



ANALISIS PERTUMBUHAN KHAMIR ENDOFIT BUAH SALAK (*Salacca edulis* Reinw.) DENGAN PENAMBAHAN ZINC

DAN KUALITAS ROTI HASIL FERMENTASI ANALYSIS OF ENDOPHYTIC YEAST GROWTH OF SALAK FRUIT (*Salacca edulis* Reinw.) WITH ZINC ADDITION AND FERMENTED BREAD QUALITY

Nur Kusmiyati^{1*}, Ulfah Utami², Muhammad Riefki Pratama², Liliek Harianie²

¹Jurusan Ilmu Pangan dan Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

²Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia

*Corresponding author: nurkusmiyati@ub.ac.id

Naskah Diterima: 12 April 2023; Direvisi: 24 Agustus 2023; Disetujui: 9 Oktober 2023

Abstrak

Khamir endofit buah salak (*Salacca edulis* Reinw.) dengan kode YIS-3, YIS-4, dan YIS-7 dapat dimanfaatkan untuk fermentasi adonan roti. Kemampuan tersebut dapat ditingkatkan dengan penambahan sumber *zinc* pada media pertumbuhannya. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis pertumbuhan khamir endofit buah salak dengan penambahan *zinc* dan kualitas roti hasil fermentasi. Metode yang digunakan meliputi peremajaan isolat khamir, penambahan nutrisi pada media pertumbuhan, analisis biomassa khamir, jumlah sel, volume adonan, dan organoleptik. Hasil penelitian pada parameter pertumbuhan menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan *zinc* 0,1 g/L menghasilkan biomassa dan jumlah sel lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol. Biomassa tertinggi dihasilkan oleh YIS-4 yakni 4,13 g/300 mL, sedangkan jumlah sel tertinggi dihasilkan oleh YIS-3 yakni $27,84 \times 10^6$ sel/mL. Pada persentase pengembangan menunjukkan bahwa isolat khamir dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L membutuhkan waktu lebih lama untuk mencapai pengembangan tertinggi, namun volume roti setelah pemanggangan menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding perlakuan kontrol. Isolat YIS-4 dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L menghasilkan volume roti tertinggi (949,54 cm³). Berdasarkan analisis organoleptik dengan parameter warna, aroma, rasa dan tekstur menunjukkan bahwa semua panelis lebih menyukai roti hasil fermentasi isolat YIS-4 dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L.

Kata kunci: Khamir; Roti; Zinc

Abstract

The endophytic yeast of salak fruit (*Salacca edulis* Reinw.) with codes YIS-3, YIS-4, and YIS-7 can be used for bread dough fermentation. This ability can be increased by adding a zinc source to the growth medium. The purpose of this study was to analyze the growth of the endophytic yeast of salak fruit with the addition of zinc and the quality of fermented bread. The methods used include rejuvenation of yeast isolates, addition of nutrients to growth media, analysis of yeast biomass, cell count, dough volume and organoleptic. The results of research on growth parameters showed that treatment with the addition of zinc 0.1 g/L resulted in higher biomass and cell count than the control treatment. The highest biomass was produced by YIS-4 which was 4.13 g/300 mL, while the highest number of cells was produced by YIS-3 which was 27.84×10^6 cells/mL. The swelling percentage showed that yeast isolates treated with 0.1 g/L zinc took longer to reach the highest swelling, but the volume of bread after baking showed better results than the control treatment. YIS-4 isolate treated with 0.1 g/L zinc produced the highest bread volume (949.54 cm³). Based on organoleptic analysis with parameters of color, aroma, taste and texture, it showed that all panelists preferred bread fermented YIS-4 isolate with 0.1 g/L zinc treatment.

Keywords: Bread; Yeast; Zinc

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i2.31921>

PENDAHULUAN

Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik bersel satu yang memiliki kemampuan fermentasi, sehingga banyak dimanfaatkan dalam bidang industri. Industri modern saat ini membutuhkan khamir untuk memproduksi biomassa dalam jumlah besar yang digunakan untuk menghasilkan produk berkualitas tinggi, serta menjamin proses fermentasi cepat (Pérez-Torrado et al., 2015). Mikroorganisme khamir endofit hasil isolasi dari buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.) dengan kode YIS-3, YIS-4, dan YIS-7 memiliki kemampuan yang baik dalam mengembangkan adonan roti (Zahroh et al., 2022), tetapi memiliki biomassa yang sedikit (2,20 g/300 mL).

Biomassa merupakan salah satu indikator pertumbuhan pada sel mikroorganisme (Ouedraogo et al., 2017). Biomassa khamir banyak dimanfaatkan dalam proses fermentasi adonan roti. Oleh karena itu, untuk memaksimalkan proses fermentasi tersebut dibutuhkan perlakuan yang bertujuan untuk mengoptimalkan biomassa khamir yang diperoleh. Hal tersebut dapat dilakukan dengan penambahan nutrisi pada media pertumbuhan khamir (Ouedraogo et al., 2017).

Salah satu nutrisi yang dapat ditambahkan yaitu unsur *zinc*. *Zinc* terlibat dengan enzim RNA dan DNA polimerase dalam proses replikasi RNA dan DNA. Selain itu, *zinc* juga membantu sintesis senyawa alanin dan glutation yang berperan untuk keseimbangan proses metabolisme khususnya tahap glikolisis (Zhao & Bai, 2012). *Zinc* mampu meningkatkan sintesis riboflavin dan menstimulus terjadinya proliferasi sel sehingga kecepatan pertumbuhan khamir dapat meningkat (Azad et al., 2014). *Zinc* juga berperan sebagai kofaktor bagi enzim alkohol dehidrogenase pada proses fermentasi. Enzim tersebut berperan dalam reduksi senyawa asetaldehid menjadi alkohol dan NAD⁺ (Walker & Stewart, 2016).

Penelitian ini menggunakan senyawa *zinc* sulfat (ZnSO₄) sebagai tambahan pada media pertumbuhan khamir dengan konsentrasi 0,1 g/L. Konsentrasi tersebut sesuai dengan penelitian Zhao et al. (2009) yang menambahkan *zinc* sulfat pada media pertumbuhan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *Prombe schizosaccharomyces* dengan konsentrasi 0,01 g/L, 0,05 g/L dan 0,1 g/L. Hasil yang didapatkan bahwa penambahan senyawa *zinc* sulfat dengan konsentrasi 0,1 g/L mampu meningkatkan viabilitas sel tertinggi dengan nilai 84,5%. Hasil tersebut juga berpengaruh terhadap hasil fermentasi dengan dihasilkan etanol sebanyak 110,8 g/L. Azad et al. (2014) dalam penelitiannya menggunakan *zinc* sulfat sebesar 5–10 mg/L mendapatkan pertumbuhan lebih efisien dari konsentrasi lainnya yang ditandai dengan hasil *Optical Density* (OD) lebih tinggi. Laju pertumbuhan yang lebih tinggi pada konsentrasi 5 mg/L juga menghasilkan biomassa tertinggi sebesar 4.995 g/L.

Penelitian sebelumnya terkait penambahan *zinc* sebagai mikronutrien tambahan untuk meningkatkan biomassa, terbatas pada jumlah biomassa yang didapatkan (Azad et al., 2014; Zhao et al., 2009). Berdasarkan penelitian pendahuluan, jumlah sel hidup khamir pada fermipan maupun sel hidup khamir pada biomassa, dapat memengaruhi kecepatan waktu fermentasi adonan roti. Oleh karena itu, dalam penelitian ini biomassa khamir yang telah diketahui jumlah sel hidupnya, digunakan sebagai agen fermentasi adonan roti. Fermentasi yang terjadi pada adonan roti merupakan jenis fermentasi alkohol. Hasil fermentasi berupa gas CO₂, alkohol serta beberapa metabolit lain yang berpengaruh terhadap volume, tekstur, rasa hingga aroma roti (Maicas, 2020). Oleh sebab itu pada penelitian ini, selain dilakukan analisis terhadap biomassa dan jumlah sel hidup khamir, juga dilakukan analisis kualitas adonan roti yang meliputi persentase pengembangan adonan roti, volume roti setelah pemanggangan, dan analisis organoleptik (aroma, rasa, warna, serta tekstur).

MATERIAL DAN METODE

Peremajaan Isolat Khamir

Peremajaan isolat khamir dilakukan dengan cara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Satu koloni khamir diinokulasikan pada media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA) dengan metode *streak plate*. Kultur diinkubasi selama 48 jam dalam suhu ruang 28 °C. Setelah diinkubasi, dua koloni yang tumbuh dari masing-masing isolat khamir diperbanyak pada media *Yeast Malt Broth*

(YMB) dan diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 140 rpm suhu 33 °C selama 24 jam (Zohri et al., 2017).

Penambahan Nutrisi pada Media Pertumbuhan

Nutrisi tambahan yang digunakan berupa senyawa *zinc sulphate* ($ZnSO_4$) konsentrasi 0,1 g/L. *Zinc* dengan berat 0,03 g pada 300 mL media *Yeast Peptone Glucose* (YPG) (Zhao et al., 2009). Media disterilkan dengan bantuan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah dingin, kultur khamir pada media YMB dimasukkan ke dalam media perlakuan sebanyak 10% dengan metode aseptik di dalam *Laminar Air Flow*. Selanjutnya, media diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 140 rpm dan suhu 33 °C selama 48 jam (Zohri et al., 2017).

Analisis Biomassa Khamir

Pengukuran biomassa dilakukan pada fase log (eksponensial), tepatnya pada 48 jam setelah inkubasi. Sampel yang digunakan terdiri dari 300 mL media YPG, 30 mL khamir (10% dari 300 mL media YPG) dan *zinc* 0,03 gram/300 mL media. Pemisahan media dan biomassa khamir dilakukan dengan *centrifuge* pada kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang dan pelet hasil sentrifugasi ditimbang untuk mengetahui biomassa khamir yang diberi tambahan nutrisi unsur *zinc* (Karki et al., 2017). Perhitungan biomassa dilakukan dengan rumus $B = E_2 - E_1$. Keterangannya adalah $B =$ biomassa (g/mL); $E_1 =$ tabung Eppendorf kosong; $E_2 =$ tabung Eppendorf berisi biomassa.

Analisis Jumlah Sel

Analisis jumlah sel dilakukan merujuk pada Atanasova et al. (2019) yang dimodifikasi. Sebanyak 100 μ L inokulum khamir dimasukkan pada tube 1,5 mL. Sebanyak 100 μ L pewarna *methylen blue* diencerkan dengan 800 μ L akuades steril. Suspensi khamir yang telah dilakukan pewarnaan dan pengenceran selanjutnya dihomogenkan dengan *vortex*. Suspensi khamir diambil 20 μ L dan dimasukkan ke dalam *chamber* pada *Haemocytometer* secara perlahan. Sel dihitung di bawah mikroskop komputer dengan perbesaran 400x. Pengamatan sel dilakukan pada 5 kotak berukuran sedang. Setelah didapatkan jumlah sel pada 5 kotak sedang, dilakukan perhitungan dengan rumus (Mahardika & Pratikno, 2018). Rata-rata jumlah sel/kotak = jumlah sel hidup/5kotak. Faktor pengencer = volume akhir suspensi/volume inokulum; jumlah sel (sel/mL) = rata-rata jumlah sel/kotak x faktor pengencer x 10^4 . Keterangannya adalah $10^4 =$ konversi 0,1 μ L dalam 1 mL; 0,1 μ L = volume pada kotak sedang.

Pembuatan Adonan Roti

Bahan-bahan yang digunakan untuk adonan roti dan takarannya sesuai dengan Watanabe et al. (2016) yang dimodifikasi. Bahan terdiri dari 200 g tepung terigu, 3 g garam, 15 g gula, 16 g mentega, 1,2% (2,4 g) pelet khamir, 2,4 g fermipan, serta 70 mL air. Maryam et al. (2017), menyatakan pada pengujian ini dilengkapi dengan kontrol positif berupa fermipan dan kontrol negatif. Masing-masing sampel adonan ditimbang sebanyak 300 g dan dimasukkan dalam cetakan. Adonan diinkubasi pada suhu ± 30 °C. Tahap terakhir dari pembuatan roti yaitu proses pemanggangan pada suhu 150 °C selama 30 menit (Karki et al., 2017).

Analisis Volume Adonan Roti

Pengukuran kenaikan volume adonan roti mengacu pada Pusuma et al. (2018) yang dimodifikasi, dilakukan dengan cara membandingkan volume adonan setelah diinkubasi tiap 30 menit selama 600 menit dengan volume adonan awal. Proses pengukuran volume adonan dilakukan dalam cetakan yang telah diketahui ukurannya. Tinggi adonan diukur secara manual menggunakan penggaris. Volume adonan dihitung dengan rumus $V = \pi \times r^2 \times t$. Setelah diketahui volume adonan dari masing-masing waktu, dilakukan perhitungan persentase pengembangan adonan roti yang mengacu pada Saepudin et al. (2017) yang dimodifikasi. Rumus yang digunakan yaitu %pengembangan = volume adonan akhir - volume adonan awal / volume adonan awal x 100%.

Analisis Volume Roti setelah Pemangangan

Adonan roti yang telah diinkubasi selama 600 menit, selanjutnya dipanggang pada suhu 150 °C selama 30 menit (Karki et al., 2017). Pengukuran tinggi roti dilakukan menggunakan penggaris, kemudian dihitung volume roti setelah dipanggang dengan rumus $V = \pi \times r^2 \times t$.

Analisis Organoleptik

Pengujian aroma, rasa, warna, dan tekstur pada roti dilakukan dengan metode hedonik dengan melibatkan 30 panelis (20 panelis tidak terlatih dan 10 panelis terlatih). Metode ini menggunakan penilaian berdasarkan tingkat kesukaan yang ditunjukkan melalui skoring. Skor yang digunakan adalah 1= sangat tidak suka, 2= tidak suka, 3= agak suka, 4= suka, dan 5= sangat suka (Choiriyah & Dewi, 2020).

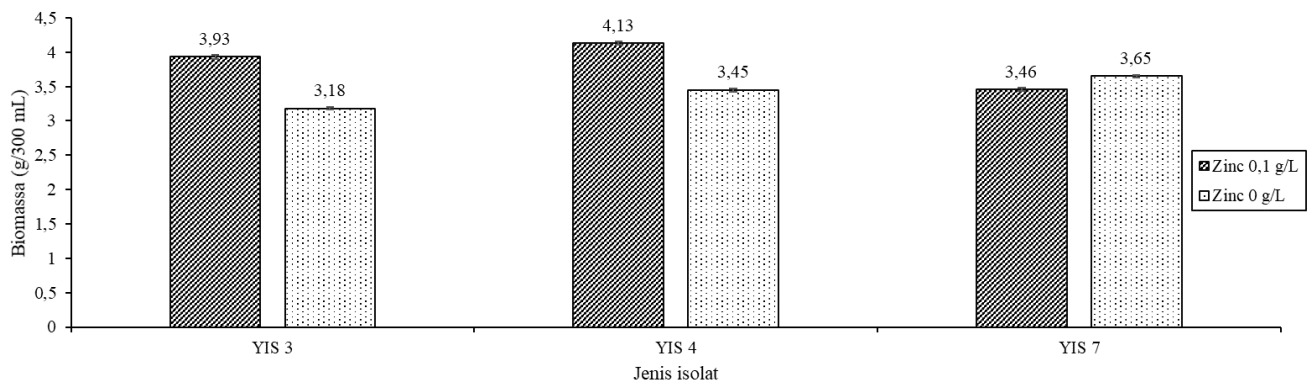
Analisis Data

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

HASIL

Biomassa Khamir Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.)

Indikator pertama yang diamati untuk mengetahui pertumbuhan khamir adalah biomassa yang dihasilkan oleh khamir YIS-3, YIS-4, dan YIS-7. Pada penelitian ini, *zinc* ditambahkan pada media untuk menunjang pertumbuhan khamir. Hasil biomassa yang diperoleh ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Biomassa yang diperoleh dari masing-masing perlakuan

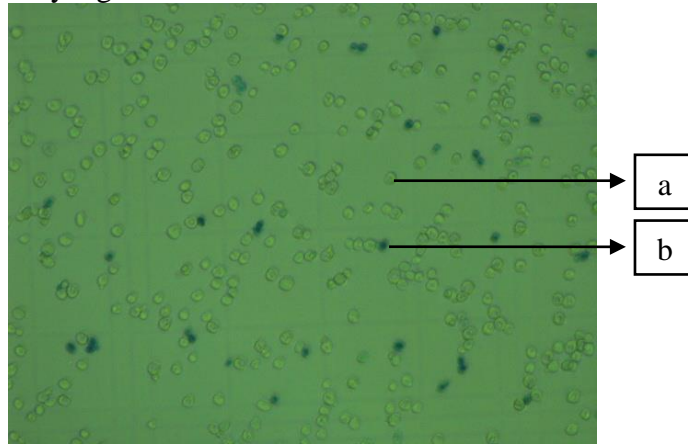
Berdasarkan Gambar 1, isolat YIS-3 dan YIS-4 yang diberi perlakuan *zinc* 0,1 g/L menghasilkan biomassa yang lebih tinggi (3,93 g/300 mL dan 4,13 g/300 mL) dibandingkan isolat YIS-3 dan YIS-4 dengan perlakuan *zinc* 0 g/L (3,18 g/300 mL dan 3,85 g/300 mL). Hal berbeda terjadi pada isolat YIS-7 dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L (3,46 g/300 mL) menghasilkan biomassa yang lebih rendah dibandingkan isolat YIS-7 perlakuan *zinc* 0 g/L (3,65 g/300 mL).

Jumlah Sel Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.)

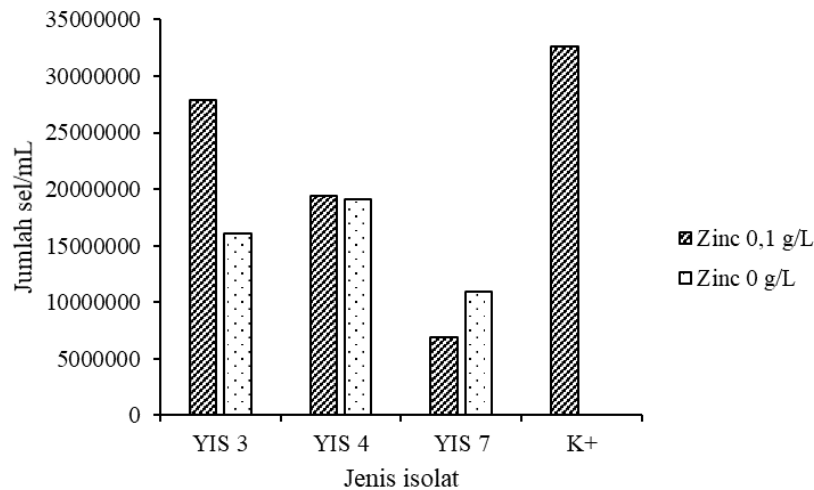
Indikator pertumbuhan yang kedua pada khamir YIS-3, YIS-4 dan YIS-7 dapat dilihat dari jumlah sel. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan metode *counting chamber* menggunakan alat berupa *Haemocytometer*. Morfologi sel hidup dan sel mati khamir disajikan pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 3, jumlah sel pada kontrol positif yang berupa ragi komersial merek fermipan memiliki hasil tertinggi ($32,64 \times 10^6$ sel/mL) dibandingkan dengan jumlah sel pada perlakuan *zinc* 0,1 g/L dan 0 g/L. Kondisi tersebut dapat terjadi karena sampel yang digunakan pada kelompok perlakuan berupa biomassa yang termasuk berat basah, sedangkan sampel yang

digunakan pada kontrol positif berupa berat kering. Oleh karena itu, pada takaran sampel yang sama dapat mengandung jumlah sel yang berbeda.



Gambar 2. Sel khamir berupa sel hidup (a) dan sel mati (b) dengan pewarnaan *methylene blue* (Perbesaran 400x)

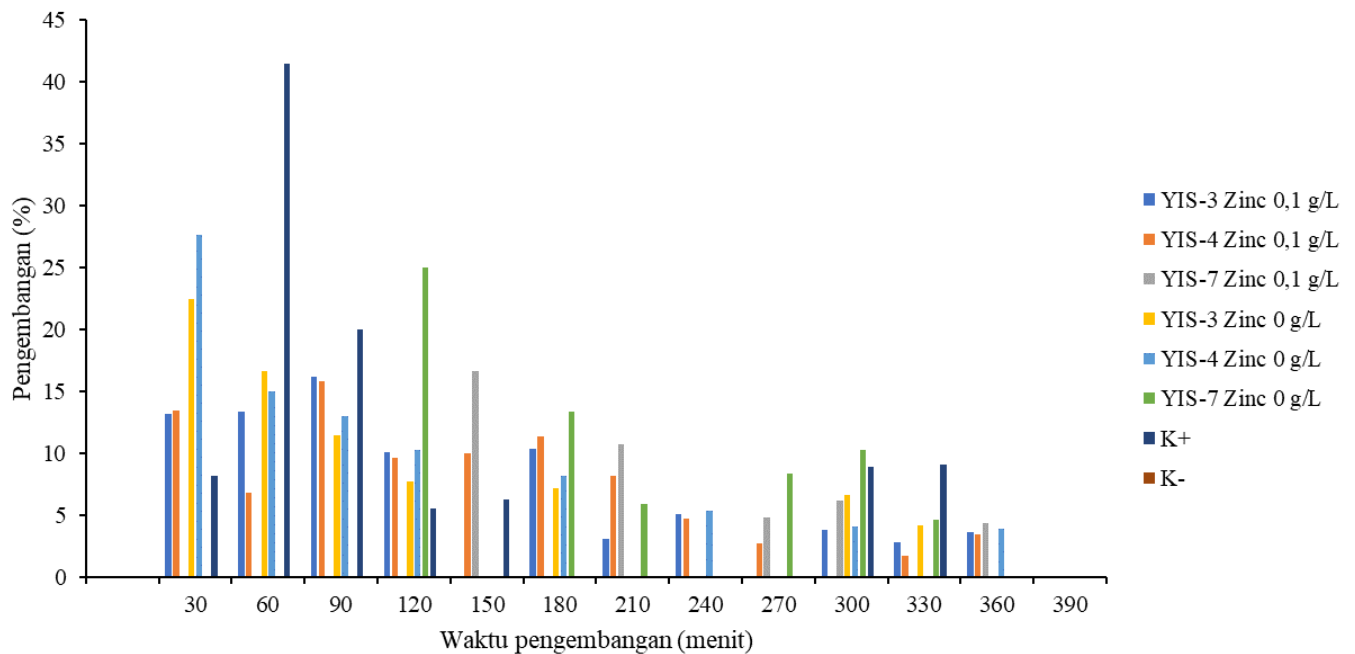


Gambar 3. Jumlah sel pada masing-masing perlakuan

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada Gambar 3, jumlah sel pada isolat YIS-3 dan YIS-4 dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L menunjukkan hasil yang lebih banyak ($27,84 \times 10^6$ sel/mL dan $19,44 \times 10^6$ sel/mL) dibandingkan perlakuan *zinc* 0 g/L. Hal yang berbeda terdapat pada isolat YIS-7 dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L memiliki jumlah sel lebih rendah ($6,9 \times 10^6$ sel/mL) dibandingkan perlakuan *zinc* 0 g/L ($10,92 \times 10^6$ sel/mL).

Volume Roti Hasil Fermentasi Khamir Endofit Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.)

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4 terlihat bahwa masing-masing isolat yang diberi perlakuan *zinc* menunjukkan waktu pengembangan yang berbeda-beda. Apabila dibandingkan dengan kontrol positif terlihat bahwa di awal waktu pengembangan menit ke-60 kontrol positif mengembang lebih tinggi dan lebih cepat yaitu 41,51%. Hal tersebut karena jumlah sel yang terkandung pada kontrol positif lebih tinggi jika dibandingkan jumlah sel pada semua perlakuan. Jumlah sel kontrol positif yang digunakan sebagai agen pengembang adonan roti berkisar $39,84 \times 10^6$ sel/mL, sedangkan jumlah sel pada semua perlakuan berkisar antara $6,9 \times 10^6$ sel/mL sampai $27,84 \times 10^6$ sel/mL.



Gambar 4. Persentase pengembangan adonan roti

Isolat khamir YIS-3 dan YIS-4 dengan penambahan *zinc* 0,1 g/L menghasilkan jumlah sel yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan *zinc* 0 g/L, tetapi memerlukan waktu yang lebih lama untuk mencapai tingkat pengembangan tertinggi dibandingkan dengan isolat perlakuan *zinc* 0 g/L. Namun, tingkat pengembangan yang terjadi pada isolat YIS-3 dan YIS-4 dengan penambahan *zinc* terlihat lebih stabil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua roti yang difermentasi oleh khamir dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L menghasilkan volume roti yang lebih tinggi dibandingkan dengan roti yang difermentasi oleh khamir perlakuan *zinc* 0 g/L maupun dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Pada menit ke-30, volume roti tertinggi dihasilkan oleh YIS-4 perlakuan *zinc* 0,1 g/L sebesar 949,54 cm³, sedangkan pada kontrol positif volume roti yang dihasilkan 734.76 cm³.

Organoleptik Roti

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan $P < 0,05$, artinya H_0 ditolak sehingga terdapat perbedaan nyata pada semua perlakuan terhadap atribut aroma, warna, tekstur, dan rasa. Untuk mengetahui pengaruh nyata di antara masing-masing perlakuan, maka dilakukan uji lanjut Mann-Whitney. Hasil uji lanjut Mann-Whitney ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji lanjut Mann-Whitney

Parameter	Nilai <i>mean</i> uji organoleptik							
	3P	4P	7P	3K	4K	7K	K+	K-
Warna	3,63 ± 0,76 ^a	3,80 ± 0,88 ^a	3,47 ± 0,73 ^{ab}	3,67 ± 0,66 ^a	3,20 ± 0,76 ^b	3,40 ± 0,77 ^{ab}	2,63 ± 0,80 ^c	1,77 ± 0,85 ^d
Aroma	3,70 ± 0,98 ^a	3,77 ± 0,85 ^a	3,40 ± 0,85 ^{ab}	3,10 ± 0,60 ^b	3,23 ± 0,62 ^b	3,10 ± 0,80 ^b	2,63 ± 0,92 ^c	2,10 ± 0,88 ^d
Tekstur	3,27 ± 0,86 ^{ab}	3,50 ± 0,86 ^{ab}	3,53 ± 1,00 ^{ac}	3,53 ± 0,77 ^a	3,20 ± 0,80 ^{ac}	3,13 ± 0,62 ^{bc}	2,73 ± 0,86 ^d	1,83 ± 0,95 ^e
Rasa	3,70 ± 0,91 ^{ab}	3,83 ± 0,91 ^a	3,80 ± 0,80 ^a	3,20 ± 0,84 ^c	3,23 ± 0,81 ^{bc}	3,40 ± 0,93 ^{ac}	2,60 ± 0,96 ^d	1,93 ± 0,98 ^e

Keterangan: 3P= YIS-3 dan zink 0,1 g/L; 4P= YIS-4 dan zink 0,1 g/L; 7P= YIS-7 dan zink 0,1 g/L; 3K= YIS-3 dan zink 0 g/L; 4K= YIS-4 dan zink 0 g/L; 7K= YIS-7 dan zink 0 g/L, K+= fermipan, K-= tanpa yeast

Berdasarkan hasil uji lanjut Mann-Whitney pada Tabel 1, menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol positif dan kontrol

negatif. Kelompok perlakuan 4P yang merupakan perlakuan YIS-4 + *zinc* 0,1 g/L menunjukkan rata-rata tertinggi pada parameter warna, aroma, tekstur, dan rasa.

PEMBAHASAN

Unsur *zinc* yang ditambahkan pada media kultur akan terlibat pada pengaturan struktur sel dan aktivitas metabolisme khamir serta proses lain seperti proses flokulasi dan pembelahan sel (Azad et al., 2014). Selain itu, *zinc* termasuk elemen penting yang dibutuhkan oleh khamir jenis *Saccharomyces* dalam melangsungkan pertumbuhan dan metabolisme. Unsur *zinc* terlibat dalam struktur dan fungsi protein, asam nukleat dan ekspresi gen, serta pengembangan sistem kekebalan pada sel khamir (Azad et al., 2014).

Menurut Wan et al. (2014), penambahan *zinc* pada khamir *Saccharomyces* dapat meningkatkan viabilitas sel dengan berperan sebagai antioksidan bagi sel khamir. *Zinc* membantu meregulasi keseimbangan metabolisme karbon pusat dan keseimbangan redoks. Selain itu, senyawa *zinc* akan meningkatkan biosintesis senyawa alanin dan senyawa glutathione. Senyawa alanin dapat diubah menjadi piruvat oleh enzim alanin transaminase sehingga dapat menyediakan ATP dalam siklus *Tricarboxylic Acid* (TCA) maupun glikolisis, sedangkan senyawa glutathione akan membantu mempercepat aliran karbon ke dalam siklus glikolisis dan TCA untuk mensintesis ATP. Selain itu, penambahan *zinc* dapat mengurangi akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) di dalam sel yang dapat menyebabkan stres oksidatif.

Jumlah sel yang tumbuh pada media uji berkaitan erat dengan proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir (Akbar et al., 2019). Menurut Kim et al. (2020), peningkatan konsentrasi ragi menyebabkan peningkatan laju produksi gas CO₂, sehingga menghasilkan laju perpindahan massa CO₂ yang lebih tinggi. Akibatnya gelembung diperluas lebih cepat untuk mencapai saturasi. Menurut Zhao dan Bai (2012), kondisi tersebut dapat disebabkan karena *zinc* akan bereaksi dengan protein superoksida dismutase (SOD1) ketika terjadi kondisi stress oksidatif. Protein SOD1 juga terlibat dalam pemeliharaan kondisi redoks pada tingkat sel dengan jalur pentosa fosfat. Protein tersebut akan mengubah *reactive oxygen species* (ROS) menjadi H₂O₂ dan O₂.

Menurut Lahue et al. (2020), sebagian besar mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi adonan roti adalah dari golongan *Saccharomyces*. Dalam pembuatan roti, khamir *S. cerevisiae* diperlukan untuk memanfaatkan gula kompleks secara efisien serta mampu mentolerir stres osmotik. Zhen et al. (2020) menyatakan bahwa kekuatan gluten dipengaruhi oleh senyawa nitrogen, sehingga pemberian senyawa nitrogen mampu meningkatkan jumlah semua protein gliadin dan glutenin yang mengakibatkan peningkatan volume roti. Unsur *zinc* berperan sebagai kofaktor bagi enzim alkohol dehidrogenase. Enzim tersebut merupakan salah satu enzim yang berperan penting dalam proses fermentasi.

Perubahan warna pada roti menjadi kecokelatan setelah mengalami pemanggangan disebabkan oleh terjadinya reaksi *Maillard* dan proses karamelisasi gula (Sitepu, 2019). Menurut Purlis (2010), reaksi *Maillard* terjadi disebabkan molekul gula pereduksi bereaksi dengan gugus amin bebas dari asam amino/protein saat mengalami pemanasan pada suhu tertentu. Pada tahap akhir reaksi *Maillard*, gugus karbonil dan amin yang mengalami kondensasi akan membentuk senyawa melanoidin yang memberikan warna kecokelatan (Starowicz & Zielinski, 2019). Sitepu (2019) menyatakan bahwa karamelisasi gula terjadi akibat pemanasan yang melewati titik lebur gula sehingga mengalami degradasi.

Karakter aroma yang timbul pada roti juga disebabkan oleh senyawa turunan dari reaksi *Maillard*. Starowicz dan Zielinski (2019), menyatakan bahwa senyawa volatil (senyawa yang mudah menguap) yang dihasilkan dari reaksi *Maillard* akan memberikan aroma yang khas terhadap adonan roti. Pada saat proses fermentasi oleh khamir terjadi pada adonan roti akan menghasilkan beberapa senyawa yang berpengaruh terhadap aroma roti (Heitmann et al., 2017).

Sitepu (2019) menambahkan bahwa karakter tekstur dipengaruhi oleh kandungan gula dan ragi pada adonan. Komponen gula akan membantu mempertahankan struktur jaringan gluten untuk mengikat karbon dioksida, sedangkan ragi merupakan agen yang menghasilkan karbon dioksida agar daya kembang adonan roti meningkat.

Rasa merupakan faktor yang paling menentukan keputusan bagi panelis untuk menerima atau menolak suatu produk. Menurut Mildner et al. (2017), melalui reaksi Maillard, asam amino bebas dan gula pereduksi berinteraksi untuk menghasilkan beberapa senyawa di antaranya yaitu alkohol, aldehida, ester, eter, keton, asam, furan, hidrokarbon, lakton, pirazina, pirolin, dan senyawa belerang. Semua senyawa tersebut berkontribusi dalam terbentuknya rasa roti.

Khamir YIS-4 dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L (4P) dapat meningkatkan biomassa dan jumlah sel khamir endofit buah salak. Selain itu, juga dapat meningkatkan volume adonan dan roti setelah proses pemanggangan. Panelis juga lebih menyukai roti isolat YIS-4 dengan perlakuan *zinc* 0,1 g/L. Roti dengan khamir perlakuan 4P memberikan parameter tertinggi dibandingkan roti dengan perlakuan lainnya berdasarkan parameter warna, aroma, tekstur dan rasa. Parameter tersebut berbanding lurus dengan biomassa dan jumlah sel. Hasil analisis morfologi tidak ada perbedaan antara khamir isolat YIS-3, YIS-4, dan YIS-7 sehingga diperlukan analisis lebih lanjut untuk menentukan spesies dari isolat tersebut.

SIMPULAN

Penambahan *zinc* 0,1 g/L pada isolat YIS-4 dapat meningkatkan pertumbuhan khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.) serta mampu meningkatkan kualitas roti didasarkan pada pengukuran volume adonan dan roti setelah pemanggangan, serta pengujian organoleptik dengan metode hedonik. Akan tetapi, khamir endofit membutuhkan waktu yang cukup lama dalam melangsungkan proses fermentasi. Oleh karena itu, pengamatan faktor-faktor lingkungan mulai dari awal hingga akhir fermentasi perlu dievaluasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada semua pihak yang membantu terselesainya penelitian dan penulisan naskah. Laboran dan mahasiswa bimbingan Nuzulul Furoida Imarotu Zahroh, M.Si. Lembaga Penelitian yang memberi dana diantaranya LP2M UIN Maulana Malik Ibrahim Malang melalui Bantuan Operasional Perguruan Tinggi Negeri (BOPTN) Litapdimas Kementerian Agama Indonesia BPP FTP Universitas Brawijaya.

REFERENSI

- Akbar, G. P., Kusdiyantini, E., & Wijanarka, W. (2019). Isolasi dan karakterisasi secara morfologi dan biokimia khamir dari limbah kulit nanas madu (*Ananas comosus* L.) untuk produksi bioetanol. *Berkala Bioteknologi*, 2(2), 1-11.
- Atanasova, M., Yordanova, G., Nenkova, R., Ivanov, Y., Godjevargova, T., & Dinev, D. (2019). Brewing yeast viability measured using a novel fluorescent dye and image cytometer. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 33(1), 548-558.
- Azad, S. K., Shariatmadari, F., & Torshizi, M. A. K. (2014). Production of *zinc*-enriched biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Element*, 313-326.
- Choiriyah, N. A., & Dewi, I. C. (2020). Daya terima roti tawar mocaf dan ubi jalar pada santriwati pesantren x. *Media Pertanian*, 5(1).
- Heitmann, M., Zannini, E., Axel, C., & Arendt, E. (2017). Correlation of flavor profile to sensory analysis of bread produced with different *Saccharomyces cerevisiae* originating from the baking and beverage industry. *Cereal Chemistry*, 94(4), 746-751.
- Karki, T. B., Timilsina, P. M., Yadav, A., Pandey, G. R., Joshi, Y., Bhujel, S., ... & Neupane, K. (2017). Selection and characterization of potential baker's yeast from indigenous resources of Nepal. *Biotechnology research international*, 2017.
- Kim, D. H., Jang, K. A., & Lee, S. J. (2020). Prediction method of CO₂ production from electrical resistance of bread dough measured with a simple electrical multimeter in fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 29(2), 235-241.
- Lahue, C., Madden, A. A., Dunn, R. R., & Heil, C. S. (2020). History and domestication of *Saccharomyces cerevisiae* in bread baking. *Frontiers in Genetics*, 11.

- Mahardika, G. R., & Pratikno, H. (2018). Analisis ketahanan mikroalga pada material baja ah 36 dengan menggunakan metode impressed current anti fouling (ICAF). *Jurnal Teknik ITS*, 7(2), G145-G149.
- Maicas, S. (2020). The role of yeasts in fermentation processes. *Microorganisms*, 8(1142), 1-8. doi: [10.3390/microorganisms8081142](https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142).
- Maryam, B. M., Mohammed, S. S. D., & Ayodeji, O. A. (2017). Screening of fermentative potency of yeast isolats from indigenous sources for dough leavening. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2(1), 12.
- Mildner-Szkudlarz, S., Siger, A., Szwengiel, A., Przygoński, K., Wojtowicz, E., & Zawirska-Wojtasiak, R. (2017). Phenolic compounds reduce formation of ϵ -(carboxymethyl) lysine and pyrazines formed by maillard reactions in a model bread system. *Food chemistry*, 231, 175-184.
- Ouedraogo, N., Savadogo, A., Somda, M. K., Tapsoba, F., Zongo, C., & Traore, A. S. (2017). Effect of mineral salts and nitrogen source on yeast (*Candida utilis* NOY1) biomass production using tubers wastes. *African Journal of Biotechnology*, 16(8), 359-365.
- Pérez-Torrado, R., Gamero, E., Gómez-Pastor, R., Garre, E., Aranda, A., & Matallana, E. (2015). Yeast biomass, an optimised product with myriad applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 46(2), 167-175.
- Purlis, E. (2010). Browning development in bakery products—a review. *Journal of Food Engineering*, 99(3), 239-249.
- Pusuma, D. A., Praptiningsih, Y., & Chiron, M. (2018). Karakteristik roti tawar kaya serat yang disubstitusi menggunakan tepung ampas kelapa. *Jurnal Agroteknologi*, 12(01), 29-42.
- Qurnaini, N. R., Nasrullah, N., & Fauziyah, A. (2021). Pengaruh substitusi biji jali (*Coix lacrym-jobi* L.) terhadap kadar lemak, serat, fenol dan sifat organoleptik tempe. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 11(01).
- Saepudin, L., Setiawan, Y., & Sari, P. D. (2017). Pengaruh perbandingan substitusi tepung sukun dan tepung terigu dalam pembuatan roti manis. *AGROSCIENCE*, 7(1), 227-243.
- Sitepu, K. M. (2019). Penentuan konsentrasi ragi pada pembuatan roti (determining of yeast concentration on bread making). *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Agrokompleks*, 71-77.
- Starowicz, M., & Zieliński, H. (2019). How maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor and texture) of food products?. *Food Reviews International*, 35(8), 707-725.
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(30).
- Wan, C., Zhang, M., Fang, Q., Xiong, L., Zhao, X., Hasunuma, T., ... Kondo, A. (2014). The impact of zinc sulphate addition on the dynamic metabolic profiling of *Saccharomyces cerevisiae* subjected to long term acetic acid stress treatment and identification of key metabolites involved the antioxidant effect of zinc. *Royal Society of Chemistry*.
- Watanabe, M., Uchida, N., Fujita, K., Yoshino, T., & Sakaguchi, T. (2016). Bread and effervescent beverage productions with local microbes for the local revitalization. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 6(3), 381-384.
- Zahroh, N. (2022). Analisis senyawa volatil pada roti hasil fermentasi oleh khamir endofit buah salak pondoh (*Salacca edulis* Reinw.) beserta identifikasi molekuler. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Jawa Timur, Indonesia.
- Zhao, X. Q., Xue, C., Ge, X. M., Yuan, W. J., Wang, J. Y., & Bai, F. W. (2009). Impact of zinc supplementation on the improvement of ethanol tolerance and yield of self-flocculating yeast in continuous ethanol fermentation. *Journal of Biotechnology*, 139(1), 55-60.
- Zhao, X. Q., & Bai, F. W. (2012). Zinc and yeast stress tolerance: Micronutrient plays a big role. *Journal of Biotechnology*, 158(4), 176-183.
- Zhen, S., Deng, X., Xu, X., Liu, N., Zhu, D., Wang, Z., & Yan, Y. (2020). Effect of high-nitrogen fertilizer on gliadin and glutenin subproteomes during kernel development in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Journal*, 8(1), 38-52.

Zohri, A. A., Fadel, M., Hmad, M., & El-sharkawey, H. F. (2017). Effect of nitrogen sources and vitamins addition on baker's yeast fermentation activity. *Egyptian Sugar Journal*, 9, 57-66.