi karbohidrat adalah asam dan pengembangan gas karbon dioksida. Perubahan warna, memberikan sifat korosif sehingga menyebabkan penyesuaian pH (Karki *et al.*, 2017), hal ini sesuai yang terlihat pada (Gambar 2.2). Kemampuan yeast untuk fermentasi karbohidrat menjadi bahan metabolisme yang dapat digunakan untuk ID karena setiap yeast memiliki kemampuan yang berbeda dalam fermentasi gula (Harley dan Prescott, 2002).



**Gambar 2.2** Fermentasi Karbohidrat oleh Khamir (Harley & Prescott, 2002)

Pemilihan strain khamir dengan kadar paling baik mampu menghasilkan gas karbondioksida. Produksi gas karbondioksida adalah kriteria terpenting untuk ragi yang dapat menunjukkan aktivitas invertase tinggi. Khamir yang menghasilkan gas tertinggi dapat dipilih sebagai pengembang roti (Karki *et al.*, 2017).

### 2.6.2 Uji Toleransi Suhu

Suhu adalah variabel yang mempengaruhi mikroorganisme khamir, dimana respon protein untuk berubah menjadi dorongan memiliki respon suhu. Siklus dorongan akan berhenti dengan asumsi bahwa suhu di bawah ideal. Sementara suhu terlalu tinggi, bahan kimia didenaturasi (Karki *et al.*, 2017).

Uji ketahanan suhu berarti menentukan kapasitas ragi untuk menghuni suhu tinggi. Yeast yang memiliki ketahanan suhu yang tinggi dapat mempengaruhi siklus fermentasi pada yeast sehingga sangat baik untuk dimanfaatkan sebagai pembuat roti. Semua galur khamir, dapat berkembang pada suhu 25°C, 30°C, 37°C dan 45°C. Semua galur khamir memiliki opsi untuk berkembang dengan optimal pada suhu 25-37°C. Ragi yang dilengkapi untuk tumbuh hingga 45°C menunjukkan ketahanan yang lebih baik terhadap suhu tinggi. Ketahanan terhadap suhu tinggi dapat dimanfaatkan sebagai pembuat roti (Karki *et al.*, 2017).

Ragi yang berkembang di bawah suhu ideal menghasilkan lebih sedikit gas CO<sub>2</sub> daripada suhu tinggi, menstimulasi kinerja enzim dalam prosesnya metabolisme sel sehingga terjadi peningkatan pada gas karbondioksida (Komatsuzaki, 2016). Meningkatnya gas karbon dioksida dapat mempercepat proses mengembangnya adonan roti, sehingga sifat toleran terhadap suhu dapat dijadikan acuan dalam kriteria pengembangan roti (Karki *et al.*, 2017).

### 2.6.3 Uji H<sub>2</sub>S

Uji hidrogen sulfida yang menggunakan lead acetate merupakan bahan dari timbal asetat yang mengandung racun logam berat dapat membunuh dan mempengaruhi pertumbuhan khamir (Tewal dkk., 2021). Strain khamir yang baik dalam uji hidrogen sulfida tidak mampu menghasilkan H<sub>2</sub>S dan strain khamir

yang menghasilkan H<sub>2</sub>S tingkat tinggi tidak diinginkan. Strain khamir yang mampu menghasilkan H<sub>2</sub>S dalam jumlah besar, dimana menghasilkan aroma yang tidak sedap dan bisa mempengaruhi rasa yang nantinya dapat mengganggu kualitas pada roti (Karki *et al.*, 2017).

Khamir yang memproduksi hidrogen sulfida memiliki koloni berwarna coklat sampai hitam tergantung intensitas hidrogen sulfida yang dihasilkan. Sedangkan khamir yang tidak memproduksi hidrogen sulfida koloni berwarna putih. Khamir yang tidak mampu menghasilkan H<sub>2</sub>S digunakan untuk pengembang roti (Tsegaye *et al.*, 2018).

#### **2.6.4 Uji Toleransi Etanol**

Proses fermentasi pada khamir dalam memanfaatkan gula membentuk etanol. Khamir mampu bertahan hidup dalam konsentrasi etanol yang tinggi, sehingga jika kemampuan khamir semakin besar, maka khamir tersebut dapat hidup pada kondisi tercekam dalam tingginya konsentrasi pada etanol. Etanol dapat merusak DNA mitokondria pada khamir menyebabkan inaktivasi enzim yang terdapat pada khamir seperti heksokinase dan dehidrogenase. Konsentrasi alkohol yang terlalu tinggi, mampu menghancurkan membran sel ragi dan membunuh khamir dengan mengganggu pertumbuhannya (Karki *et al.*, 2017).

Uji toleransi yang dilakukan terhadap etanol dapat mengetahui kemampuan khamir tumbuh dalam keadaan fermentasi yang kaya akan etanol pada konsentrasi 10%, 13% dan 15%. Selain itu, mengetahui kemampuan khamir yang tumbuh dengan optimal pada konsentrasi etanol 10% dan 13%. Khamir komersial yang dimanfaatkan sebagai kriteria pengembang roti mampu bertahan dengan konsentrasi etanol tinggi yaitu 15% (Karki *et al.*, 2017). Khamir *Saccharomyces*

*cerevisiae* dan khamir komersial mampu tumbuh dalam konsentrasi etanol yang tinggi maksimal 16 % (Tsegaye *et al.*, 2018).

### **2.6.5 Uji Flokulasi**

Uji flokulasi dilakukan untuk mengetahui tingginya kepadatan sel khamir sehingga mampu meningkatkan proses fermentasi sebagai pengembang roti. Strain yang menunjukkan flokulasi yang baik pastinya akan memberikan efek mudah untuk dipisah pada media tanpa menggunakan filtrasi tambahan dan pengulangan hal dalam sentrifugasi sehingga secara komersial dapat memberikan keuntungan dan berpotensi dalam skala industri. Uji flokulasi memiliki pH optimum yaitu 4,5. Semua strain kecuali apel dan nangka menunjukkan sifat flokulasi (Karki *et al.*, 2017).

## **2.7 Khamir yang Dimanfaatkan sebagai Pengembang Roti**

Khamir yang biasa digunakan dalam pemanfaatan sebagai pengembang roti yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* dan *Hansenula anomala* (Querol dan Fleet, 2006). Isolat khamir yang memiliki kemampuan lebih baik dari ragi komersial yaitu *Rhodotorula mucilagnosa*. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah banyak ditemukan jenis khamir yang diisolasi pada buah-buahan diantaranya adalah *Candida colicullosa* pada nanas dan *Candida sorboxylosa* pada *Citrus sinensis* (Maryam *et al.*, 2017). Buah sirsak ditemukan jenis khamir *Candida tropicalis* (Suryaningsih dkk., 2018). Jenis khamir *Saccharomyces serevisiae* ditemukan pada buah pir merah (Nagai *et al.*, 2018).

### 2.7.1 Fermentasi Khamir pada Pengembang Roti

Proses fermentasi khamir mampu mengubah substrat menjadi CO<sub>2</sub>, etanol dan berlangsungnya asimilasi lipid, asam nukleat dan asam amino yang dapat memproduksi senyawa aroma, rasa diaplikasikan dalam bidang industri (Dufour *et al.*, 2003). Salah satunya khamir dapat diaplikasikan sebagai agen pengembang roti (Asyikeen *et al.*, 2013). Roti adalah bagian penting dari makanan manusia, tetapi bagi banyak orang, roti lebih dari sekadar memberi nutrisi (Ali *et al.*, 2012).

Roti dibuat dengan bahan tepung terigu, garam, air dan khamir atau ragi. Ragi yang digunakan sekitar 2% dalam pembuatan roti dan garam yang dimasukkan 1,5 hingga 2%. Garam menghambat sebagian enzim dalam ragi untuk memberikan adonan yang baik pada proses pembuatan roti. Roti terdapat tepung terigu yang mengandung protein, 1-2% gula oligosakarida, glukosa, fruktosa dan mengandung gluten (Michael, 2001). Khamir mempengaruhi gluten dengan mengoksidasi disulfida dan protein untuk menghasilkan rasa dan tekstur pada roti (Komatsuzaki, 2016).

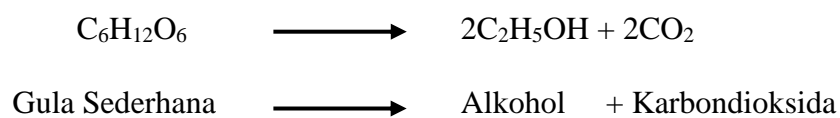
Proses pembuatan roti terdiri dari pengulenan adonan, pencampuran adonan, fermentasi adonan dan pemasakan adonan (Cho & Peterson, 2010). Adonan roti diawali dengan proses pengulenan adonan secara menyeluruh untuk menghasilkan gelembung secara merata, kemudian penggunaan ragi, kondisi dan peralatan harus terjaga agar tetap hangat untuk mendapatkan hasil terbaik (Yousif dan Safaa, 2014). Khamir memiliki enzim lipase, fosfatase, zimase dan proteinase yang berperan penting dalam melakukan dekomposisi senyawa organik serta memiliki potensi untuk ditambahkan pada proses pembuatan roti (Periadnadi *et al.*, 2018). Ragi memakan pati, membentuk gula, alkohol dan karbondioksida saat



dimasukkan kedalam adonan. Gelembung-gelembung CO<sub>2</sub> menyebabkan adonan mengembang, biasanya dua kali lipat volume aslinya (Yousif dan Safaa, 2014). Volume roti akan mengalami perkembangan jika adonan roti dapat menyediakan lingkungan yang sesuai dengan pertumbuhan khamir (Ali *et al.*, 2012).

Khamir pada pengembang roti berfungsi untuk meningkatkan volume adonan dengan mengembangkan struktur dan tekstur dalam adonan, meningkatkan rasa dan nilai gizi (Burrows, 1970). Meningkatnya volume adonan, nilai tambah rasa dan tekstur karena terbentuknya CO<sub>2</sub> hasil dari proses fermentasi karbohidrat (Fleury Rey *et al.*, 2002). Terkadang rasa asam muncul pada produk akibat campuran yang dibiarkan terlalu lama sehingga menginduksi adanya oksidasi alkohol (Yousif dan Safaa, 2014).

Ragi berperan penting dalam pematangan adonan selama fermentasi karena menghasilkan karbondioksida dengan pengembangan rasa dan sintesis alkohol (Ali *et al.*, 2012). Menurut Cauvain *et al.*, (2007), fermentasi alkohol adalah fermentasi yang terjadi pada pengembangan roti oleh khamir. Fermentasi alkohol berlangsung secara anaerobik atau tanpa udara (Amr & Alkhamaiseh., 2022). Rumus kimia proses fermentasi khamir sebagai pengembang roti adalah sebagai berikut Nurwahyu (2009):



Fermentasi alkohol adalah salah satu metode yang terlibat dengan perubahan gula menjadi etanol dan CO<sub>2</sub> (karbondioksida) sebagai hasil sampingan (Burrati dan Benedetti, 2016). Gula maltosa berubah menjadi glukosa, sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa sementara gula dasar lainnya menjadi CO<sub>2</sub>

(karbondioksida) dalam sistem penuaan menggunakan ragi. Karbondioksida ini membangun adonan selama penuaan (Ali *et al.*, 2012).

Khamir yang digunakan untuk roti dibuat dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengubah gula menjadi gas karbondioksida untuk pengembang adonan roti (Ali *et al.*, 2012). Gula yang diubah bisa berasal dari tepung maupun gula yang ditambahkan. Glukosa, fruktosa, sukrosa dan maltosa hadir secara alami dalam tepung. Gula yang ditambahkan oleh pembuat roti biasanya seperti sukrosa (Nagodawithana dan Trivedi, 1990). Maltosa juga dapat difermentasi yang berasal dari pemecahan amilolitik pati (Evans, 1990). Khamir dalam proses pengembangan adonan memanfaatkan gula dari tepung yang menghasilkan karbondioksida dan etil alkohol. Gas karbondioksida tertahan oleh gluten maka membuat adonan dapat mengembang (Shabrina, 2017).

## **BAB III**

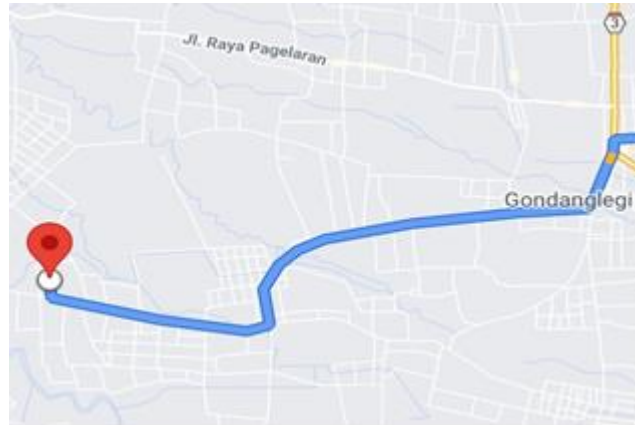
### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian pada kali ini merupakan penelitian eksplorasi berupa deskriptif kuantitatif dan kualitatif. Dimana penelitian ini dilakukan dengan cara mengisolasi khamir pada daging buah sawo manila yang diperoleh dari Desa Clumprit, Kecamatan Pagelaran, Kabupaten Malang. Data yang diperoleh pada penelitian ini merupakan data yang bersifat deskriptif kualitatif meliputi morfologi mikroskopis, makroskopis khamir, uji fermentasi karbohidrat, uji flokulasi dan uji H<sub>2</sub>S. Data kuantitatif digunakan untuk uji etanol, uji suhu, uji gula, uji pengembang roti dan perbandingannya menggunakan *fermipan* (ragi komersial).

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan November 2021 hingga Januari 2022. Pengambilan sampel buah sawo manila (*Manilkara zapota*) berada di Desa Clumprit RT 05, RW 01, Kecamatan Pagelaran, Kabupaten Malang. Isolasi dan uji potensi khamir endofit pada sampel daging buah sawo manila (*Manilkara zapota*) sebagai pengembang roti dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi, dan Biokimia, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.



**Gambar 3.1** Tempat Pengambilan Sampel Buah Sawo Manila di Desa Clumprit Kecamatan Pagelaran Kabupaten Malang (<http://google/maps.com>)

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan seperti autoklaf, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur tabung eppendorf 50 ml, *Laminar Air Flow* (LAF), cawan petri, tabung durham, pipet ukur, deck glass, cover glass, spoon, spreader, mikropipet, timbangan analitik, inkubator, lemari pendingin, mikroskop, hotplate, korek, bunsen, jarum ose, tusuk gigi, pinset, pengaduk kaca, stirer, tabung reaksi, kamera, mikropipet, yellow tip, blue tip, botol flakon dan vortex.

#### 3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu daging buah sawo manila (*Manilkara zapota*), *Glucose Yeast Peptone* (GYP), *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA), *Yeast Malt Broth* (YMB), Sodium DL-Lactate, *Lead acetate*, fermentasi karbohidrat (glukosa, sukrosa, fruktosa, laktosa), NaOH, acid fuchsin, NaCl, alkohol, spirtus, tissue, kertas label, aluminium foil, aquadest, wrap, plastik, media pengembangan adonan roti (gula, tepung, air dan garam) serta fermipan (ragi komersil).

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat dan bahan disterilisasi terlebih dahulu, dengan dibungkus cawan petri menggunakan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Peralatan gelas dibungkus dengan aluminium foil dan kemudian dibungkus (wrap). Alat dan bahan tersebut kemudian disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi menggunakan autoclave.

#### **3.4.2 Pembuatan Media**

##### **3.4.2.1 Media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA)**

Media YMEA yang akan dibuat mengacu pada Kurtzman and Fell (1998), pembuatan 1000 ml media YMEA membutuhkan 20 microbial agar, 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 3 gram yeast extract, 3 gram malt extract, dan 1000 ml air murni. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Tabung erlenmeyer kemudian ditutup dengan aluminium foil lalu dihomogenkan tanpa pemanasan. Media yang telah dihomogenkan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C. Media YMEA yang telah steril selanjutnya ditetesi *Sodium DL-Lactate* sebanyak 120 µL pada suhu sekitar 50°C (Engineering, 2015). Media dihomogenkan dengan cara dikocok. Media YMEA kemudian diisikan ke dalam cawan petri 20 ml dan didiamkan sampai padat.

##### **3.4.2.2 Media *Yeast Malt Broth* (YMB)**

Media YMB dibuat dengan Kurtzman and Fell (1998), untuk membuat 1000 ml media YMB diperlukan 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 3 gram malt extract, 3 gram yeast extract dan 1000 ml air murni. Bahan-bahan yang telah disusun kemudian dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer. Tabung Erlenmeyer

kemudian ditutup dengan aluminium foil. Media dihomogenkan menggunakan hotplate tanpa pemanasan. Media yang telah dihomogenkan kemudian disterilkan yang dimasukkan autoklaf pada suhu 121°C. Media YMB yang telah steril ditetesi *Sodium DL-Lactate* sebanyak 120µL pada suhu 50°C (Engineering, 2015). Kemudian media dihomogenkan dengan cara dikocok.

#### **3.4.2.3 *Glucose Yeast Peptone Medium* (GYP) Konsentrasi Glukosa 50%**

Media *Glucose Yeast Peptone* dibuat berdasarkan acuan buku Kurtzman dan Fell tahun 1998. Pembuatan 300 ml media GYP membutuhkan 15 gram glukosa, 1,5 gram yeast extract, 1,5 gram peptone dan 4,5 gram microbial agar dan 300ml aquades dimasukkan dalam tabung erlenmeyer. Setelah itu, disterilisasi menggunakan autoklaf. Proses sterilisasi telah selesai, media akan dilakukan *plating* pada cawan petri steril di *Laminar Air Flow* (LAF).

#### **3.4.2.4 Media Fermentasi Karbohidrat**

Media Fermentasi karbohidrat dibuat berdasarkan buku Atlas 2005. Untuk membuat 1000 ml media fermentasi karbohidrat diperlukan 10 gram pepton, 3 gram meat extract, 5 gram NaCl, 50 ml carbohydrate solution dan 10 ml indikator Andrade. Pembuatan fermentasi karbohidrat dan indikator Andrade dilakukan secara mandiri. Pembuatan media fermentasi dilakukan dengan mengencerkan bahan tersebut selain carbohydrate solution dengan 990 ml air murni kemudian dihomogenkan. Setelah homogen, media fermentasi dimasak dengan air mendidih hingga menjadi merah. Pembuatan 100 ml *carbohydrat solution* dilakukan dengan cara melarutkan 10 gram gula (jenis gula yang diinginkan sebagai sumber karbohidrat pada uji fermentasi) dalam 100 ml air murni. Jenis gula dalam

penelitian ini memanfaatkan glukosa, fruktosa, laktosa dan sukrosa. *Carbohidrat solution* kemudian disterilkan menggunakan autoklaf.

Pembuatan 100 ml indikator Andrade membutuhkan 0,1 gram fuchsin acid dan 16 ml NaOH (Larutan 1 N) yang dicampurkan dalam air murni 100 ml. Media fermentasi karbohidrat yang telah berubah warna menjadi merah diambil sebanyak 9 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dipasang tabung durham. Media fermentasi dapat dipastikan masuk memenuhi tabung durham dengan mengocok tabung reaksi secara bertahap, kemudian ditutup. Setelah itu, disterilkan menggunakan autoklaf. Pengautoklavan telah selesai, media ditunggu hingga dingin ditambahkan 0,5 ml *carbohidrat solution* steril pada setiap tabung.

#### **3.4.2.5 YPGB (*Yeast Peptone Glucose Broth*)**

Pembuatan *Yeast Peptone Glucose Broth* mengacu pada Asyikeen (2013), dengan 20 gram glukosa, 10 gram *yeast extract*, 20 gram *peptone* diencerkan dalam 1000 ml aquades pada beaker glass, lalu dihomogenkan. Media yang telah diencerkan dimasukkan tabung reaksi, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

#### **3.4.2.6 Lead Acetate**

Pembuatan *lead acetate* mengacu pada Karki *et al.*, (2017), pada 40 gram glukosa, 5 gram *yeast extract*, 3 gram *peptone*, 20 gram *microbial agar*, 1 gram *lead acetate* dalam 1000 ml aquades, dimasukkan *beaker glass* lalu dihomogenkan. Media yang dihomogenisasi, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Proses sterilisasi telah selesai, media

dalam *beaker glass* dimasukkan sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi hingga mengeras.

### 3.4.3 Isolasi Khamir

Isolasi khamir menggunakan teknik Winogradsky (*enrichment culture on selective media*) (Martiningsih, 2007). Teknik Winogradsky biasa digunakan dalam prosedur isolasi khamir pada substrat alami contohnya buah. Cara kerja teknik ini adalah untuk memperbanyak kultur mikroba dengan menyediakan media yang bernutrisi, sehingga kultur khamir tumbuh pesat pada media yang dikenal dengan istilah “*autoenrichment culture*”. Kultur khamir diinkubasi pada suhu kamar hingga mengalami proses fermentasi.

Isolasi dari daging buah sawo yang digunakan layak dikonsumsi, manis dan segar. Daging buah sawo yang digunakan telah dipotong 3x3cm dimasukkan tabung eppendorf steril 50 ml dengan diberi media cair yaitu *Yeast Malt Extract Broth* (YMB) yang ditambahkan *sodium DL-Lactate* sebagai antibakteri (Watanabe *et al.*, 2016). Sampel daging buah sawo dan YMB yang dituang hingga penuh dalam tabung eppendorf kemudian diinkubasi dengan suhu ruangan (25°C-27°C) selama 24-72 jam. Proses inkubasi telah selesai, adanya gelembung pada media, volume yang meningkat dan terdapat aroma fermentasi (Kurtzman dan Fell, 1998), hal tersebut dijadikan acuan sebagai kriteria untuk pertumbuhan khamir. Khamir yang mampu tumbuh pada media *Yeast Malt Extract Broth* diambil sebanyak 1 ml diencerkan dengan aquades steril sebanyak 9 ml, dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-3}$  dalam tabung reaksi. Pengenceran dikocok dengan menggunakan vortex hingga homogen (Suryaningsih dkk., 2018). Hasil pengenceran sebanyak 1 ml dituang ke dalam cawan petri media YMEA yang



telah ditambahkan *Sodium DL-Lactate* sebagai antibakteri (Watanabe *et al.*, 2016). Sampel hasil pengenceran masing-masing diinokulasikan pada media YMEA sebanyak 2 kali ulangan dan diratakan dengan batang penebar, kemudian diinkubasi dalam suhu ruang 27°C selama 2x24 jam (Suryaningsih dkk., 2018).

#### **3.4.4 Purifikasi**

Purifikasi khamir yang digunakan memilih koloni dengan penampakan berbeda berdasarkan dominansi tumbuh serta morfologi di media (Widiastutik & Alami, 2014). *Streak plate* koloni terpilih pada media YMEA miring. Isolat khamir hasil isolasi dari media YMEA diambil 1 koloni menggunakan jarum ose yang akan ditanam pada 3 ml YMB dalam tabung reaksi. Isolat kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 24-72 jam. Isolat yang telah tumbuh kemudian dipindah pada media YMEA sebanyak 20 ml dan diratakan dengan jarum penebar. Isolat diinkubasi selama 24-72 jam pada suhu ruang (Okwulehie & Alfred, 2010).

#### **3.4.5 Identifikasi Morfologi Khamir**

##### **3.4.5.1 Pengamatan Makroskopik**

Pengamatan secara makroskopik khamir merujuk pada buku *The Yeast Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Identifikasi makroskopik dilakukan pada isolat hasil dari purifikasi pada YMEA. Isolat hasil dari purifikasi diidentifikasi morfologi koloni yang mampu tumbuh pada media padat, diamati karakter makroskopisnya meliputi tepi koloni, permukaan koloni, tekstur, elevasi dan warna koloni (Suryaningsih dkk., 2018).

### 3.4.5.2 Pengamatan Mikroskopik

Identifikasi mikroskopik pada khamir dilakukan berdasarkan buku *The Yeast Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Isolat khamir yang digunakan hasil purifikasi selama 24 jam diambil sedikit, kemudian diletakkan dalam *deck glass* dan ditetesi aquades steril, lalu diamati di bawah mikroskop (Ma'aruf *et al.*, 2011). Mikroskop dengan perbesaran 4x10 hingga 10x100 digunakan untuk identifikasi mikroskopik. Identifikasi mikroskopik yang diamati dilihat berdasarkan bentuk dan ukuran sel khamir (Suryaningsih dkk., 2018). Bentuk sel khamir (bulat, silinder, oval dan sferoid) dan diamati alat reproduksi aseksual berupa ada tidaknya pertunasan (*budding*) pada sel khamir (Zunaidah dan Alami, 2014). Menurut Hammamoto & Nakase (2000) bahwa subkelas *Hemiascomycetes* memiliki karakteristik dinding sel lapis dua (bilayer) dengan melakukan reproduksi aseksual secara *budding*.

### 3.4.6 Uji Biokimia

#### 3.4.6.1 Fermentasi Karbohidrat

Fermentasi karbohidrat menggunakan isolat murni sebagai bahan pengujian biokimia. Isolat khamir ditumbuhkan pada media fermentasi karbohidrat. Hal ini untuk mengetahui kemampuan khamir dalam memfermentasi karbohidrat. Selain itu, sebagai dasar untuk identifikasi lanjutan pertumbuhan khamir pada media yang mengandung gula 50%.

Penelitian ini menggunakan sumber karbohidrat fruktosa, glukosa, sukrosa dan laktosa. Sebanyak 100µl khamir dengan usia 48 jam diinokulasi pada 10 ml media fermentasi karbohidrat dengan konsentrasi gula 10% (m/v) dan kontrol negatif tanpa pemberian khamir (Karki *et al.*, 2017). Media fermentasi

dimasukkan dalam tabung reaksi dengan ditambahkan tabung durham. Kemudian, diinkubasi pada suhu 27°C selama 7 hari (Harley & Prescott, 2002). Indikator pH dan tabung durham digunakan pada penambahan media fermentasi karbohidrat. Adanya perubahan warna media merah menjadi merah muda yang merupakan tanda adanya asam yang dihasilkan oleh khamir sehingga media berubah menjadi asam dan pH menurun. Fermentasi karbohidrat terhadap etanol ditandai oleh warna merah muda pada media yang disertai gelembung (Harley & Prescott, 2002). Tabung durham digunakan sebagai indikator gelembung udara hasil proses fermentasi adanya karbondioksida (Ma'aruf *et al.*, 2011).

#### **3.4.6.2 Uji Pertumbuhan khamir pada Medium Glucose Yeast Peptone Konsentrasi 50%**

Kemampuan hidup khamir pada media dalam konsentrasi gula tinggi diuji karena hanya sedikit (20-50%) jenis khamir yang hidup di lingkungan dengan kadar gula tinggi (Herrera, *et al.*, 2009). Pengujian ini dapat dijadikan acuan isolat khamir dalam pengembang adonan roti yang mampu melewati uji pertumbuhan terhadap kadar glukosa dengan baik. Prosedur uji pertumbuhan khamir sebanyak 100 µl isolat berumur 2 hari diinokulasikan pada 10ml medium *Glucose Yeast Peptone* (GYP) dengan kadar konsentrasi gula 50% (m/v) yang dilakukan 3 ulangan dan kontrol negatif tanpa pemberian khamir (Kurtzman dan Fell, 1998). Media diinkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam (Ali dan Khan, 2014). Khamir yang telah tumbuh dapat dihitung nilai kerapatannya menggunakan spektrofotometer *UV-vis* dengan panjang gelombang 600 nm selama 24 jam, 48 jam, dan media pertumbuhan sebagai blank (Nasir, *et al.*, 2017).

### 3.4.6.3 Uji H<sub>2</sub>S

Uji hidrogen sulfida memakai isolat ragi yang ditumbuhkan pada media *lead acetate* (glukosa 40 g/L, 5 g/L *yeast extract*, 3 g/L *peptone*, 0,2 g/L ammonium sulfat, 1 g/L *lead acetate*, 20 g/L agar) (Karki et al., 2017). Khamir diinokulasi terlebih dahulu menggunakan media miring *lead acetate* dengan metode *streak plate* pada bagian permukaan media menggunakan jarum ose dan tusuk pada bagian dasar media menggunakan jarum enten (Ono et al., 1991). Kemudian diinkubasi selama 7 hari dengan suhu 30°C. Senyawa H<sub>2</sub>S dalam jumlah besar tidak diinginkan, karena menyebabkan rasa dan bau yang mengganggu pada kualitas roti. Diamati ada tidaknya perubahan koloni pada khamir. Khamir yang memproduksi hidrogen sulfida memiliki koloni berwarna coklat sampai hitam tergantung intensitas hidrogen sulfida yang dihasilkan, sedangkan khamir yang tidak memproduksi hidrogen sulfida koloni berwarna putih (Karki et al., 2017).

### 3.4.6.4 Uji Etanol

Uji toleransi etanol isolat khamir diinokulasikan pada 10 ml media YPG *broth* menggunakan tiga konsentrasi etanol yang berbeda yaitu 10%, 13% dan 15% (v/v) dan diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 30°C. Kepadatan sel khamir dapat dihitung sebelum dan sesudah diinkubasi dengan spektrofotometer *UV-vis* pada panjang gelombang 600nm dan media pertumbuhan sebagai blank. Uji etanol digunakan untuk menunjukkan pertumbuhan sel khamir dan kerapatan sel. Ragi komersial yang dimanfaatkan sebagai pengembang roti, khamir mampu tumbuh dalam keadaan fermentasi yang kaya akan etanol (Karki et al., 2017).

#### **3.4.6.5 Uji Toleransi Suhu**

Uji suhu isolat khamir diambil sebanyak 0,1 ml diinokulasi dalam media YPGB 10 ml, kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan tiga suhu yang berbeda yaitu 30°C, 37°C dan 45°C selama 72 jam (Karki *et al.*, 2017). Kepadatan pada sel khamir dapat diketahui dengan spektrofotometer *UV-vis* panjang gelombang 600nm selama 24 jam, 72 jam dan media pertumbuhannya sebagai blank (Nasir *et al.*, 2017). Pengujian ini untuk menentukan kemampuan pada khamir yang dapat bertahan dalam suhu tinggi (Karki *et al.*, 2017).

Khamir yang memiliki ketahanan pada suhu tinggi dapat mempengaruhi proses memfermentasi, sehingga sangat baik untuk dimanfaatkan sebagai pembuat roti. Strain khamir pada umumnya dapat tumbuh dalam suhu 25-37°C. Khamir juga tumbuh hingga suhu 45°C. Hal ini, menunjukkan bahwa khamir dapat bertahan dengan baik pada suhu tinggi. Ketahanan khamir terhadap suhu tinggi dapat dimanfaatkan sebagai pembuat roti (Karki *et al.*, 2017).

#### **3.4.6.6 Uji Flokulasi**

Uji flokulasi isolat khamir diinokulasikan pada 10 ml media YPG broth kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari, lalu diamati pembentukan flokulasi. Hasilnya dapat dilihat ada tidaknya endapan pada media. Khamir akan membentuk endapan di bawah pada hasil akhir fermentasi. Hasil endapan pada khamir dapat digunakan untuk produksi ragi komersial sebagai pengembang roti tanpa adanya proses filtrasi dan sentrifugasi karena lebih mudah untuk dipisahkan dari media (Karki *et al.*, 2017). Terbentuknya flokulasi disebabkan adanya proses adhesi (Soares, 2011).

#### **3.4.6.7 Uji Kemampuan Khamir sebagai Pengembang Roti**

Uji potensi pada kemampuan khamir sebagai pengembang roti dilakukan dengan cara peremajaan pada tabung *falcon* berisi 10 ml media YPG *broth* yang masing-masing isolat disentrifugasi secara aseptis. Isolat khamir diinokulasi ke dalam masing-masing tabung yang telah berisi media YPG lalu dihomogenisasi. Kemudian, di *shaker incubator* pada suhu  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 72 jam (Ma'aruf *et al.*, 2011). Tahap selanjutnya isolat khamir dilakukan proses disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit (Ma'aruf *et al.*, 2011). Uji potensi kemampuan khamir disentrifugasi untuk diambil pellet khamirnya (Karki *et al.*, 2017). Pellet khamir kemudian diambil 0,55 gram dan diinokulasi dalam 30 ml air hangat dengan gula 6 gram. Air hangat dapat mengaktifkan sel-sel khamir. Larutan khamir tersebut kemudian dicampurkan dalam 1 gram garam dan 25 gram tepung hingga adonan kalis. Percobaan ini menggunakan kontrol positif dengan penambahan fermipan (Karki *et al.*, 2017).

Percobaan ini adonan dibentuk seperti bulatan dan diletakkan didalam wadah lalu ditutup dengan *plastic wrap* dan disimpan pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam hingga adonan mengembang. Setelah itu, diamati dan selanjutnya adonan roti dipanggang dengan suhu  $180^{\circ}\text{C}$  dalam waktu 20 menit. Pemangangan roti dilakukan untuk diamati tekstur, aroma dan warna permukaan roti. Laju pengembangan adonan roti diamati setiap 2 jam sekali hingga sama dengan ragi fermipan (Karki *et al.*, 2017).

### **3.5 Teknik Analisis Data**

Data penelitian dianalisis secara deskriptif kualitatif serta kuantitatif yang dibuat dalam bentuk gambar dan tabel. Pengolahan data secara deskriptif

kuantitatif dapat dibuat dalam bentuk diagram absorbansi yang diolah menggunakan Ms. Excel sehingga data dapat diinterpretasikan sesuai dengan hasil pengamatan.

**BAB IV**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**4.1 Khamir Hasil Isolasi dari Daging Buah Sawo**

Khamir hasil isolasi yang telah dimurnikan pada daging buah sawo manila (*Manilkara zapota*) memiliki tiga isolat khamir dengan karakter morfologi yang berbeda. Karakter morfologi dapat diketahui secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis meliputi tekstur, warna, permukaan, bentuk, elevasi dan tepi sedangkan pengamatan mikroskopis dengan mengamati ukuran sel, reproduksi aseksual dan bentuk sel dengan perbesaran 10x100 $\mu$ m. Hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat dalam Tabel 4.1 dan pengamatan mikroskopis dapat dilihat dalam Tabel 4.2.

**Tabel 4.1** Karakter Morfologi Secara Makroskopis Isolat Khamir pada Daging Buah Sawo (*Manilkara zapota*)

<b>Isolat</b>	<b>Warna</b>	<b>Bentuk</b>	<b>Permukaan</b>	<b>Tekstur</b>	<b>Tepi</b>	<b>Elevasi</b>
Yeast-1	Putih	Bulat	Halus	Krim	Rata	Timbul
Yeast-2	Putih	Bulat	Halus	Krim	Rata	Timbul
Yeast-3	Putih	Bulat	Halus	Krim	Rata	Timbul

Berdasarkan hasil identifikasi makroskopis isolat khamir endofit pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa bentuk dari isolat khamir Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 adalah bulat, sebagaimana morfologi khamir secara makroskopis memiliki sebuah bentuk sel dengan beberapa macam yaitu oval, bulat, silinder (batang), botol, segitiga melengkung dan apikulat (lemon) (Fardiaz, 1992). Menurut Pelczar dan Chan (1998) bahwa sel khamir berbentuk bundar



(*spherical*), adakalanya juga berbentuk *ellipsoidal* (lonjong, memanjang) sampai *cylindrical*. Hasil pengamatan lainnya juga menunjukkan adanya bentuk permukaan yang halus, tekstur krim, elevasi timbul dengan tepi rata. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lay (1994), koloni khamir mempunyai tepi rata (*entire*), berlobus (*lobate*), berlekuk (*undulate*) dan meruncing (*erose*); tekstur permukaan seperti kapas, permukaan licin (*surface glistening*) dan padat (*compact*) dan kasar.

**Tabel 4.2** Karakter Morfologi Secara Mikroskopis Isolat Khamir pada Daging Buah Sawo (*Manilkara zapota*)

Isolat	Bentuk	Reproduksi	Ukuran ( <i>lx p</i> )
Yeast-1	Bulat Lonjong	<i>Budding</i>	3,62 x 9,19 $\mu\text{m}$
Yeast-2	Oval	<i>Budding</i>	3,44 x 5,49 $\mu\text{m}$
Yeast-3	Oval	<i>Budding</i>	5,54 x 7,32 $\mu\text{m}$

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis pada Tabel 4.2, isolat khamir Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 memiliki bentuk bermacam-macam. Isolat khamir Yeast-1 memiliki sel berbentuk bulat lonjong sedangkan Yeast-2 dan Yeast-3 sel khamir berbentuk oval. Sesuai dengan pernyataan Puspita dkk., (2020) bahwa khamir memiliki bentuk sel yang bermacam-macam yaitu oval, bulat, silinder (batang), botol, segitiga melengkung dan apikulat (lemon). Sedangkan menurut pendapat Pelczar dan Chan (1998) bahwa sel khamir berbentuk bundar (*spherical*), adakalanya juga berbentuk *ellipsoidal* (lonjong, memanjang) sampai *cylindrical*.

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis pada Tabel 4.2, isolat sel khamir berukuran lebar sekitar 3,44-5,54  $\mu\text{m}$  dan panjang 5,49-9,19  $\mu\text{m}$ . Menurut Pelczar *et al.*, (2008) bahwa ukuran khamir sangat beragam, secara umum lebarnya berkisar antara 1-5  $\mu\text{m}$  dan panjangnya berkisar antara 5-30  $\mu\text{m}$ . Sedangkan menurut Prihartini dan Ilmi (2018) bahwa sel khamir umumnya

memiliki lebar 1-10  $\mu\text{m}$  dan panjang 2-3  $\mu\text{m}$  hingga mencapai 20–50  $\mu\text{m}$ . Sebagaimana pernyataan Puspita dkk., (2020) bahwa khamir memiliki ukuran yang bervariasi, yaitu panjang 5–20  $\mu\text{m}$  dan lebar 1–10  $\mu\text{m}$  dengan bentuk sel yang bermacam-macam yaitu oval, bulat, silinder (batang), botol, segitiga melengkung dan apikulat (lemon).

Seluruh isolat khamir daging buah sawo termasuk dalam kelas *Ascomycetes* karena isolat khamir nampak seperti warna putih. Menurut Webster & Weber (2007) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* umumnya tidak memiliki warna pigmen sehingga tampak seperti warna putih dan krem. Menurut Neiman (2005) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* memiliki askospora, talus terdiri dari miselium bersekat, dinding sel terdapat zat kitin, tidak ada hifa, dan reproduksi vegetatif dengan pembelahan sel. Menurut Campbell dkk., (2008) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* dalam reproduksi generatif membentuk konidia. Menurut Webster & Weber (2007) bahwa khamir kelas *Basidiomycetes* memiliki pigmen berwarna orange, merah, merah muda, dan kuning. Menurut Kurtzman dan Fell, (2006) bahwa *Basidiomycetes* termasuk kelompok khamir yang menghasilkan basidiospora (basidiosporogenous) sebagai alat reproduksi seksual dan struktur yang berbentuk ganda yaitu basidium. Menurut Fell *et al.*, (2000) bahwa karakteristik khamir dalam kelas *Basidiomycetes* memiliki dinding sel banyak lapis dan reproduksi aseksual dengan pertunasan enteroblastik.

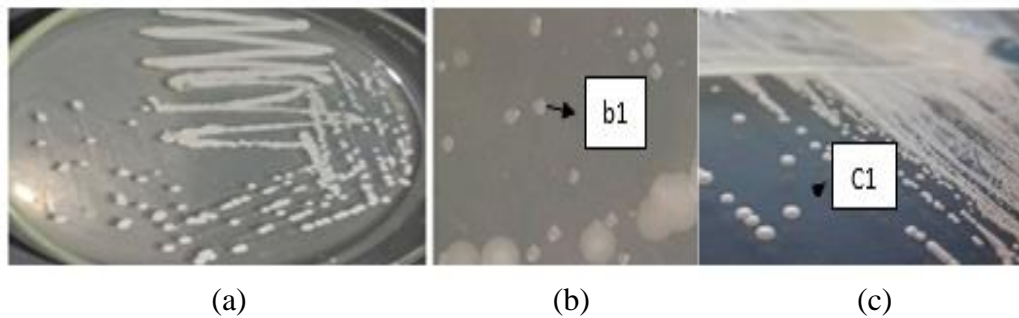
Isolat khamir Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 melakukan reproduksi aseksual, dimana reproduksi aseksual dengan cara *budding* (pertunasan monopolar). Menurut Tortora (2010) bahwa pertunasan (*budding*) dapat bersifat pertunasan monopolar (satu kutub), pertunasan bipolar (dua kutub) dan pertunasan

multilateral (banyak kutub). Reproduksi aseksual dengan cara *budding* termasuk subkelas *Hemiascomycetes*. Menurut Hammamoto & Nakase (2000) bahwa subkelas *Hemiascomycetes* melakukan reproduksi aseksual dengan *budding*.

#### **4.1.1 Pengamatan Isolat Khamir Yeast 1**

Hasil pengamatan makroskopis khamir Yeast-1 pada (Gambar 4.1 a, b dan c) sel khamir Yeast-1 didapatkan hasil bahwa khamir memiliki tepi rata, permukaan halus dan memiliki tekstur seperti krim dengan elevasi timbul. Menurut Kurtzman dan Fell (2011) bahwa khamir memiliki elevasi koloni khamir yaitu datar, timbul atau menonjol seperti kubah dengan permukaan koloni halus, kusam atau berkilau, kasar, terlipat, dan bergerigi. Isolat khamir Yeast-1 koloni tampak seperti warna putih dengan reproduksi aseksual membentuk *budding*. Menurut Webster & Weber (2007) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* umumnya tidak memiliki warna pigmen sehingga tampak seperti warna putih dan krem. Menurut Barr (2001) menyebutkan bahwa golongan khamir *Ascomycetes* melakukan reproduksi aseksual dengan adanya pembentukan tunas (*budding*).

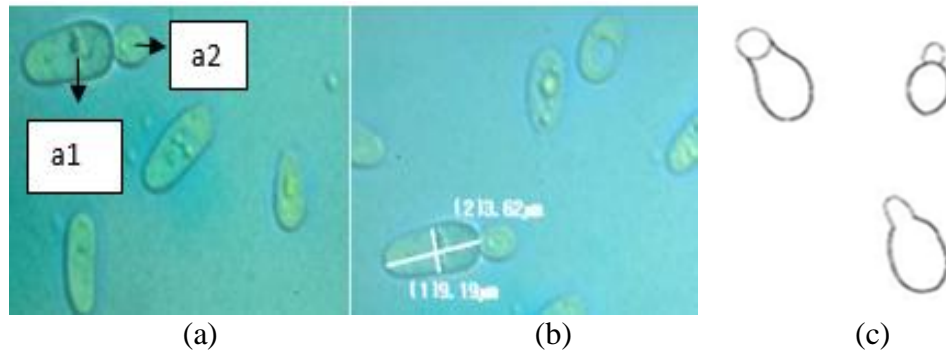
Menurut Satyanara & Kunze (2009) bahwa karakteristik *Ascomycetes* pertunasan secara holoblastik dimana satu sel tidak terjadi pertunasan. Menurut Kurtzman dan Sugiyama (2001) bahwa karakteristik khamir kelas *Ascomycetes* memiliki dinding sel dua lapis. Menurut Neiman (2005) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* memiliki askospora, talus terdiri dari miselium bersekat, dinding sel terdapat zat kitin dan tidak ada hifa. Menurut Campbell dkk., (2008) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* dalam reproduksi generatif membentuk konidia.



**Gambar 4.1** a) Koloni isolat Yeast-1 pada media padat, b) Koloni isolat Yeast-1 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x. (b1. Elevasi koloni timbul), c) Khamir JCM 21985 (c1. Elevasi koloni timbul) (RIKEN BioResource Research Center, 2022).

Selanjutnya, hasil pengamatan secara mikroskopis khamir Yeast-1 dapat dilihat pada (Gambar 4.2 a dan b) yang menunjukkan bentuk sel dari isolat Yeast-1 memiliki bentuk bulat lonjong dengan ukuran panjang  $9,19 \mu\text{m}$  dan lebar  $3,62 \mu\text{m}$ . Menurut Puspita dkk., (2020) bahwa khamir memiliki ukuran yang bervariasi, yaitu kisaran panjang  $5\text{-}20 \mu\text{m}$  dan lebar  $1\text{-}10 \mu\text{m}$  dengan bentuk sel yang bermacam-macam yaitu oval, bulat, silinder (batang), botol, segitiga melengkung dan apikulat (lemon).

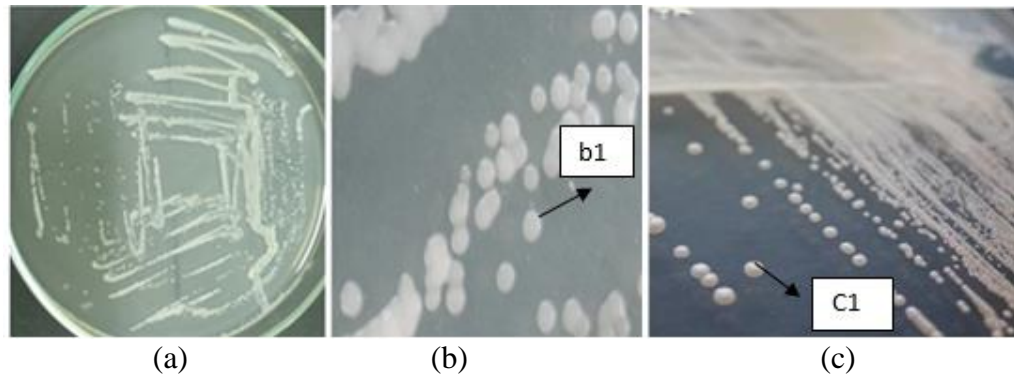
Hasil pengamatan secara mikroskopis (Gambar 4.2 c.), dapat disimpulkan bahwa khamir Yeast-1 tergolong dalam kelas *Ascomycetes* yang melakukan reproduksi aseksual dengan cara *budding* (pertunasan monopolar). Reproduksi aseksual dengan cara *budding* termasuk subkelas *Hemiascomycetes*. Menurut Fitriani dan Krisnawati (2021) bahwa subkelas *Hemiascomycetes* memiliki karakteristik dinding sel lapis dua (bilayer) dengan melakukan reproduksi aseksual secara *budding* (Holoblastik). Subkelas *Hemiascomycetes* memiliki askus yang tidak ditutupi oleh tubuh buah (askokarp). Berdasarkan kemiripan karakter pada pengamatan makroskopis dan mikroskopis yang dimiliki isolat Yeast-1 termasuk ke dalam kelas *Ascomycetes* dengan subkelas *Hemiascomycetes*.



**Gambar 4.2** a) Hasil pengamatan mikroskop pada isolat yeast-1 perbesaran 1000x (a1. Sel induk yeast-1, a2. sel anak yeast-1), b) Pengukuran lebar dan panjang isolat yeast-1, c) pertunasan monopolar.

#### 4.1.2 Pengamatan Isolat Khamir Yeast 2

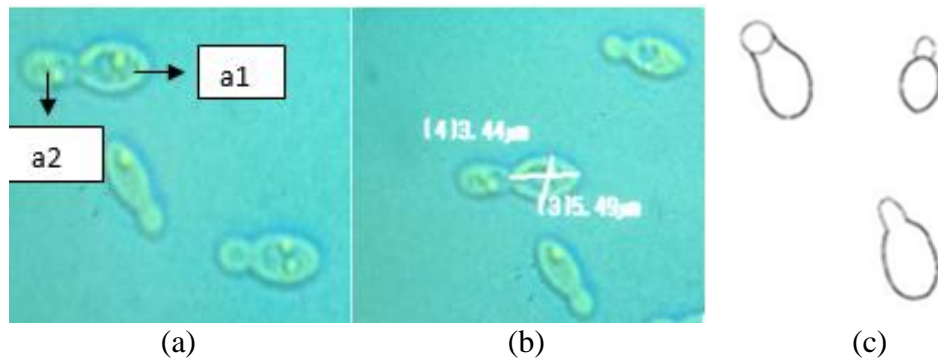
Hasil pengamatan makroskopis khamir Yeast-2 pada (Gambar 4.3 a, b, dan c) bahwa isolat khamir Yeast-2 memiliki karakteristik bentuknya bulat, permukaan halus, tekstur krim, elevasi timbul dan tepi rata. Menurut Kurtzman dan Fell (2011) bahwa khamir memiliki elevasi koloni khamir yaitu datar, timbul atau menonjol seperti kubah dengan permukaan koloni halus, kusam atau berkilau, kasar, terlipat, dan bergerigi. Isolat khamir Yeast-2 tampak seperti warna putih. Menurut Webster & Weber (2007) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* umumnya tidak memiliki warna pigmen sehingga tampak seperti warna putih dan krem. Menurut Satyanara & Kunze (2009) bahwa karakteristik *Ascomycetes* pertunasan secara holoblastik dimana satu sel tidak terjadi pertunasan. Menurut Kurtzman dan Sugiyama (2001) bahwa karakteristik khamir kelas *Ascomycetes* memiliki dinding sel dua lapis. Menurut Neiman (2005) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* memiliki askospora, talus terdiri dari miselium bersekat, dinding sel terdapat zat kitin, dan tidak ada hifa. Menurut Campbell dkk., (2008) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* dalam reproduksi generatif membentuk konidia.



**Gambar 4.3** a) Koloni isolat yeast-2 pada media padat, b) Koloni isolat yeast-1 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x (b1. Elevasi koloni timbul) c) Khamir JCM 21985 (c1. Elevasi koloni timbul) (RIKEN BioResource Research Center, 2022).

Hasil pengamatan secara mikroskopis khamir Yeast-2 dapat dilihat pada (Gambar 4.4 a dan b) bentuk sel dari isolat Yeast-2 adalah oval. Menurut Puspita dkk., (2020) bahwa bentuk sel khamir yang bermacam-macam yaitu oval, bulat, silinder (batang), botol, segitiga melengkung dan apikulat (lemon). Menurut Wachid dan Mutia (2019) bahwa khamir tergolong eukariot dengan morfologi secara mikroskopis berbentuk silindris, oval (bulat telur), dan bulat lonjong. Sel khamir juga memiliki lebar 3,44  $\mu\text{m}$  dan panjang 5,49  $\mu\text{m}$ . Sesuai dengan pernyataan dari Puspita dkk., (2020) bahwa khamir memiliki ukuran yang bervariasi, yaitu memiliki kisaran panjang sekitar 5–20  $\mu\text{m}$  dan lebar 1–10  $\mu\text{m}$ .

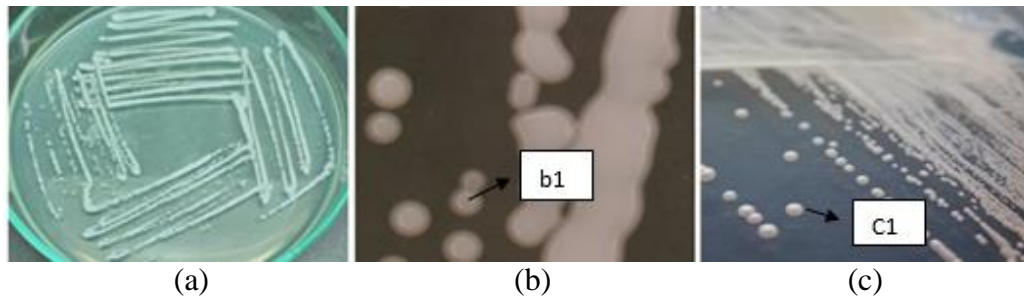
Hasil pengamatan secara mikroskopis (Gambar 4.4 c) bahwa isolat khamir Yeast-2 melakukan reproduksi aseksual dengan cara budding (pertunasan monopolar) termasuk dalam subkelas *Hemiascomycetes*. Menurut Hammamoto & Nakase (2000), subkelas *Hemiascomycetes* memiliki karakteristik dinding sel lapis dua (bilayer) dengan reproduksi aseksual *budding* (Holoblastik). Berdasarkan kemiripan karakter makroskopis dan mikroskopis yang dimiliki, isolat Yeast-2 termasuk dalam kelas *Ascomycetes* dengan subkelas *Hemiascomycetes*.



**Gambar 4.4** a) Hasil pengamatan mikroskop pada isolat yeast-2 perbesaran 1000x (a1. sel induk yeast-2, a2 sel anak yeast-2), b) Pengukuran lebar dan panjang isolat yeast-2, c) pertunasan monopolar.

#### 4.1.3 Pengamatan Isolat Khamir Yeast 3

Hasil pengamatan makroskopis khamir dari daging buah sawo pada (Gambar 4.5 a, b, dan c) bahwa isolat khamir Yeast-3 memiliki permukaan halus, tepi rata tekstur krim, dan elevasi timbul. Menurut Kurtzman dan Fell (2011) bahwa khamir memiliki elevasi koloni khamir yaitu datar, timbul atau menonjol seperti kubah dengan permukaan koloni halus, kusam atau berkilau, kasar, terlipat, dan bergerigi. Isolat khamir Yeast-3 memiliki bentuk bulat tampak seperti warna putih. Menurut Webster & Weber (2007) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* umumnya tidak memiliki warna pigmen sehingga tampak seperti warna putih dan krem. Menurut Satyanara & Kunze (2009) bahwa karakteristik *Ascomycetes* pertunasan secara holoblastik dimana satu sel tidak terjadi pertunasan. Menurut Neiman (2005) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* memiliki askospora, talus terdiri dari miselium bersekat, dinding sel terdapat zat kitin, dan tidak ada hifa. Menurut Campbell dkk., (2008) bahwa khamir kelas *Ascomycetes* dalam reproduksi generatif membentuk konidia.



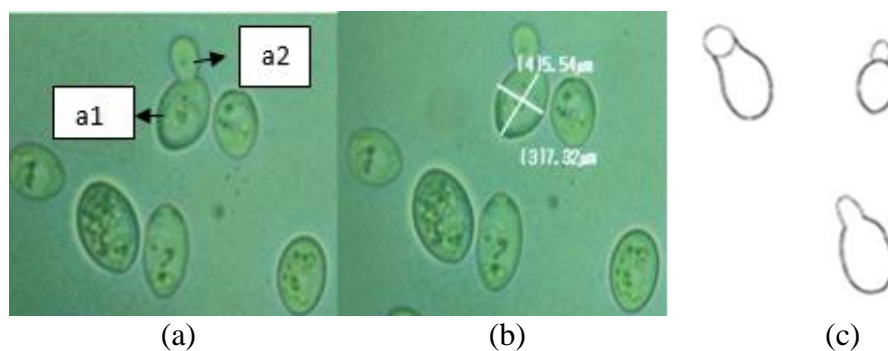
**Gambar 4.5** a) Koloni isolat yeast-3 pada media padat, b) Koloni isolat yeast-1 pada pengamatan mikroskop stereo perbesaran 11x c) Khamir JCM 21985 (c1. Elevasi koloni timbul) (RIKEN BioResource Research Center, 2022).

Selanjutnya hasil pengamatan secara mikroskopis khamir Yeast-3 dapat dilihat pada (Gambar 4.6 a dan b) dapat ditunjukkan bahwa bentuk sel dari isolat Yeast-3 adalah oval. Menurut Puspita dkk., (2020) bahwa bentuk sel khamir yang bermacam-macam yaitu oval, bulat, silinder (batang), botol, segitiga melengkung, dan apikulat (lemon). Sel khamir memiliki lebar  $5,54 \mu\text{m}$  dan panjang  $7,32 \mu\text{m}$ . Menurut Puspita dkk., (2020) bahwa khamir memiliki ukuran yang bervariasi, yaitu panjang  $5\text{--}20 \mu\text{m}$  dan lebar  $1\text{--}10 \mu\text{m}$ .

Hasil pengamatan secara mikroskopis (Gambar 4.6 c) bahwa khamir Yeast-3 melakukan reproduksi aseksual dengan cara *budding* (pertunasan monopolar). Menurut Kurtzman & Fell (1998) bahwa *monopolar budding* merupakan pertunasan pada satu kutub sel induk. Sel induk pada khamir membentuk sel anak dengan ukuran lebih kecil. Reproduksi aseksual dengan cara *budding* termasuk subkelas *Hemiascomycetes*. Menurut Hammamoto & Nakase (2000) bahwa subkelas *Hemiascomycetes* memiliki karakteristik dinding sel lapis dua (bilayer) dengan reproduksi aseksual *budding* (Holoblastik). Berdasarkan Menurut El helow *et al.*, (2015) bahwa banyak strain khamir yang termasuk subkelas *Hemiascomycetes* yaitu genus *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* dan *Rhodotorula* yang dapat dimanfaatkan dalam bidang industri karena



kemampuannya tumbuh dalam medium atau bahan baku yang murah. Selain itu, genus *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida*, *Rhodotorula* juga dikenal dengan tingkat pertumbuhan yang cepat, kandungan proteinnya tinggi, memiliki stabilitas genetik yang baik dan memiliki nilai gizi yang baik. Namun beberapa genus *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* dan *Rhodotorula* memiliki kekurangan yaitu terkadang bersifat patogen yang dapat diuji patogenesis khamir.



**Gambar 4.6** a) Hasil pengamatan mikroskop pada isolat yeast-3 perbesaran 1000x (a1. Sel induk yeast-3, a2. Sel anak yeast-3), b) Pengukuran lebar dan panjang isolat yeast-3, c) Pertunasan monopolar

## 4.2 Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan tiga isolat khamir dalam memfermentasi karbohidrat dalam jenis gula glukosa, sukrosa, fruktosa dan laktosa. Pemilihan jenis gula dilakukan berdasarkan kandungan gula pada buah sawo manis. Menurut Tulloch *et al.*, (2019) bahwa buah sawo memiliki kandungan gula sederhana seperti glukosa, sukrosa dan fruktosa. Kandungan glukosa, fruktosa dan sukrosa ini mampu memfermentasi karbohidrat dalam pembuatan roti (Nagodawithana dan Trivedi, 1990). Uji

fermentasi karbohidrat mengalami perubahan warna media disebabkan oleh *Andrade Indicator*.

Hasil uji fermentasi karbohidrat dapat dilihat pada (Tabel 4.3, lampiran 2 dan 3) bahwa seluruh isolat khamir (Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3) mampu memfermentasi gula glukosa, sukrosa dan fruktosa yang menghasilkan warna merah muda pada media. Menurut Karki *et al.*, (2017) bahwa fermentasi karbohidrat dapat ditandai perubahan warna merah menjadi merah muda pada media serta gelembung udara dalam tabung durham. Produk akhir dari proses fermentasi karbohidrat adalah bersifat asam dan terbentuknya gas karbondioksida. Perubahan warna akibat, memproduksi asam sehingga terjadi perubahan pH. Perubahan pH asam, basa dan netral dapat diketahui menggunakan indikator pH.

**Tabel 4. 3** Kemampuan Khamir pada Uji Fermentasi Karbohidrat hari ke-7.

Isolat	Jenis Gula	Warna	Gas	pH
Yeast – 1	Glukosa	Merah Muda	+	6
Yeast – 2		Merah Muda	+	6
Yeast – 3		Merah Muda	+	5
Kontrol -		Merah	-	7
Yeast – 1	Sukrosa	Merah Muda	+	5
Yeast – 2		Merah Muda	+	6
Yeast – 3		Merah Muda	+	6
Kontrol -		Merah	-	7
Yeast – 1	Fruktosa	Merah Muda	+	6
Yeast – 2		Merah Muda	+	6
Yeast – 3		Merah Muda	+	6
Kontrol -		Merah	-	7
Yeast – 1	Laktosa	Merah	-	7
Yeast – 2		Merah	-	7
Yeast – 3		Merah	-	7
Kontrol -		Merah	-	7

**Keterangan:** + = Ada Gelembung

- = Tidak Ada Gelembung

Seluruh isolat khamir terjadi perubahan pH dalam uji gula glukosa, sukrosa dan fruktosa dalam produk akhir berupa asam asetat sehingga pH asam. Isolat khamir dalam uji gula laktosa produk akhir berupa etanol sehingga pH basa. Seluruh isolat khamir tidak dapat menghasilkan gelembung dan warna media tetap dalam fermentasi karbohidrat jenis gula laktosa. Isolat Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 mampu memfermentasi karbohidrat pada glukosa, sukrosa dan fruktosa dengan menghasilkan gas CO<sub>2</sub> yang terbentuk gelembung dalam tabung durham. Isolat khamir yang menghasilkan gelembung terbanyak pada jenis gula glukosa. Menurut Karki *et al.*, (2017) bahwa produksi gas karbondioksida adalah kriteria terpenting untuk ragi yang dapat menunjukkan aktivitas invertase tinggi. Khamir yang menghasilkan gas tertinggi dapat dipilih sebagai pengembang roti. Menurut Potter & Hotchkiss (2012) bahwa isolat khamir dalam fermentasi karbohidrat melepas CO<sub>2</sub> digunakan untuk penambahan rasa, pengembang dan pematangan adonan roti.

#### **4.3 Uji Pertumbuhan Khamir pada Medium Glucose Yeast Peptone Konsentrasi 50%**

Pengujian pertumbuhan khamir pada medium Glucose Yeast Peptone konsentrasi 50%, digunakan untuk mengetahui isolat khamir mampu tumbuh dalam konsentrasi gula tinggi sebesar 50%. Menurut Kurtzman dan Fell (1998) bahwa isolat khamir mampu tumbuh dengan baik dalam media konsentrasi 40%. Isolat khamir beberapa tidak mampu tumbuh pada media kadar gula tinggi sebesar 50% dan 60%. Khamir yang mampu tumbuh dalam kadar gula tinggi dapat digunakan sebagai kriteria pengembang roti. Berikut adalah hasil pengamatan, yang dapat dilihat pada (Tabel 4.4).

**Tabel 4.4** Hasil Uji Pertumbuhan Khamir pada Medium GYP Konsentrasi 50%

Isolat	Nilai OD dalam panjang gelombang 600 nm	
	24 jam	48 jam
Yeast-1	0,380	1,140
Yeast-2	0,350	1,095
Yeast-3	0,417	1,269
Kontrol -	0,000	0,000

Isolat khamir dalam uji pertumbuhan khamir dilakukan pada medium *Glucose Yeast Peptone* konsentrasi 50% yang diinkubasi selama 48 jam. Pertumbuhan khamir dapat dilihat menggunakan alat spektrofotometer *UV-vis* dengan panjang gelombang 600 nm. Hasil uji pertumbuhan khamir dapat dilihat dalam (Tabel 4.4) bahwa isolat Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 yang diinkubasi selama 48 jam mampu tumbuh dalam kadar gula yang tinggi 50%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat khamir yang mampu tumbuh dengan kadar gula yang tinggi berpotensi sebagai pengembang roti. Menurut Herrera *et al.*, (2009) bahwa kemampuan hidup khamir pada media dengan konsentrasi gula tinggi diuji karena hanya sedikit jenis khamir yang dapat hidup di lingkungan dengan kadar gula tinggi (20-50%). Pengujian ini menjadi salah satu indikator isolat khamir yang diaplikasikan sebagai pengembang roti yang mampu melewati uji pertumbuhan terhadap kadar glukosa dengan baik.

#### 4.4 Uji Suhu

Isolat khamir dalam uji suhu dilakukan inkubasi pada suhu yang berbeda. Hal ini, khamir yang mampu hidup pada suhu tinggi berpengaruh pada mengembangnya adonan roti dan tidak semua khamir mampu tumbuh pada suhu tinggi. Pertumbuhan sel khamir dapat dilihat nilai kerapatannya menggunakan spektrofotometer *Uv-vis* dengan panjang gelombang 600 nm.

**Tabel 4.5** Kemampuan Khamir dalam Inkubasi pada Suhu 30°C, 37°C dan 45°C

Isolat	30°C		37°C		45°C	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
Yeast-1	1,993	2,153	1,174	1,79	0,105	0,142
Yeast-2	1,954	2,271	1,819	2,382	0,132	0,182
Yeast-3	1,845	1,883	1,448	1,957	0,115	0,126
Kontrol -	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Hasil kemampuan khamir dalam uji suhu (Tabel 4.5) bahwa isolat Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 umumnya mampu hidup dalam suhu optimal 30°C, suhu sedang 37°C dan suhu tinggi 45°C. Setiap isolat khamir pada daging buah sawo toleran terhadap suhu tinggi 45°C. Hal ini menunjukkan bahwa isolat khamir daging buah sawo berpotensi sebagai pengembang roti. Khamir yang mampu hidup pada suhu tinggi dapat memproduksi gas CO<sub>2</sub> dalam adonan roti. Menurut Karki *et al.*, (2017) bahwa semua isolat mampu tumbuh pada suhu 30°C dan 37°C. Khamir yang mampu tumbuh sampai dengan suhu 45°C menunjukkan toleransi terhadap suhu yang tinggi dapat dimanfaatkan sebagai pengembang roti. Peningkatan gas karbondioksida dapat mempercepat proses pengembangan adonan roti, sehingga sifat toleran terhadap suhu tinggi kriteria sebagai pengembang roti. Menurut Maryam, *et al.*, (2017) bahwa seluruh khamir mampu tumbuh pada suhu tinggi 45°C menunjukkan khamir mampu menahan panas berlebih dalam proses fermentasi.

#### 4.5 Uji Etanol

Etanol merupakan produk akhir pada proses fermentasi dalam pengembang roti. Uji toleransi terhadap etanol dilakukan untuk mengetahui khamir mampu tumbuh dalam kadar etanol tinggi 15% sehingga dapat digunakan sebagai kriteria pengembang roti. Hasil uji etanol dapat dilihat pada (Tabel 4.6) bahwa khamir mampu tumbuh pada konsentrasi etanol yang terendah 10% sampai

dengan konsentrasi tertinggi 15%. Pertumbuhan khamir dapat dilihat dari hasil kerapatan sel khamir setelah diinkubasi 72 jam.

**Tabel 4.6** Kemampuan Khamir dalam Uji Toleransi Etanol

Isolat	10%		13%		15%	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
Yeast-1	0,191	0,910	0,819	1,464	0,976	1,691
Yeast-2	0,205	0,895	0,510	1,111	0,855	1,110
Yeast-3	0,185	0,770	0,475	1,109	0,532	1,078
Kontrol -	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Hasil kemampuan khamir dalam uji toleransi etanol menjelaskan bahwa isolat khamir pada daging buah sawo toleran terhadap konsentrasi etanol 10%, 13% dan 15%. Isolat Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 menunjukkan pertumbuhan sel khamir yang meningkat dapat dilihat dari nilai kerapatan menggunakan spektrofotometer. Hal ini menyatakan bahwa isolat khamir daging buah sawo berpotensi sebagai pengembang roti. Menurut Karki *et al.*, (2017) bahwa khamir mampu tumbuh optimal pada konsentrasi etanol 10% dan 13%. Khamir komersial yang dimanfaatkan sebagai kriteria pengembang roti mampu bertahan dengan konsentrasi etanol tinggi sebesar 15%. Kelebihan etanol mampu menghambat proses fermentasi. Menurut Asyiken *et al.*, (2013) bahwa khamir yang mampu tumbuh pada konsentrasi etanol tinggi dapat meningkatkan aroma terbaik pada roti. Menurut Maryam (2017), konsentrasi etanol mampu mempengaruhi tingkatan kualitas rasa pada roti.

#### 4.6 Uji H<sub>2</sub>S

Khamir dalam uji hidrogen sulfida dilakukan sebagai parameter pengembang roti. Hal ini, dapat ditandai ada tidaknya perubahan warna koloni pada khamir. Khamir yang menghasilkan hidrogen sulfida memiliki koloni

berwarna coklat sampai hitam, sedangkan khamir yang tidak memproduksi hidrogen sulfida koloni akan berwarna putih. Khamir yang memproduksi hidrogen sulfida dapat mempengaruhi kualitas roti.

**Tabel 4.7** Kemampuan Khamir dalam Menghasilkan H<sub>2</sub>S

Isolat	Hasil H <sub>2</sub> S	Warna
Yeast-1	-	Putih
Yeast-2	-	Putih
Yeast-3	+	Putih kecoklatan
Kontrol – (Media <i>Lead Acetate</i> )	(-)	(-)

Keterangan: + = Sedikit menghasilkan H<sub>2</sub>S  
 - = Tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S  
 (-) = Tidak ada pertumbuhan khamir

Hasil kemampuan khamir dalam uji hidrogen sulfida dapat dilihat dalam (Tabel 4.7) bahwa isolat Yeast-1 dan Yeast-2 tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S dengan koloni berwarna putih. Sedangkan isolat Yeast-3 menghasilkan H<sub>2</sub>S dalam jumlah sedikit dan koloni berwarna putih kecoklatan (lampiran 4). Menurut Karki *et al.*, (2017) bahwa khamir yang memproduksi hidrogen sulfida memiliki koloni berwarna coklat sampai hitam tergantung intensitas hidrogen sulfida yang dihasilkan, sedangkan khamir yang tidak memproduksi hidrogen sulfida memiliki koloni berwarna putih. Senyawa H<sub>2</sub>S dalam jumlah besar tidak diinginkan, karena menyebabkan rasa dan bau yang mengganggu pada kualitas roti. Menurut Florin *et al.*, (1993) bahwa kriteria H<sub>2</sub>S dalam jumlah tinggi yang diterima pada pengembang roti sekitar > 1 mg/g atau 10 µ mol/g. Menurut Maryam, *et al.*, (2017) bahwa khamir yang tidak menghasilkan hidrogen sulfida dapat direkomendasikan sebagai isolat terbaik dalam pembuatan roti.

#### 4.7 Uji Flokulasi

**Tabel 4. 8** Khamir Endofit Menghasilkan Flokulan

Isolat	Hasil
Yeast – 1	+
Yeast – 2	+
Yeast – 3	+
Kontrol -	-

**Keterangan:** + = Menghasilkan Flokulan

- = Tidak menghasilkan flokulan

Kemampuan khamir dalam terbentuknya flokulan sebagai kriteria terpenting dalam ragi sebagai pengembang roti. Hasil yang dapat dilihat ada tidaknya endapan pada media. Khamir akan membentuk endapan di bawah pada hasil akhir fermentasi. Isolat khamir Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3 dari daging buah sawo mampu membentuk flokulan (lampiran 5). Terbentuknya flokulan digunakan sebagai ragi yang akan dimasukkan dalam adonan roti. Hal ini, seluruh isolat khamir yang mampu membentuk flokulan berpotensi sebagai pengembang adonan roti. Menurut Karki *et al.*, (2017) bahwa hasil endapan pada khamir dapat digunakan untuk produksi ragi komersial untuk pengembang roti tanpa adanya proses filtrasi dan sentrifugasi karena lebih mudah untuk dipisahkan dari media.

#### 4.8 Uji Kemampuan Khamir sebagai Pengembang Roti

Khamir yang didapatkan dari hasil isolasi dan identifikasi, berpotensi sebagai pengembang roti yaitu Yeast-1, Yeast-2 dan Yeast-3. Uji potensi kemampuan isolat khamir dilakukan dengan mengaktifkan pellet khamir menggunakan gula dan air hangat sebelum dicampurkan dalam masing–masing adonan roti untuk mengaktifkan sel–sel khamir (Lampiran 6). Menurut Okafor (2007) bahwa gula mampu memberikan nutrisi karbon pada khamir.

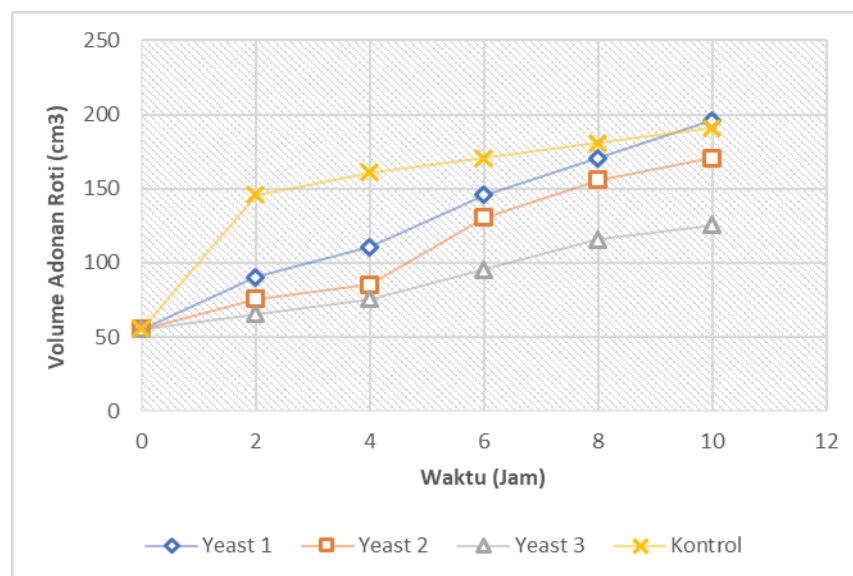
Pellet khamir diaktivasi membutuhkan waktu 1 jam dan kontrol positif yang menggunakan ragi fermipan lebih cepat mengembang selama 15 menit yang



diinkubasi dalam suhu 30°C (Karki *et al.*, 2017). Proses pengembangan adonan roti ditambahkan pellet yang telah aktif lalu dicampurkan dalam masing–masing adonan yang berisi tepung, gula, dan garam. Menurut Okafor (2007) bahwa penambahan garam dalam proses pembuatan roti digunakan untuk pengontrol proses fermentasi dari khamir dan menambahkan rasa gurih pada roti.

Pembuatan roti menambahkan khamir dalam tepung yang mengandung gluten mampu memberikan tekstur elastis pada roti. Menurut Komatsuzaki (2016) bahwa khamir mempengaruhi gluten dengan mengoksidasi disulfida dan protein untuk menghasilkan rasa dan tekstur pada roti. Komponen roti terdapat karbohidrat dalam tepung yang mampu mempengaruhi volume adonan pada roti.

Kontrol positif lebih cepat mengembang membutuhkan waktu sekitar 30 menit karena fermipan mengandung emulsi yang dapat mengembangkan atau menambah volume adonan roti. Menurut Mortensen *et al.*, (2017) bahwa emulsi sorbitan monostearate digunakan untuk produksi makanan dan kesehatan. Produksi makanan dalam proses pembuatan roti emulsi sorbitan monostearate berpengaruh dalam tekstur dan volume roti menjadi semakin mengembang.



**Gambar 4.7** Volume Adonan Roti

Hasil pengembangan adonan roti yang telah diinkubasi selama 12 jam dalam (Gambar 4.7) bahwa isolat khamir memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam meningkatnya volume adonan. Khamir Yeast-2 mampu menghasilkan volume adonan roti yang sama dengan ragi komersial menggunakan fermipan (kontrol positif) sebesar  $200,96 \text{ cm}^3$ . Isolat khamir Yeast-1 menghasilkan volume adonan roti paling tinggi sebesar  $236,128 \text{ cm}^3$  dan isolat Yeast-3 menghasilkan volume adonan roti paling rendah sebesar  $160,768 \text{ cm}^3$ .

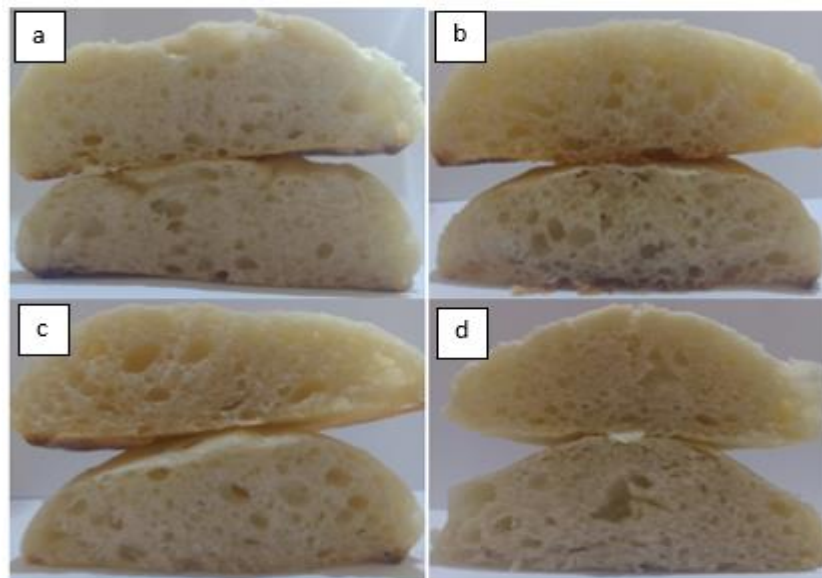
Selama proses pengembangan adonan oleh khamir, terdapat faktor-faktor penting yang harus terpenuhi. Menurut Struyf *et al.*, (2017), tiga faktor penting proses pengembangan adonan roti yaitu faktor dalam yang merupakan faktor terpenting dalam mengembangnya adonan, karena akan digunakan oleh khamir sebagai substrat. Kedua adalah faktor luar yang merupakan komponen yang dihasilkan oleh khamir selama proses fermentasi. Ketiga adalah faktor eksternal yang merupakan kondisi yang diperlukan khamir selama proses fermentasi.

Seluruh isolat khamir Yeast-1, Yeast-2, Yeast-3 dan kontrol positif mampu mengembang dalam adonan. Pengembangan adonan dalam proses fermentasi dapat diketahui dengan meningkatnya volume adonan roti. Menurut Ali *et al.*, (2012) bahwa volume roti akan menambah jika adonan roti dapat menyediakan lingkungan yang sesuai dengan pertumbuhan khamir. Menurut Shabrina (2017) bahwa khamir dalam proses pengembangan adonan memanfaatkan gula dari tepung yang menghasilkan karbondioksida dan etil alkohol. Gas karbondioksida tertahan oleh gluten sehingga adonan mengembang.

Volume peningkatan adonan setiap isolat memiliki kemampuan masing-masing dalam meningkatkan volume adonan, perbedaan terlihat dalam isolat

khamir Yeast-1, Yeast-2, Yeast-3 dengan kontrol positif. Menurut Carbonetto *et al.*, (2018) menyatakan bahwa selama proses fermentasi berlangsung, sel khamir akan melakukan pembelahan dan memanfaatkan protein gluten dari tepung kemudian menghasilkan rongga akibat adanya karbondioksida yang terbentuk dari pemecahan karbohidrat dari substrat tempat hidup khamir. Rongga udara yang terbentuk dari proses fermentasi, adonan roti mengalami penambahan volume udara sehingga adonan menunjukkan adanya pengembangan.

Hasil adonan roti selama 2 jam bahwa keempat adonan-adonan roti dengan tiga isolat khamir yang berbeda dan ragi fermipan dalam proses pengembangan dilakukan pemanggangan pada oven selama 20 menit dengan suhu 180°C agar adonan dapat mengembang sehingga terbentuk pori-pori dan tekstur dalam roti. Masing-masing adonan roti yang telah matang diamati berdasarkan karakteristik roti. Karakteristik yang diamati berdasarkan warna, tekstur, aroma, dan volume roti.



**Gambar 4.8** Roti Setelah di Panggang a) Khamir Yeast-1 b) Khamir Yeast-2  
c) Khamir Yeast-3 d) Khamir Kontrol Positif (Fermipan)

**Tabel 4.9** Karakter Roti Dari 3 Isolat dan Kontrol Positif

Isolat	Aroma	Volume Roti	Tekstur	Warna Roti
Yeast – 1	+++	+++	Lembut berongga	Kuning krem
Yeast – 2	++	++	Lembut berongga	Kuning krem
Yeast – 3	+++	++	Lembut berongga	Kuning krem
Kontrol Positif	++	+++	Lembut berongga	Kuning krem

**Keterangan:** + = Sedikit ++ = sedang +++ = lebih

Berdasarkan (Gambar 4.8 dan Tabel 4.9) bahwa volume roti yang lebih mengembang dapat dilihat pada isolat Yeast-1 hampir mirip dengan kontrol positif daripada Yeast-2 dan Yeast-3 yang dapat diketahui dari penambahan volume roti. Selain itu, khas aroma roti lebih banyak pada isolat Yeast – 1 dan Yeast – 3 daripada kontrol positif. Aroma roti kontrol positif mirip dengan isolat Yeast – 2. Menurut Birch *et al.*, (2013) bahwa pembentukan aroma dalam proses fermentasi adonan roti dipengaruhi senyawa 3-metil butanal, 2,3 – butanedion, 3 – metil – 1 – butanol dan fenil asetaldehid. Penambahan volume dan aroma roti disebabkan oleh etanol dan CO<sub>2</sub>. Menurut Olowonibi (2017) bahwa khamir menghasilkan etanol dan karbondioksida selama proses fermentasi yang mempengaruhi aroma roti. CO<sub>2</sub> yang dihasilkan juga mempengaruhi volume roti, semakin banyak CO<sub>2</sub> yang dihasilkan maka roti semakin mengembang. Karbondioksida yang tertahan oleh kandungan gluten dari tepung terigu menghasilkan adonan roti yang mampu mengembang, sehingga terdapat rongga atau pori – pori dalam roti.

Tekstur roti seluruh isolat khamir lembut seperti spons dengan adanya pori – pori (lubang-lubang) roti disebabkan adanya CO<sub>2</sub> yang terperangkap dalam

adonan roti. Menurut Fransiska dkk., (2021) bahwa roti mampu menghasilkan pori-pori roti dengan menahan gas yang dihasilkan oleh khamir selama proses fermentasi. Sebagaimana pernyataan menurut Yousif dan safaa, (2014) bahwa ragi memakan pati, membentuk gula, alkohol dan karbondioksida saat dimasukkan ke dalam adonan. Gelembung-gelembung CO<sub>2</sub> menyebabkan adonan mengembang, biasanya dua kali lipat volume aslinya.

Fleury Rey *et al.*, (2002) mengatakan bahwa meningkatnya volume adonan, nilai tambah rasa dan tekstur roti karena terbentuknya CO<sub>2</sub> hasil dari proses fermentasi karbohidrat. Tekstur lembut pada roti disebabkan oleh gluten sebagaimana pernyataan Wang *et al.*, (2007) glutein dan gliadin yang terdapat dalam tepung terigu akan mengalami perubahan menjadi gluten apabila dicampurkan dengan air. Gluten inilah yang akan membentuk struktur pori-pori dan menjadikan tekstur produk roti tidak keras dan memiliki tekstur yang lembut.

Seluruh warna permukaan roti isolat Yeast-1, Yeast-2, Yeast-3 dan kontrol positif yaitu permukaan berwarna kuning krem pada roti disebabkan oleh reaksi pencoklatan non enzimatis yang terjadi antara gugus gula dengan gugus amino. Menurut Darmajana dkk., (2019) bahwa reaksi pencoklatan terjadi antara reaksi hidroksilase monofenol menjadi kuinon dan difenol dan senyawa melaniodin mampu memberi warna coklat. Selain itu, pemanggangan roti juga berpengaruh pada warna roti adanya gugus amino dengan gugus gula.

#### **4.9 Penelitian Khamir dari Buah Sawo sebagai Pengembang Roti dalam Islam**

Penelitian khamir diisolasi dari buah sawo. Hal ini disebabkan khamir pada buah diketahui 2,5 kali lebih banyak jika dibandingkan pada bunga. Sebagaimana Firman Allah dalam Surah Al-Baqarah ayat 29 sebagai berikut:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ ۗ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya: “Dialah (Allah) yang menciptakan segala apa yang ada di bumi untukmu, kemudian Dia menuju ke langit, lalu Dia menyempurnakannya menjadi tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu.”

Menurut Shihab (2002), pada tafsir Al-Misbah dalam kata *huwallazii kholaqa lakum maa fil-ardhi jamii'an* menjelaskan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu untuk manusia. Manusia yang berada di bumi diperintahkan agar berusaha dengan segala kemampuan dan kesanggupannya, untuk menggali manfaat isi alam, mengambil manfaat di alam semesta ini, di bumi, di lautan dan di udara seperti barang tambang yang ada di perut bumi sehingga digali manfaatnya semaksimal mungkin untuk seluruh manusia. Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi termasuk bermanfaatnya buah-buahan untuk manusia dengan pemanfaatan daging buah sawo manila yang diisolasi kemudian diambil khamirnya sebagai pengembangan adonan roti termasuk dalam *muamalah ma'a An-Nas*. Menurut Kementerian Agama RI (2010) dalam Al Qur'an dan tafsirnya menjelaskan kata *huwallazii kholaqa lakum maa fil-ardhi jamii'an* bahwa Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi untuk manusia, maka manusia harus bersyukur atas nikmat Allah dengan mengambil manfaat dan mempelajari ilmu sesuai perintah Allah untuk kemaslahatan manusia yang terkait dengan beranekaragamnya khamir dari buah sawo manila yang berpotensi sebagai pengembangan adonan roti termasuk dalam *muamalah ma'a Allah*. Sebagaimana Firman Allah di Surah Hud pada ayat 6 sebagai berikut:

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

Artinya: “Dan tidak ada suatu binatang melata pun di bumi melainkan Allah-lah yang memberi rezekinya, dan Dia mengetahui tempat berdiam binatang itu dan tempat penyimpanannya. Semuanya tertulis dalam Kitab yang nyata (*Lauh mahfuzh*).”

Surah Hud ayat 6 di atas dapat diketahui dalam kata *ya'lamu mustaqorrohaa wa mustauda'ahaa* bahwa Allah mengetahui tempat berdiam binatang yang hidup di bumi. Allah telah mengatur segala makhluk yang ada di bumi. Makhluk selain binatang, sesuatu yang kecil seperti mikroorganisme salah satunya khamir mempunyai tempat hidup pada substrat buah. Hal ini, khamir memerlukan nutrisi sebagai pertumbuhan khamir agar mampu hidup. Menurut Kementerian Agama RI (2010) dalam Al Qur'an dan tafsirnya menjelaskan kata *kullun fii kitaabim mubiin* bahwa Allah telah mencatat dan mengatur segalanya dalam kitab *Lauhul mahfudz*, yang berisi semua perencanaan dan pelaksanaan dari seluruh ciptaan Allah secara menyeluruh dan sempurna.

Allah telah mengetahui tempat tinggal dan persembunyian makhluk di muka bumi. Selain itu, makhluk yang hidup telah dijamin rezekinya oleh Allah SWT termasuk khamir yang dapat dijadikan bahan penelitian. Hal ini, terkait dalam Firman Allah di Surah Taha pada ayat 53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَخَرَّتْ بِهِ أَشْجَارًا مِّنْ تَحْتِهَا يَأْكُلُونَ  
تَبَاتِ شَتَّى

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit. Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan.”

Menurut Al-Qurthubi (2009) dalam tafsirnya menjelaskan kata *azwaajam min nabatin syattaa* bahwa Allah yang menguasai pencatatan yang ada di muka bumi. Segala hal yang terjadi sesuai kehendak Allah di bumi ini sebagai hamparan bagi manusia yang terbentang luas untuk digunakan sebagai tempat tinggal,

bangun, tidur dan bepergian bebas kemana saja. Selain itu, Allah telah menciptakan tumbuh-tumbuhan dengan berbagai macam cita rasa, jenis dan manfaat sesuai kebutuhan yang berbeda-beda seperti halnya manusia yang hidup di muka bumi sebagai makhluk sosial, dimana manusia berinteraksi dengan manusia lainnya untuk memenuhi kebutuhan jasmani agar dapat menjalankan kehidupan. Kebutuhan tersebut dapat terpenuhi dengan memanfaatkan khamir yang dapat diaplikasikan dalam pembuatan roti untuk kelangsungan bertahan hidup termasuk *muamalah ma'a An-Nas*. Sebagaimana Firman Allah dalam Surah Al-Baqarah ayat 26-27 sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۗ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۗ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ (٢٦) الَّذِينَ يَنْقُضُونَ عَهْدَ اللَّهِ مِنْ بَعْدِ مِيثَاقِهِ وَيَقْطَعُونَ مِمَّا آمَرَ اللَّهُ بِهِ أَنْ يُوصَلَ وَيُفْسِدُونَ فِي الْأَرْضِ ۗ أُولَٰئِكَ هُمُ الْخَاسِرُونَ (٢٧)

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.*” (26) “*(Yaitu) orang-orang yang melanggar perjanjian Allah sesudah perjanjian itu teguh, dan memutuskan apa yang diperintahkan Allah (kepada mereka) untuk menghubungkannya dan membuat kerusakan di muka bumi. Mereka itulah orang-orang yang rugi.*” (27)

Surah Al- Baqarah ayat 26 menurut Shihab (2002), pada tafsir Al-Misbah dalam kata *masalam maa ba'uudhatan fa maa fauqohaa* menjelaskan bahwa perumpamaan ini juga dapat dikatakan sesuatu hal yang kecil seperti pada hewan nyamuk atau yang berukuran lebih kecil dari hewan tersebut, diibaratkan seperti mikroorganisme berukuran kecil. Manusia tidak boleh meremehkan, bahkan



berbuat kerusakan alam meskipun mikroorganisme terkecil seperti khamir yang bermanfaat bagi kehidupan manusia. Ayat 27 dalam tafsir jalalain (2010) dalam kata *yufsiduuna fil-ardh, ulaaa'ika humul khoosiruun* bahwa orang yang berbuat kerusakan di muka bumi ialah orang yang melakukan maksiat dan menyimpang dalam keimanannya. Manusia memiliki akal untuk berfikir dan orang yang menyimpang dalam keimanan akan merugi sehingga manusia harus mengingat tanda-tanda kebesaran Allah dengan beriman, menjaga dan melestarikan alam seperti mikroorganisme khamir dari buah sawo dapat diisolasi sehingga manusia tidak merusak alam di muka bumi termasuk *muamalah ma'a alam*.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Karakter morfologi diperoleh ketiga isolat khamir yang berhasil diisolasi dari daging buah sawo, dimana keseluruhan isolat khamir memiliki kemiripan dengan kelas *Ascomycetes* subkelas *Hemiascomycetes* dapat dilihat berdasarkan reproduksi aseksual menggunakan pertunasan (*budding*).
2. Seluruh isolat khamir berpotensi sebagai pengembang roti dengan meningkatnya volume dari adonan roti. Isolat khamir Yeast-1 dari daging buah sawo memiliki kemampuan paling baik dalam mengembangkan adonan daripada kontrol positif yang menggunakan fermentasi.

#### **5.2 Saran**

Saran pada penelitian ini sebaiknya identifikasi khamir dilakukan secara molekuler agar dapat diketahui spesies khamir dan dilakukan uji patogenitas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfenore, S., Cameleyre, X., Benbadis, L., Bideaux, C., Uribelarrea, J.-L., Goma, G., Molina-Jouve, C., & Guillouet, S. E. (2004). Aeration strategy: a need for very high ethanol performance in *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(5), 537–542.
- Ali, A., Shehzad, A., Khan, M., Shabbir, M., & Amjid, M. (2012). Yeast, its types and role in fermentation during bread making process-A. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 22(3), 171–179.
- Ali, M. N., dan Khan M. M.(2014). Screening, Identification and Characterization of Alcohol Tolerant Potential Bioethanol Producing Yeasts. *Current Research In Microbiology and Biotechnology*.2(1), 316-324.
- Al-Mahalli, Jalaludin, dan As-Suyuthi Jalaludin. (2010). Tafsir Jalalain. Surabaya: Pustaka Elba.
- Al-Qurthubi, Abu Abdillah Muhammad bin Ahmad. (2009). *Tafsir Al-Qurthubi*. Pustaka Azam. Jakarta.
- Amr, A. S. & Alkhamaiseh, A. M. (2022). Sourdough use in Bread Production: Review. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 18(2), 1-18.
- Andaka, G., dan Sentani, A. (2016). " Pengambilan Minyak Kelapa dengan Metode Fermentasi menggunakan Ragi Roti." *Jurnal Teknik Kimia*, 10(2), 65-70.
- Ashliha, I. N., dan Alami, N. H. (2014). Karakterisasi Khamir dari Pulau Poteran Madura. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*,3(2), 2337-3520.
- Asyikeen, Z. N., Ma'aruf, A. G., Sahilah, A. M., Mohd Khan, A., & Wan Aida, W. M. (2013). A new source of *Saccharomyces cerevisiae* as a leavening agent in bread making. *International Food Research Journal*, 20(2), 967–973.
- Atlas, R. M. (2005). *Media for Environmental Microbiology Second Edition*. Boca Ranton. CRC Press.
- Barnett, J. A. (1975). The entry of D-ribose into some yeasts of the genus *Pichia*. *Journal of General Microbiology*, 90(1), 1–12.
- Barr, M. E. (2001). *Ascomycota. In Systematic and Evolution*. Springer. Berlin. Heidelberg.
- Birch, A. N., van den Berg, F. W. J., & Hansen , A. S. (2013). Expansion Profiles of Wheat Doughs Fermented by Seven Commercial Baker's Yeasts. *Journal of Cereal Science*, 58, 318-323.
- Boekhout, T., & Phaff, H. J. (2003). *Yeast biodiversity*. Dalam: Boekhout, T., & V. Robert (eds.). 2003. In *Yeasts in Food: Beneficial and detrimental aspects*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge.

- Burrows, S. (1970). Baker's Yeast. *In the Yeasts in Rose*, edited by A. H. & Harrison J. S. p, 349-420. London: Academic Press, Inc.
- Carbonetto, B., Ramsayer, J., Nidelet, T., Legrand, J., Sicard, D. (2018). Bakery Yeast a New Model for Studies in Ecology and Evolution. *Yeast*, 1-13.
- Carlile, M. J., Watkinson, S. C., and Gooday, G. W. (2001). *The Fungi*. Gulf Professional Publishing.
- Cauvain, S. P. and Young, L. S. (2007). *Technology of Breadmaking*. Springer Science.
- Cho, I. H., & Peterson, D. G. (2010). Chemistry of bread aroma: A review. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 575–582.
- Choudhary, D. K., & Johri, B. N. (2009). Interactions of Bacillus spp. and Plants with Special Reference to Induced Systemic Resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164(5), 493-513.
- Darmajana, D. A., Wulandari, N., Kumalasari, R., dan Irwansyah, A. C. (2019). Pengaruh Perbandingan Tepung Rebung (*Dendrocalamus asper*) dan Tepung Terigu terhadap Karakteristik Kimia dan Karakteristik Sensori Cookies. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 16(1), 25-30.
- De Bece, G. I. (1956). Yeast: I. Morphology. *Applied Microbiology*, 4(1), 1–12.
- Dufour, J. P., Verstrepen, K., Derdelinckx, G., Boekhout, T., and Robert, V. (2003). *Yeasts in Food: Beneficial and Detrimental Aspects*. Boca Raton: CRC Press.
- Eden, Y., dan Rahayu, S. T. (2019). Produk Bioetanol Daging Buah Sawo (*Manilkara zapota* L.) secara Fermentasi Batch dengan *Saccharomyces cerevisiae*. *Forum Ilmiah*, 16(2), 189-193.
- El-Helow, E. R., Elbahloul, Y., El-Sharouny, E. E., Ali, S. R., and Ali, A. A. (2015). Economic Production of Baker's Yeast Using a New *Saccharomyces cerevisiae* Isolate. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(4), 1-9.
- El-Nemr, T. M. (2001). Immobilization of recombinant strains of *Saccharomyces cerevisiae* for the hydrolysis of laktosa in salted Domiati cheese whey. *European Food Research and Technology*, 212(2), 225–227.
- Engineering, B. (2015). *Preparation of Culture Media, Agar Plates, Antibiotics and General Necessities*. Netherlands: Endhoven University of Technology.
- Evans, I. H. (1990). Yeast Strain for Baking. In: Spencer JTF and Heidelberg. *Yeast Tecnology*. Springer Verlag.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Fell, J. W., Boekhout, T., Fonseca, A., Scorzetti, G., dan Statzell Tallman, A. 2000. Biodiversity and Systematics and Basidiomycetes Yeasts As Determined by Large-Subunit Rdna d1/d2 Domain Sequence Analysis.

- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50 (3), 1351-1371.
- Fitriani, L. dan Krisnawati, Y. (2021). *Jenis dan Potensi Jamur Makroskopis di Kota Lubuklinggau*. Malang: Ahlimedia Press.
- Fleury Rey, Y., Bel-Rhlid, R., & Juillerat, M. A. (2002). Biogeneration of 2-(1-hydroxyethyl)-4,5-dihydrothiazole as precursor of roasted and popcorn-like aroma for bakery products. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19–20, 473–477.
- Florin, T. H., Neale, G., Goretski, S., & Cummings, J. H. (1993). The Sulfate Content of Foods and Beverages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 6(2), 140-151.
- Fransiska, D., Marniza, dan Silsia, D. (2021). Karakteristik Fisik, Organoleptik dan Kadar Serat Roti Manis dengan Penambahan Tepung Rebung (*Dendrocalamus asper*) (Physical, Organoleptic and Food Fiber Characteristics of Sweet Bread with Addition of Bamboo Flour (*Dendrocalamus asper*)). *Jurnal Agroindustri*, 11(2), 108-119.
- Gélinas, P. (2012). In search of perfect growth media for Baker's yeast production: Mapping patents. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(1), 13–33.
- Glushakova, A. M., & Kachalkin, A. V. (2017). Endophytic Yeasts in *Malus domestica* and *Pyrus communis* fruits under anthropogenic impact. *Microbiology*, 86(1), 128-135.
- Hamamoto, M., & Nakase, T. (2000). Phylogenetic relationships among fungi inferred from small subunit ribosomal RNA gene sequences. *In In Applied Microbial Systematics*.
- Harley, J. P., & Prescott, L. M. (2002). Laboratory Exercise in Microbiology. 5th edition. *In McGraw-Hill Education*.
- Harto, Y., Rosalina, Y., dan Susanti, L. (2016). Karakteristik Fisik, Kimia, dan Organoleptik Selai Sawo (*Achras zapota* L.) dengan Penambahan Pektin dan Sukrosa. *Jurnal Agro Industri*, 6(2), 88-100.
- Herrera, C. M., De Vega, C., Canto, A., & Pozo, M. I. (2009). Yeasts in floral nectar: A quantitative survey. *Annals of Botany*, 103(9), 1415–1423.
- Jadhav, S. S., Swami, S. B., and Pujari KH. (2018). Study The Physico-Chemical Properties of Sapota (*Achras sapota* L.). *Trends in Technical & Scientific Research*, 3(1), 23-29.
- Janisiewicz, W. J., Kurtzman, C. P., & Buyer, J. S. (2010). Yeasts Associated with Nectarines and Their Potential for Biological Control of Brown Rot. *Yeast*, 27, 389-398.
- Karki, T. B., Timilsina, P. M., Yadav, A., Pandey, G. R., Joshi, Y., Bhujel, S., Adhikari, R., & Neupane, K. (2017). Selection and Characterization of

- Potential Baker's Yeast from Indigenous Resources of Nepal. *Biotechnology Research International*, 2017, 1–10.
- Katsir, I. (2004). *Tafsir Ibnu Katsir*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Kementerian Agama RI. (2010). *Al-Qur'an dan Tafsirnya Jilid IV*. Jakarta: Lentera Abadi.
- Komatsuzaki, N. (2016). Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* Isolated from fruits and Humus: Their Suitability for Bread Making. *Progress in Biological Sciences*, 6(1), 55-63.
- Kurtzman, C. P., & Fell, J. W. (1998). *The Yeast A Taxonomic Study*. New York: Elsevier.
- Kurtzman, C. P., & Fell, J. W. (2011). *The Yeast A Taxonomic Study. Biodiversity and Ecophysiology of Yeast*. Springer-verlag, Berlin.
- Kurtzman, C. P., & Piškur, J. (2006). Taxonomy and phylogenetic diversity among the yeasts. *Topics in Current Genetics*, 15(January), 29–46.
- Kurtzman, C. P., & Sugiyama, J. (2001). Ascomycetous Yeasts and Yeastlike Taxa. In *Systematics and Evolution*. Springer Berlin Heidelberg.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikrobial di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Ma'aruf, A. G., Asyikeen, Z. N., Sahilah, A. M., & Khan, A. M. (2011). Leavening ability of yeast isolated from different local fruits in bakery product. *Sains Malaysiana*, 40(12), 1413–1419.
- Martiningsih, E. (2007). *Pemanfaatan Kulit Pisang Raja (Musa paradisiaca L. Var Sapientum) Sebagai Substrat Fermentasi Etanol Menggunakan Saccharomyces cerevisiae*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Dissertation.
- Maryam, B. M., Mohammed S. S. D., dan Ayodeji, O. A. (2017). Screening of Fermentative Potency of Yeast Isolates from Indigenous Sources for Dough Leavening. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2(1), 12-17.
- Mickelbert, M. V. (1996). *Sapodilla: A Potential Crop for Subtropical Climates*. USA: ASHS Press.
- Mohmod, A. L., Khoo, K. And Ali, N. A. M. (1992). Carbohydrates in Some Natural Stand Bamboos. *Journal of Tropical Forest Science*, 4(4), 310-316.
- Montes de Oca, R., Salem, A. Z. M., Kholif, A. E., Monroy, H., Perez, L. S., Zamora, J. L., & Gutiérrez, A. (2016). Yeast: Description and Structure. *Pub. Bio. Med. Central Research*, 4–11.
- Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Domenico, A. D., Dusemund, B., Frutos, M. J., Galtier, P., Gott, D., Gundert-Remy, U., Lesblanc, J. C., Lindtner,

- O., Moldeus, P., Mosesso, P., Parent-Massin, D., Oskarsson, A., Stankovic, I., Waalkens-Berendsen, I., Woutersen, R. A., Wright, M., Younes, M., Boon, P., Chrysafidis, D., Gurtler, R., Tobback, P., Altieri, A., Rincon, A. M., and Lambre, C. 2017. Re-evaluation of Sorbitan Monostearate (E 491), Sorbitan Tristearate (E 492), Sorbitan Monolaurate (493), Sorbitan Monooleate (E 494) and Sorbitan Monopalmitate (495) When Used as Food Additives. *EFSA Journal*, 1-56.
- Nagai, T., Kai, N., Tanoue, Y., & Suzuki, N. (2018). Characteristics of Rice Flour Breads Using Yeast Isolated from Pear Red Bartlett Fruits. *Journal of Agricultural Science*, 10(3), 16-29.
- Nagodawithana, T. W. & Trivedi, N. (1990). Yeast Selection for Baking , in *Yeast Strain Selection* (ed. C. J. Panchal), Marcel Dekker, New York.
- Nasir, A., Rahman, S. S., Hossain, M. M., & Choudhury, N. (2017). Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* from pineapple and orange and study of metal's effectiveness on ethanol production. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 7(1). 76–91.
- Nurwahyu, B. (2009). Model Matematika Fermentasi Alkohol dari Buah Anggur. *Jurnal Matematika, Statistika, L Komputasi*, 6(1), 49-58.
- Octaviani, M., dan Syafrina. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Kulit Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L.) Van Royen). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 131-136.
- Okafor, N. (2007). *Modern Industrial Microbiology and Biotechnology*. CRC Press.
- Okwulehie, I. C., & Alfred, N. K. 2010. Fungi Associated with Deterioration of Sour-Sop (*Anona muricata* Linn.) Fruits in Abia State, Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 4(3), 143-146.
- Olowonibi, O. O.(2017). Isolation and Characterization of Palm Wine Strains of *Saccharomyces cerevisiae* Potentially Useful as Bakery Yeasts. *European Journal of Experimental Biology*, 7(2).
- Ono, B. I., Ishii, N., Fujino, S., & Aoyama, I. (1991). Role of hydrosulfide ions (HS-) in methylmercury resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(11), 3183–3186.
- Pelczar, M. J., and Chan, E.C.S., (1998). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press.
- Pelczar, M. J., Chan, E.C.S., and Krieg N. R. (2008). *Microbiology Fifth Edition*. New Delhi: Mc Graw-Hill Publishing company Limited.
- Periadnadi, Sari, D. K., dan Nurmiati. (2018). Isolasi dan Keberadaan Khamir Potensial Pemfermentasi Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr.) dari Dataran Rendah dan Dataran Tinggi di Sumatera Barat. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 4(1), 29-36.

- Potter, N. N., and Hotchkiss, J. H. (2012). *Food Science*. Springer Science & Business Media.
- Prihartini, M. dan Ilmi, M. (2018). Karakterisasi dan Klasifikasi Numerik Khamir Madu Hutan dari Sulawesi Tengah (Characterization and Numerical Classification of Yeasts Isolated from Wild Honey in Central Sulawesi). *Jurnal Mikologi Indonesia*, 2(2), 112-128.
- Puspita, D., Nadia, E., Immanuela, E., Titania, MC. (2020). Isolasi, Identifikasi, dan Uji Produksi Yeast yang Diisolasi dari Nira Kelapa. *BIOSFER, J. Bio & Pend. Bio*, 5(1), 1-5.
- Querol, A., dan Fleet, G. H. (2006). *Yeast and Food Beverages*. Germany: Springer Verlag Heidelberg.
- Ramírez-Castrillón, M., Usman, L. M., Silva-Bedoya, L. M., & Osorio-Cadavid, E. (2019). Dominant yeasts associated to mango (*Mangifera Indica*) and rose apple (*syzygium malaccense*) fruit pulps investigated by culture-based methods. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 91(4), 1–13.
- Ranjitha, K., Narayana. C. K., Roy, T. K., and John, A. P. (2015). Production, Quality and Aroma Analysis of Sapodilla (*Manilkara achras* (Mill) Fosb.) Wine. *Journal of Applied Horticulture*, 17(2), 145-150.
- Satyanarayana, T., & Kunze, G. (2009). Yeast biotechnology: Diversity and applications. *In Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*.
- Schulz, B., & Boyle, C. (2005). The Endophytic Continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661-686.
- Shabrina, N. (2017). Pengaruh Substitusi Tepung Terigu dengan Tepung Kacang Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L) dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Roti Tawar. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689-1699.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah*. Lentera Hati. Jakarta.
- Silva, A. P. F. B., Nascimento, J. R. O. D., Lajolo, F. M., and Cordenunsi, B. R. (2008). Starch Mobilization and Sucrose Accumulation In The Pulp of Keitt Mangoes During Postharvest Ripening. *Journal of Food Biochemistry*, 32, 384-395.
- Simbolon, N. C., Wijaya, I. M. M., dan Gunam, I. B. W. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Khamir Potensial Penghasil Bioetanol dari Industri Arak di Karangasem Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 6(4), 316-326.
- Soares, E. V. (2011). Flocculation in *Saccharomyces cerevisiae*: a Review. *Journal of Applied Microbiology*, 110(1), 1-18.
- Struyf, N., Van der Maelen, E., Hemdane, S., Verspreet, J., Verstrepen, K. J., & Courtin, C. M. (2017). Bread Dough and Baker's Yeast: An Uplifting Synergy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 850-867.

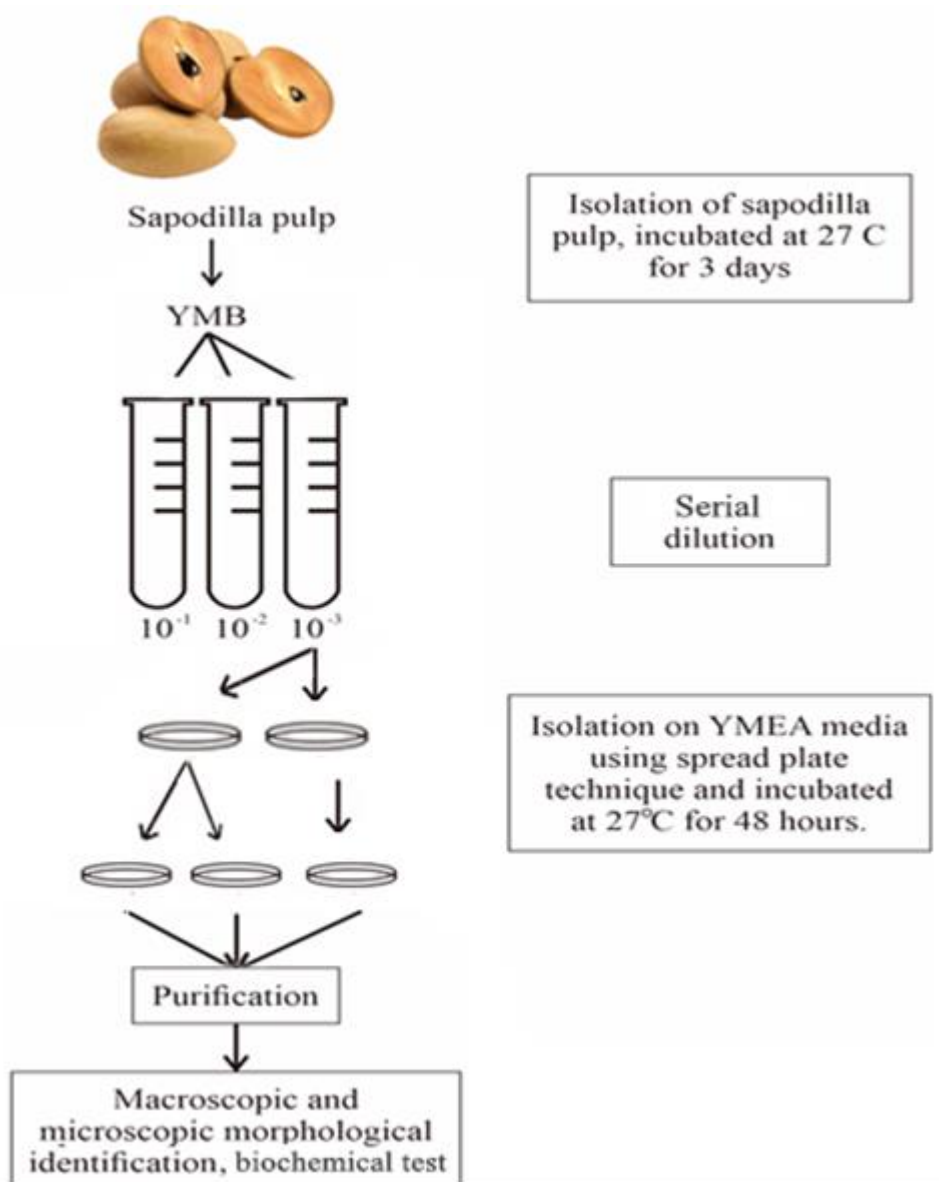


- Sumerta, I. N., dan Kanti, A. (2016). Keanekaragaman Khamir yang Diisolasi dari Sumber Daya Alam Pulau Enggano, Bengkulu dan Potensinya Sebagai Pendegradasi Selulosa (Diversity of Yeasts Isolated from Natural Resources of Enggano Island, Bengkulu and its Cellulolytic Potency). *Berita Biologi*, 15(3), 247-255.
- Sunarmi. (2014). Melestarikan Keanekaragaman Hayati melalui Pembelajaran di Luar Kelas dan Tugas yang Menantang. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 6(1), 38-49.
- Suryaningsih, V., Ferniah, R. S., dan Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik Morfologi, Biokimia, dan Molekuler Isolat Khamir Ik-2 Hasil Isolasi dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Biologi*, 7(1), 18-25.
- Tewal, F., Kemer, K., Rimper, J. R. T. S. L., Mantiri, D. M. H., Pelle, W. E., dan Mudeng, J. D. (2021). Laju Pertumbuhan dan Kepadatan Mikroalga *Dunaliella* sp. pada Pemberian Timbal Asetat dengan Konsentrasi yang Berbeda. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 9(1), 30-38.
- Thapa, S., Shresta, R., Tirewal, A., Sharma, A., & Yuvraj, K. C. (2015). Isolation of Yeast from Soil and Different Food Samples and its Characterization Based on Fermentation. *Nepal Journal of Biotechnology*, 3(1), 29-34.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L. (2010). *Microbiology: an Introduction 10th edition*. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Tsegaye, Z. (2006). Isolation, Identification and Characterization of Ethanol Tolerant Yeast Species from Fruits for Production of Bio-ethanol. *International Journal of Modern Chemistry and Applied Acience*, 3(3), 437-443.
- Tsegaye, Z. (2016). Isolation, Identification and Characterization of Ethanol Tolerant Yeast Species from Fruits for Production of Bio-ethanol. *International Journal of Current Trends in Pharmacobiology and Medical Science*, 1(2), 52-59.
- Tsegaye, Z., Tefera, G., Gizaw, B., Abatenh, E. (2018). Characterization of Yeast Species Isolated from Local Fruits Used Bakery Industrial Application. *Journal of Applied Microbiological Research*, 1(1), 21-26.
- Tulloch, A., Goldson-Barnaby, A., Bailey, D., and Gupte, S. (2019). Manilkara zapota (Naseberry): Medicinal Properties and Food Applications. *International Journal of Fruit Science*.
- United States Department of Agriculture (USDA). tt. Classification of Sawo (Online). <https://plants.usda.gov/classification.html>. 29 Maret 2018.
- Vadkertiová, R., Molnárová, J., Vránová, D., & Sláviková, E. (2012). Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Canadian Journal of Microbiology*, 58(12), 1344-1352.

- Wachid, M. dan Mutia, P. (2019). Optimasi Media Kulit Singkong pada Pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae*. *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 4(2), 92-101.
- Wang, J. S., Zhao, M. M., Zhao, Q. Z., Bao, Y., & Jiang, Y. M. (2007). Characterization of Hydrolysates Derived from Enzymatic Hydrolysis of Wheat Gluten. *Journal of Food Science*, 72(2), 103-107.
- Watanabe, M., Uchida, N., Fujita, K., Yoshino, T., & Sakaguchi, T. (2016). Bread and effervescent beverage productions with local microbes for the local revitalization. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 6, 381–384.
- Webster J. and Weber, R. W. S. (2007). *Introduction to Fungi*. England: Cambridge University Press.
- Widiastutik, N., & Alami, N. H. (2014). Isolasi dan Identifikasi Yeast dari Rhizosfer. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*, 3(1), 11–16.
- Wulandari, T. P., Sukmawati, D., dan Kurniati, T. H. (2017). Isolasi dan Seleksi Khamir Amilolitik Asal Buah Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *BIOMA*, 13(1), 37-42.
- Yeong, F. M. (2005). Severing All Ties Between Mother and Daughter: Cell Separation in Budding Yeast. *Molecular Microbiology*, 55(5), 1325-1331.
- Yousif, M. R., and Safaa, M. F. (2014). Effect of Using Different Types of Yeasts on the Quality of Egyptian Balady Bread. *Journal of American Science*, 10(2).
- Zhang, X., Guo, S., Ho, C., and Bai, N. (2020). Phytochemical Constituents and Biological Activities of Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) Fruit: A Review. *Food Science and Human Wellness*, 95-102.
- Zubaidah, E., Dewantari, F. J., Novitasari, F. R., Srianta, I., and Blanc, P. J. (2018). Potential of Snake Fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for The Development of a Beverage Through Fermentation with The Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 198-203.
- Zunaidah, S., dan Alami, N. H. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Yeast dari Rhizosphere Avicennia Marina Wonorejo. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 3(1), 1-4.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Isolasi khamir dari daging buah sawo manila







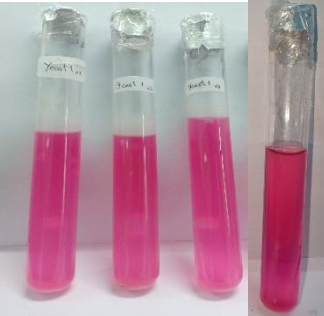
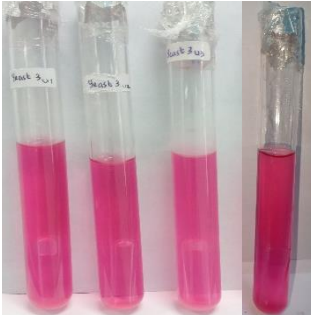
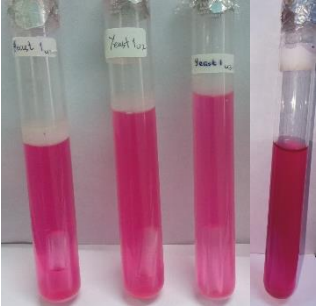

## Lampiran 2. Hasil Fermentasi Karbohidrat


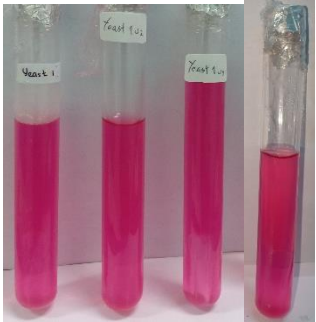


Jenis Gula	Nama Isolat	Ulangan	Hari ke -						
			1	2	3	4	5	6	7
Glukosa	Yeast-1	1	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
		2	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
		3	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
	Yeast-2	1	KR +	KR +	KR +	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
		2	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
		3	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
	Yeast-3	1	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
		2	TR +	TR +	TR ++	TR ++	TR +++	TR +++	TR +++
		3	TR +	TR +	TR ++	TR ++	TR +++	TR +++	TR +++
Sukrosa	Yeast-1	1	KR	KR	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++
		2	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
		3	KR	KR +	KR +	KR +	KR +	KR ++	KR +++
	Yeast-2	1	KR	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +
		2	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR ++
		3	KR	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +
	Yeast-3	1	TR	TR	TR +	TR +	TR +	TR ++	TR ++
		2	KR	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +
		3	KR	KR	KR +	KR +	KR +	KR ++	KR +
Fruktosa	Yeast-1	1	KR +	KR +	KR +	KR +	KR +	KR ++	KR ++
		2	KR +	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++
		3	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
	Yeast-2	1	TR	TR	TR +	TR +	TR +	TR ++	TR ++

		2	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
		3	KR +	KR +	KR ++	KR ++	KR +++	KR +++	KR +++
	Yeast-3	1	TR	TR +	TR +	TR +	TR +	TR +	TR +
		2	TR +	TR +	TR +	TR +	TR +	TR +	TR +
		3	TR	TR	TR	TR +	TR +	TR +	TR +
	Laktosa	Yeast-1	1	-	-	-	-	-	-
2			-	-	-	-	-	-	-
3			-	-	-	-	-	-	-
Yeast-2		1	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-
Yeast-3		1	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-

**Lampiran 3. Hasil Akhir Uji Fermentasi Karbohidrat**

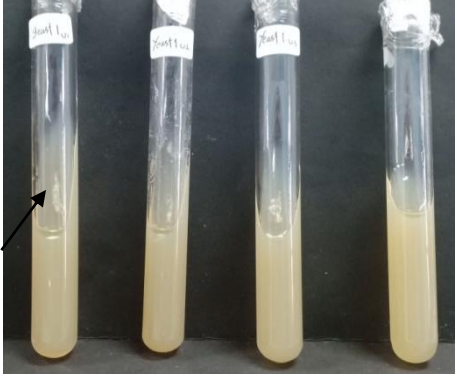
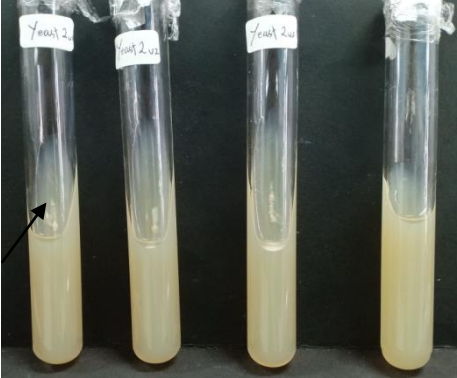
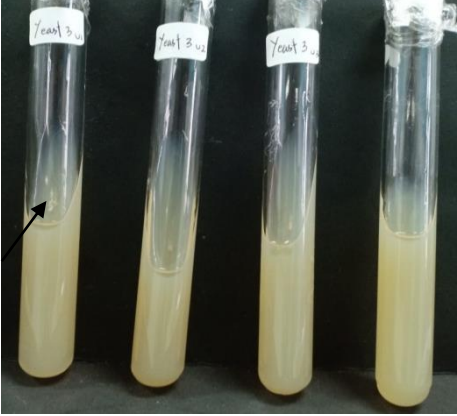
Jenis Gula	Nama Strain	Hasil Fermentasi Karbohidrat
Glukosa	Yeast-1	 <p>Glukosa + Kontrol</p>
	Yeast-2	 <p>Glukosa + Kontrol</p>
	Yeast-3	 <p>Glukosa + Kontrol</p>
Sukrosa	Yeast-1	 <p>Sukrosa + Kontrol</p>

	Yeast-2	 <p>Sukrosa + Kontrol</p>
	Yeast-3	 <p>Sukrosa + Kontrol</p>
Fruktosa	Yeast-1	 <p>Fruktosa + Kontrol</p>
	Yeast-2	 <p>Fruktosa + Kontrol</p>

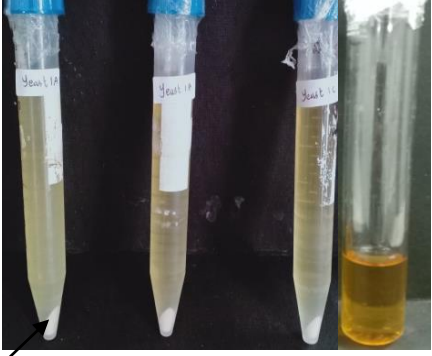
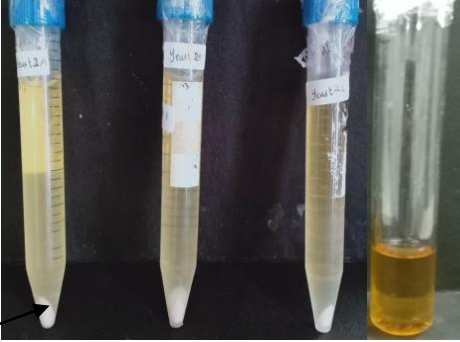

	Yeast-3	 <p>Fruktosa + Kontrol</p>
Laktosa	Yeast-1	 <p>Laktosa + Kontrol</p>
	Yeast-2	 <p>Laktosa + Kontrol</p>
	Yeast-3	 <p>Laktosa + Kontrol</p>









**Lampiran 4. Hasil Uji H<sub>2</sub>S**

<b>Nama Strain</b>	<b>Hasil Uji H<sub>2</sub>S</b>
Yeast-1	
Yeast-2	
Yeast-3	


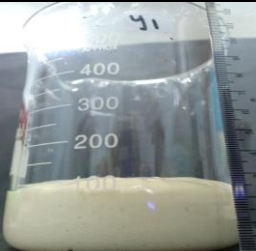


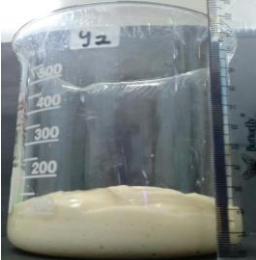



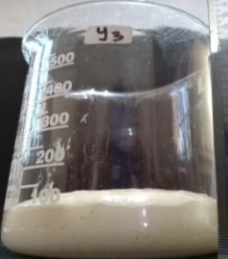



**Lampiran 5. Hasil Uji Flokulasi**




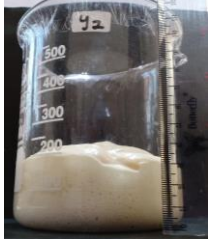

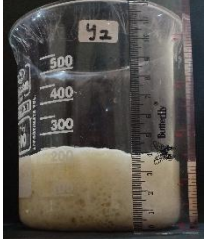






<b>Nama Strain</b>	<b>Hasil Flokulasi</b>
Yeast-1	
Yeast-2	
Yeast-3	

**Lampiran 6. Hasil Uji Aktivasi Isolat Khamir**

Nama Strain	Hasil Aktivasi Strain Khamir	Kontrol Positif
Yeast-1	 A 50ml graduated cylinder containing a light yellowish, turbid liquid. The liquid level is approximately at the 35ml mark. The cylinder has a white label with the number '31' at the top.	 A 50ml graduated cylinder containing a light yellowish, turbid liquid. The liquid level is approximately at the 35ml mark. The cylinder has a white label with the number '31' at the top.
Yeast-2	 A 50ml graduated cylinder containing a light yellowish, turbid liquid. The liquid level is approximately at the 35ml mark. The cylinder has a white label with the number '32' at the top.	 A 50ml graduated cylinder containing a light yellowish, turbid liquid. The liquid level is approximately at the 35ml mark. The cylinder has a white label with the number '32' at the top.
Yeast-3	 A 50ml graduated cylinder containing a light yellowish, turbid liquid. The liquid level is approximately at the 35ml mark. The cylinder has a white label with the number '33' at the top.	 A 50ml graduated cylinder containing a light yellowish, turbid liquid. The liquid level is approximately at the 35ml mark. The cylinder has a white label with the number '33' at the top.

Lampiran 7. Hasil Uji Pengembangan Adonan Roti

Nama Strain	2 jam	4 jam	6 jam
Yeast-1			
Yeast-2			
Yeast-3			
Kontrol Positif			

Nama Strain	8 jam	10 jam	12 jam
Yeast-1	 A 500 ml beaker labeled 'Y1' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'Y1' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'Y1' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.
Yeast-2	 A 500 ml beaker labeled 'Y2' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'Y2' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'Y2' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.
Yeast-3	 A 500 ml beaker labeled 'Y3' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'Y3' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'Y3' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.
Kontrol Positif	 A 500 ml beaker labeled 'K+' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'K+' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.	 A 500 ml beaker labeled 'K+' containing a white, frothy yeast culture. The liquid level is approximately 150 ml.



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

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

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Amirah Mahfudhah  
 NIM : 16620112  
 Program Studi : Biologi  
 Semester : 13 TA. 2022/2023  
 Pembimbing : Prof. Dr. Ulfah Utami, M. Si  
 Judul Skripsi : Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Buah Sawo (*Manilkara zapota*) sebagai Pengembang Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	16 Desember 2019	Konsultasi Judul dan Metode Penelitian	Ulfah
2.	13 November 2020	Konsultasi BAB I, II, III	Ulfah
3.	15 Desember 2021	Konsultasi BAB I, II	Ulfah
4.	10 Februari 2021	Ganti judul, BAB I, II	Ulfah
5.	31 Mei 2021	ACC BAB I, II, III	Ulfah
6.	1 Agustus 2022	Konsultasi BAB I, II, III, IV, dan V	Ulfah
7.	6 September 2022	ACC BAB I, II, III, IV, dan V	Ulfah

Pembimbing Skripsi,

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



6 September 2022  
 Program Studi Biologi,

Handi Savitri, M. P.  
 NIP. 1981106200912 2 002



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

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

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Amirah Mahfudhah  
 NIM : 16620112  
 Program Studi : Biologi  
 Semester : 13 TA. 2022/2023  
 Pembimbing : Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A  
 Judul Skripsi : Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Buah Sawo (*Manilkara zapota*) sebagai Pengembang Roti

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	13 Desember 2020	Konsultasi Integrasi Agama BAB I	
2.	15 Desember 2020	ACC Integrasi Agama BAB I dan II	
3.	2 Agustus 2022	Konsultasi Abstract, dan BAB IV	
4.	4 Agustus 2022	Konsultasi Abstract, dan BAB IV	
5.	8 Agustus 2022	Konsultasi BAB I, II, III, IV, dan V	
6.	10 Agustus 2022	Konsultasi BAB I, II, III, IV, dan V	
7.	6 September 2022	ACC Abstract, BAB I, II, III, IV, dan V	
8.			
9.			
10.			

Pembimbing Skripsi,

Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A  
 NIP. 19740602 200901 1 010



6 September 2022  
 Program Studi Biologi,

Savitri M. P.  
 NIP. 19820312 2 002



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

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

**Form Checklist Plagiasi**

**Nama** : Amirah Mahfudhah  
**NIM** : 16620112  
**Judul** : Isolasi dan Uji Potensi Khamir Endofit dari Buah Sawo  
 (*Manilkara zapota*) sebagai Pengembang Roti

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	236	



Diketahui,  
 Ketua Jurusan Biologi

Enka Sandi Savitri, M. P.