

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, manusia mulai menemukan berbagai macam cara untuk melakukan pengolahan bahan pangan. Beragam proses pengolahan pangan telah dilakukan agar bahan pangan yang tersedia dapat dimanfaatkan dengan melakukan pengolahan baik itu dinegara tropis maupun di Negara sub-tropis (Agatha and Paryoto, 2020). Salah satu metode yang mendukung pengembangan produk pangan yaitu teknologi fermentasi. Fermentasi adalah proses dekomposisi zat organik yang disebabkan oleh mikroorganisme atau enzim yang pada dasarnya mengubah karbohidrat menjadi alkohol atau asam organik (Swain *et al.*, 2014). Teknologi ini diaplikasikan pada pembuatan *eco* enzim hasil fermentasi buah dan sayur dan ragi alami (Naroeni *et al.*, 2021). Kandungan mikroba dalam ragi alami didominasi oleh mikroba baik dari kelompok yeast maupun bakteri. Ragi alami umumnya didominasi oleh khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae*, serta dari genus lain seperti *Rhodotorula*, *Candida* dan dari kelompok bakteri seperti bakteri asam laktat yang berasal dari genus *Lactobacillus* dan *Acetobacter* (Naroeni *et al.*, 2021).

Ragi alami didapatkan dari hasil fermentasi tanpa bahan tambahan buatan. Mikroorganisme dari bahan-bahan alami yang digunakan akan memproduksi glukosa dan karbondioksida, aroma alkohol serta asam-asam organik (Agatha and Paryoto, 2020). Penggunaan ragi alami sudah berkembang sejak lama dan produk yang dihasilkan lebih baik dibandingkan dengan produk yang menggunakan ragi instan (Muhibuddin, 2016). Hal ini dikarenakan ragi alami mempunyai ketahanan yang baik terhadap pertumbuhan mikroba patogen sehingga tidak memerlukan bahan tambahan. Mikroorganisme yang terdapat dalam ragi alami telah menghasilkan berbagai jenis enzim dan senyawa metabolit selama proses fermentasi berlangsung dan tidak hanya dapat meningkatkan kualitas kue tetapi juga keawetannya (Riana, Cahyana and Ridawati, 2020).

Kemampuan mikroorganisme ragi alami dalam menghasilkan enzim penting dalam pangan menjadi keunggulan penggunaan ragi alami dalam produk

olahan pangan seperti roti. Salah satu enzim yang aplikasinya sangat luas adalah enzim protease. Protease merupakan enzim yang terlibat dalam reaksi pemecahan protein (Noviasari, 2013). Enzim protease yang digunakan dalam bidang industri pangan umumnya diproduksi dari mikroorganisme. Penggunaan mikroorganisme untuk produksi enzim protease mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek serta dapat diproduksi secara berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah (Agatha and Paryoto, 2020)

Penelitian ini berfokus pada yeast ragi alami yang dihasilkan dari proses fermentasi kismis yang telah dilakukan sebelumnya. Ragi alami ini kemudian ditumbuhkan di laboratorium dan dilabeli dengan kode BL-20 dan PT-20 yang nantinya akan digunakan untuk proses deteksi gen penyandi protease dan identifikasi. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan kandidat yeast yang mampu menghasilkan enzim protease serta mengidentifikasi yeast dari galur BL-20 dan PT-20 yang diskriminasi sebelumnya sebagai kandidat probiotik. Isolasi dan Identifikasi dilakukan secara molekuler dengan mengamplifikasi daerah konservatif pada DNA genom yeast. Identifikasi yeast yang tepat dan akurat dibuat dengan menggunakan teknik sekuensing DNA. Variasi urutan dalam gen 18S ribosomal RNA (rRNA), ITS (*Internal Transcribed Spacer*) yang umumnya digunakan untuk identifikasi yeast. Menurut (Ekasari, Retnoningsih and Widiati, 2012), sekuensing ITS banyak dimanfaatkan untuk analisis sistematis molekuler pada tingkat spesies, karena ITS memiliki derajat variasi yang tinggi. Sedangkan untuk deteksi gen penyandi protease menggunakan primer spesifik yang mampu mengamplifikasi keberadaan sekuens gen protease pada DNA genom.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui bagaimana proses identifikasi yeast isolat BL-20 dan PT-20 dan untuk mengetahui pada kandidat yeast isolat BL-20 dan PT-20 terdapat gen protease.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengoptimasi suhu annealing PCR dan mengidentifikasi yeast galur BL-20 dan PT-20 sebagai kandidat yeast penghasil protease serta untuk melihat kekerabatan terdekat pada yeast galur BL-20 dan PT-20.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu inovasi baru guna mengatasi ketergantungan impor enzim protease pada bidang industri pangan ataupun non-pangan.