Variasi Antioksidan dalam Pembuatan *Protected Active Dried Yeast*

Ronny Purwadi *, Vita Wonoputri, Febri Ulfa Fitriana, dan Najwa Shufia Choliq

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha No. 10, Bandung, Jawa Barat, 40132, Indonesia

*e-mail: ronny.purwadi@che.itb.ac.id

Abstrak. Penggunaan antioksidan pada pembuatan *protected active dried yeast* (PADY) dapat memperpanjang umur simpan ragi kering. Antioksidan yang sering digunakan adalah antioksidan sintesis BHA dan BHT yang diduga bersifat karsinogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mencari alternatif antioksidan yang lebih aman. Lima antioksidan yaitu asam sitrat, asam askorbat, tokoferol, natrium eritrobat, dan askorbil palmitat pada rentang konsentrasi 0,025-0,5% diuji pada suspensi ragi untuk mempelajari efek inhibisi dari antioksidan tersebut. Uji laju produksi CO₂ menunjukkan sifat noninhibisi dari asam askorbat, natrium eritrobat, asam sitrat, dan tokoferol, sedangkan sifat inhibisi askorbil palmitat dan BHT perlu diteliti lebih lanjut. Formulasi antioksidan terpilih untuk produksi PADY adalah asam sitrat 0,5%, asam askorbat 0,5%, dan tokoferol 0,5%. Pengeringan ragi dengan *spray dryer* menghasilkan PADY dengan kadar air sesuai standar. PADY dengan sifat fisik terbaik adalah variasi asam sitrat 0,5% dan asam askorbat 0,5% karena kelarutan dalam air yang baik serta granula yang lebih halus. Stabilitas vitalitas PADY diukur selama 45-50 hari, dan didapatkan PADY dengan antioksidan asam askorbat 0,5% memiliki konstanta laju kematian terendah, yaitu 0,0492/hari, setara dengan umur simpan 20 hari. Dengan demikian, formulasi antioksidan asam askorbat 0,5% berpotensi untuk dikembangkan pada produksi PADY.

Kata kunci: antioksidan, ragi kering, stabilitas, vitalitas.

Abstract. Variation of Antioxidant in Production of Protected Active Dried Yeast. The use of antioxidants in production of protected active dried yeast (PADY) can increase dried yeast's shelf life. Usually, the antioxidants used are synthetic antioxidants such as BHA and BHT, which are known to be carcinogenic. Therefore, the aim of this research is to study antioxidant alternative that is safer. Five antioxidants, i.e. citric acid, ascorbic acid, tocopherol, sodium erythorbate, and ascorbyl palmitate in concentration range of 0.025-0.5% were tested on yeast suspension to study its inhibitory effect. CO₂ production rate test showed noninhibitory characteristic of ascorbic acid, sodium erythorbate, citric acid, and tocopherol, whereas ascorbyl palmitate and BHT showed inhibitory characteristic. Formulations of antioxidants selected are 0.5% citric acid, 0.5% ascorbic acid, and 0.5% tocopherol. Spray drying of yeast resulted in PADY with moisture content within standard. PADYs with the best physical properties are 0.5% citric acid and 0.5% ascorbic acid variation due to good water solubility and finer granules. Vitality stability of PADY was measured for 45-50 days. PADY with 0.5% ascorbic acid had the lowest death rate constant, i.e. 0.0492/day, which is equivalent to 20-days shelf life. Thus, ascorbic acid antioxidant formulation of 0.5% can be developed in the production of PADY.

Keywords: antioxidant, dried yeast, stability, vitality.

Graphical Abstract

1. Pendahuluan

Ragi roti (*Saccharomyces cereviceae*) banyak digunakan dalam pembuatan roti karena aktivitasnya yang mampu mengembangkan sekaligus melembutkan tekstur roti. Adonan roti dapat mengembang karena gas CO₂ yang dihasilkan dari aktivitas ragi selama fermentasi terperangkap dalam adonan. Secara tradisional, ragi roti

digunakan dalam bentuk *compressed yeast* yang memiliki kandungan air 70%. Kandungan air yang tinggi menyebabkan *compressed yeast* memiliki umur simpan yang singkat, yaitu hanya sekitar 3-4 minggu, pada temperatur penyimpanan yang rendah, yaitu 0-4°C (Verachtert dan Mort, 1990). Menurut Lee (2015), aktivitas fermentasi dari *compressed yeast* mengalami

penurunan sebesar 3-5% per minggunya dalam temperatur simpan 5-8 °C. Oleh sebab itulah, saat ini ragi yang dikeringkan (*dried yeast*) lebih banyak digunakan (Lee, 2015). Ragi kering terdiri dari dua jenis, yaitu ragi kering aktif (*active dried yeast*) dan ragi kering instan (*instant dried yeast*). *Active dried yeast* memiliki kandungan air sebanyak 7-8%. *Active dried yeast* memerlukan rehidrasi terlebih dahulu sebelum dicampur ke adonan roti. Sebaliknya, *instant dried yeast* memiliki kandungan air sebanyak 4-5,5% dan dapat langsung dicampurkan ke adonan tanpa rehidrasi terlebih dahulu. Namun ragi kering instan harus digunakan dalam 3-5 hari setelah kemasan dibuka (Verachtert dan Mort, 1990).

Ragi kering aktif membutuhkan kemasan khusus, misalnya kantung ketat, kemasan vakum, atau kemasan dengan gas inert, untuk mencegah degradasi ragi akibat oksidasi. Degradasi ini dapat diukur dari vitalitas, viabilitas, serta kemampuan mengembangkan adonan (NPCS Boards of Consultants & Engineers, 2011). Alternatif yang dapat dilakukan untuk mengeliminasi penggunaan kemasan khusus adalah dengan penambahan antioksidan yang mampu meningkatkan stabilitas ragi yang disimpan pada keadaan atmosfer (NPCS Boards of Consultants & Engineers, 2011) sehingga membentuk ragi kering aktif terproteksi atau *protected active dried yeast* (PADY).

Antioksidan yang biasa digunakan dalam pembuatan PADY adalah *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT). Antioksidan sintetis ini diduga bersifat karsinogenik, sehingga penelitian tentang kandidat antioksidan pengganti yang lebih aman dikonsumsi perlu dilakukan. Saat ini, ada banyak alternatif antioksidan lainnya yang dapat dimanfaatkan, seperti asam askorbat, tokoferol, asam sitrat, natrium eritorbat, serta askorbil palmitat. Antioksidan tersebut tergolong sebagai antioksidan alami yang tidak bersifat karsinogenik. Banyaknya antioksidan lain yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif mendorong kami untuk melakukan penelitian pembuatan PADY dengan memvariasikan jenis antioksidan beserta konsentrasinya.

Penelitian sejenis sudah dilakukan oleh Soares dkk. (2003). Soares dkk. (2003) melakukan penelitian terkait pengaruh beberapa antioksidan (BHT, propil galat, resveratrol, vitamin C, dan vitamin E) dalam mengurangi efek *oxidative stress* akibat paparan apomorfina, hidrogen peroksida, dan paraquat diklorida pada *Saccharomyces cerevisiae*. Efek antioksidan diamati dengan membandingkan vitalitasnya ketika tidak ditambahkan dan ditambahkan antioksidan pada suspensi yang mengandung 2×10^6 sel/mL. Berbeda dengan penelitian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh penambahan berbagai formulasi antioksidan terhadap umur simpan produk ragi kering.

2. Metodologi

Penelitian ini dilakukan dengan empat tahapan utama, yaitu (1) pengujian sifat inhibisi antioksidan terhadap ragi, (2) pembentukan inokulum dari ragi kering komersial, (3) pembuatan *protected active dried*

yeast, serta (4) pengujian karakteristik *protected active dried yeast*.

2.1. Pengujian sifat inhibisi antioksidan terhadap ragi

Uji inhibisi bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya sifat inhibitor dari antioksidan terhadap aktivitas ragi serta menyeleksi tiga formulasi antioksidan yang akan digunakan pada pembuatan PADY. Pada pengujian ini, terdapat 38 *run* percobaan dengan dua *run* berupa kontrol positif (tanpa penambahan antioksidan) dan negatif (tanpa penambahan antioksidan dan dengan air mendidih) serta 36 *run* lainnya berupa variasi enam jenis antioksidan (BHT, asam sitrat, asam askorbat, tokoferol, natrium eritorbat, dan askorbil palmitat) dan enam konsentrasi antioksidan (0,025%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5%).

Untuk antioksidan yang larut dalam air, antioksidan langsung diencerkan menggunakan aqua dm hingga diperoleh konsentrasi tertentu, sedangkan untuk antioksidan yang larut dalam minyak, antioksidan dilarutkan terlebih dahulu dalam minyak, kemudian ditambahkan aqua dm, dipanaskan hingga 60°C, dan ditambahkan *emulsifier* sebanyak 2%-w/w ragi.

Labu peragian (*smith fermentation tube*) (Fuller, 1920) digunakan untuk mengukur keberlangsungan proses fermentasi. Larutan fermentasi ditempatkan pada labu peragian yang memiliki satu kaki tertutup dan labu diposisikan sedemikian sehingga kaki tertutup dipenuhi larutan dan berdiri tegak. Gas yang dihasilkan selama fermentasi akan terkumpul di kaki tertutup dan volumenya dapat diukur. Pembentukan gas hasil fermentasi dapat menunjukkan keberlangsungan fermentasi yang terjadi di dalam labu peragian.

Untuk mengetahui sifat inhibitor dari tiap variasi antioksidan, larutan antioksidan dengan konsentrasi tertentu ditambahkan pada campuran 0,5 gram ragi komersial, 12 mL aqua dm, dan 2 mL larutan glukosa 2% yang ditempatkan dalam labu peragian. Dari campuran ini, gas CO₂ terbentuk dan volumenya diukur tiap 5 menit selama 1 jam. Data volume CO₂ tersebut diregresi secara linier sehingga diperoleh laju produksi CO₂ dari masing-masing variasi. Laju produksi CO₂ tiap variasi dibandingkan dengan nilai laju produksi CO₂ kontrol positif dengan uji statistika menggunakan metode *one-way ANOVA* dengan selang keyakinan 95%. Antioksidan-antioksidan yang menghasilkan laju yang lebih rendah dibanding kontrol positif dan dengan perbedaan yang signifikan berarti memiliki sifat inhibitor. Antioksidan yang bersifat inhibitor tidak akan digunakan pada pembuatan PADY. Selain sifat inhibitor, pemilihan antioksidan yang akan digunakan pada pembuatan PADY juga mempertimbangkan nilai laju produksi CO₂ dan aspek teknis lainnya.

2.2. Pembentukan inokulum

Pembentukan inokulum dilakukan untuk memperbanyak jumlah ragi sehingga mencukupi kebutuhan bahan pada percobaan. Pembentukan inokulum dilakukan dalam *chemically defined medium* dengan komposisi CaCl₂ 0,005%-w/v, KCl 0,015%-w/v,

MgSO₄·7H₂O 0,05%-w/v, NH₄(SO₄) 0,4%-w/v, yeast extract 0,5%-w/v, dan glukosa 10%-w/v. Medium ini disterilkan dengan *autoclave* dan didinginkan. Setelah dingin, glukosa sebanyak 140 mL dimasukkan ke dalam medium 260 mL, kemudian ragi kering dimasukkan masing-masing sebanyak 3 gram untuk dibiakkan. Campuran ini kemudian diinkubasi pada alat *shaker* selama 17 jam pada temperatur 30°C dan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, medium 130 mL dan glukosa 70 mL dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 1 L dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Setelah inokulum terbentuk, inokulum ragi disentrifuga. Supernatan dipisahkan dari ragi, kemudian ragi dicuci dengan air steril dan disentrifuga kembali. Supernatan kembali dipisahkan, sehingga didapatkan padatan basah ragi.

2.3. Pembuatan *protected active dried yeast*

Pembuatan PADY diawali dengan penyiapan lumpur ragi. Penyiapan lumpur ragi diawali dengan membentuk campuran *carrier* (maltodekstrin 5%-w/v) dan antioksidan. Dalam kasus ini, terdapat dua jenis antioksidan, yaitu antioksidan yang larut dalam air dan larut dalam minyak. Untuk antioksidan yang larut dalam air, antioksidan dapat langsung ditambahkan pada larutan maltodekstrin 5%-w/v yang telah disterilkan menggunakan alat *autoclave* pada temperatur 121°C. Sementara itu, untuk antioksidan yang larut dalam minyak, antioksidan tersebut terlebih dahulu dicampurkan ke dalam 2 mL minyak jagung. Campuran tersebut kemudian ditambahkan ke larutan maltodekstrin 5%-w/v yang telah disterilisasi, dipanaskan hingga temperatur 60°C, dan ditambahkan *emulsifier* sebanyak 2%-w/w *compressed yeast*. Campuran *carrier* dan antioksidan ini kemudian ditambahkan ke dalam *compressed yeast* hingga dihasilkan *yeast cream* yang mengandung 10% padatan ragi. Hasil campuran ini merupakan lumpur ragi yang siap untuk dikeringkan.

Pengeringan dilakukan dengan *spray dryer* skala laboratorium. Lumpur ragi dan udara pengering masuk ke ruang pengeringan dengan aliran *co-current*. Laju aliran yang digunakan adalah 200 mL/jam dan temperatur pemanas yang digunakan adalah 80°C.

2.4. Pengujian karakteristik *protected active dried yeast*

Pengaruh penambahan berbagai jenis formulasi antioksidan diamati melalui stabilitas vitalitas PADY selama masa penyimpanan. Vitalitas ragi diukur dengan membiakkan ragi pada pelat agar, kemudian menghitung koloni yang terbentuk. Pertama-tama, sebanyak 0,1 gram sampel ragi kering dilarutkan dalam pengencer berupa air garam steril hingga mencapai volume 10 mL. Larutan ragi tersebut dianggap sebagai sampel dengan pengenceran 10¹. Kemudian sampel diencerkan kembali 10²-10⁹ kali menggunakan air garam steril lalu disebarkan dalam cawan petri yang telah diisi *potato dextrose agar* (PDA). Sampel dalam agar kemudian diinkubasi selama tiga hari pada temperatur 30°C. Vitalitas ragi ditunjukkan oleh jumlah koloni yang terbentuk setelah inkubasi.

Perhitungan total koloni kemudian dilakukan menggunakan persamaan (1), dimana N adalah total koloni dan V adalah volume sampel.

$$N = \frac{\text{Jumlah koloni pada agar}}{\text{(faktor pengenceran} \times \text{V sampel agar} \times \text{massa sampel)}} \quad (1)$$

Selanjutnya, kurva antara log(N/N₀) terhadap waktu diregresikan membentuk persamaan linier y=kx, dengan k merupakan konstanta kematian ragi. Variasi PADY dengan nilai k yang rendah berarti memiliki nilai stabilitas vitalitas yang lebih baik.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil uji inhibisi antioksidan

Uji inhibisi antioksidan terhadap ragi dilakukan untuk memastikan bahwa antioksidan yang digunakan tidak menghambat pertumbuhan ragi. Inhibisi pada ragi ditentukan dengan mengukur laju produksi CO₂. Antioksidan yang digunakan adalah asam askorbat, natrium eritrat, askorbil palmitat, asam sitrat, tokoferol, dan BHT. Gambar 1 menunjukkan hasil uji inhibisi antioksidan terhadap ragi serta perbandingannya terhadap kontrol positif (tanpa antioksidan).

Laju produksi CO₂ pada uji inhibisi menggunakan antioksidan asam askorbat menunjukkan penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi asam askorbat hingga 0,2% dan cenderung sama seiring dengan peningkatan konsentrasi hingga 0,5%. Meskipun terdapat penurunan, namun hasil uji statistik menggunakan *one-way ANOVA* menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan terhadap kontrol positif, sehingga dapat disimpulkan bahwa laju produksi CO₂ pada setiap variasi konsentrasi asam askorbat cenderung sama. Fenomena yang sama terjadi pada variasi dengan antioksidan natrium eritrat, di mana dari hasil uji statistik tidak terdapat perbedaan signifikan dari masing-masing konsentrasi terhadap kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa asam askorbat dan natrium eritrat bukan merupakan inhibitor.

Tidak seperti variasi antioksidan yang sebelumnya, terdapat perbedaan yang cukup signifikan pada variasi uji inhibisi menggunakan askorbil palmitat, yaitu pada konsentrasi 0,025% dan 0,1% (yang bertanda bintang), dengan laju produksi CO₂ dari kedua variasi konsentrasi berada di bawah kontrol positif. Aktivitas antioksidan dari askorbil palmitat kurang lebih sama dengan asam askorbat (Mäkinen dkk, 2001), namun efek yang ditimbulkan bergantung kepada sistem. Asam askorbat yang larut dalam air memberikan laju produksi CO₂ yang lebih tinggi daripada askorbil palmitat yang tidak larut dalam air. Askorbil palmitat memiliki efek yang lebih besar pada sistem emulsi, sedangkan asam askorbat memiliki efek yang lebih besar pada sistem nonemulsi (Frankel dkk, 1994). Meskipun *emulsifier* digunakan pada sistem untuk uji inhibisi dari antioksidan yang tidak larut dalam air, namun sistem tidak tercampur secara homogen, menyebabkan terbentuknya dua fasa setelah suspensi dibiarkan beberapa saat. Fasa minyak yang berada di atas menyebabkan suplai oksigen untuk ragi

berkurang, sehingga CO₂ yang terbentuk juga sedikit. Hal ini juga menjelaskan fenomena rendahnya laju produksi CO₂ pada variasi dengan BHT, di mana laju produksi pada konsentrasi rendah (0,1%) memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif. Selain itu, secara keseluruhan laju produksi CO₂ pada setiap konsentrasi bernilai lebih rendah daripada kontrol positif. Fenomena ini terjadi karena terbentuknya dua fasa dengan fasa minyak berada di bagian atas, sehingga suplai oksigen berkurang dan laju produksi CO₂ menjadi sedikit.

Pada variasi menggunakan antioksidan asam sitrat, laju produksi CO₂ cenderung tidak berbeda pada konsentrasi asam sitrat 0,025%, 0,1%, dan 0,2%. Laju produksi CO₂ cenderung mengalami kenaikan pada

konsentrasi 0,3%, 0,4%, dan 0,5%. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,4% terhadap kontrol positif. Meskipun terdapat perbedaan signifikan, namun laju produksi laju produksi CO₂ bernilai lebih dari laju produksi CO₂ pada kontrol, sehingga fenomena tersebut bukan merupakan inhibisi. Hal yang sama dapat dilihat pada variasi menggunakan tokoferol, di mana nilai laju produksi CO₂ yang memiliki perbedaan signifikan terhadap kontrol positif hanya pada konsentrasi 0,5%. Meskipun terdapat perbedaan signifikan, namun laju produksi CO₂ pada variasi tokoferol lebih besar dari laju produksi CO₂ pada kontrol positif, sehingga fenomena tersebut bukan merupakan inhibisi.

Gambar 1. Hasil uji inhibisi antioksidan (*error bar* menunjukkan standar *error* dari tiga replikasi)

Setelah melakukan uji inhibisi dengan berbagai antioksidan, nilai laju produksi CO₂ dari masing-masing antioksidan kemudian saling dibandingkan menggunakan diagram *box & whisker*. Gambar 2 menunjukkan diagram *box & whisker* dari laju produksi CO₂.

Laju produksi CO₂ dari masing-masing variasi antioksidan kemudian dibandingkan dengan laju produksi CO₂ pada kontrol positif (variasi tanpa antioksidan) dan kontrol negatif (variasi tanpa antioksidan dan menggunakan air panas). Gambar 2 menunjukkan bahwa pada variasi dengan antioksidan tokoferol dan asam sitrat, laju produksi CO₂ lebih tinggi daripada variasi kontrol positif, sedangkan variasi dengan antioksidan natrium eritorbat, asam askorbat, askorbil palmitat, dan BHT memiliki laju produksi CO₂ lebih rendah daripada variasi kontrol positif. Perbandingan antar antioksidan yang dilakukan belum tentu sebanding, karena pada antioksidan yang tidak larut dalam air (BHT, askorbil palmitat, dan tokoferol), minyak nabati (berupa minyak jagung) dan *emulsifier* (berupa monogliserida) ditambahkan pada sistem untuk membantu melarutkan antioksidan, sedangkan antioksidan yang larut dalam air tidak menggunakan minyak dan *emulsifier*.

Meskipun terdapat perbedaan pada nilai laju produksi CO₂, namun hasil uji statistik menggunakan metode *one-way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara laju produksi CO₂ dari sebagian besar variasi antioksidan terhadap kontrol positif. Variasi yang menunjukkan sifat inhibisi hanya variasi dengan antioksidan askorbil palmitat dan BHT. Sehingga dari hasil uji inhibisi, dapat disimpulkan bahwa antioksidan asam askorbat, natrium eritorbat, asam sitrat, dan tokoferol tidak bersifat inhibisi pada ragi, sedangkan antioksidan askorbil palmitat dan BHT perlu diteliti lebih lanjut apakah sifat inhibisi yang ditunjukkan pada penelitian ini memang berkaitan dengan sistem emulsi/nonemulsi.

Variasi antioksidan yang dipilih untuk percobaan selanjutnya adalah antioksidan yang memiliki laju produksi CO₂ tertinggi. Tokoferol dan asam sitrat dipilih karena keduanya memiliki laju produksi CO₂

yang lebih tinggi dari kontrol positif, sedangkan antioksidan ketiga yang dipilih adalah asam askorbat. Meskipun asam askorbat dan natrium eritorbat memiliki nilai laju produksi CO₂ yang hampir sama besar, namun asam askorbat dipilih karena nilainya lebih stabil pada setiap konsentrasi. Selain itu, asam askorbat juga lebih banyak digunakan secara umum dan mudah didapatkan. Sedangkan BHT tetap digunakan pada percobaan selanjutnya sebagai kontrol positif.

Konsentrasi antioksidan yang dipilih adalah 0,5% karena hampir semua variasi antioksidan memiliki tren laju produksi CO₂ yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Dari ketiga antioksidan yang terpilih, hanya asam askorbat yang memiliki tren laju produksi menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi, namun hal tersebut dapat diabaikan karena tidak terdapat perbedaan signifikan dari hasil uji statistik. Selain itu, konsentrasi yang digunakan bernilai sama untuk setiap antioksidan agar variabel yang mempengaruhi hasil hanya satu, yaitu jenis antioksidan.

Gambar 2. Diagram *box & whisker* dari laju produksi CO₂ dari setiap variasi antioksidan

Tabel 1. Hasil pengamatan proses dan produk pengeringan ragi dengan *spray dryer*

Parameter	BHT 0,5%	Tokoferol 0,5%	Asam askorbat 0,5%	Asam sitrat 0,5%
Kelarutan antioksidan dalam lumpur ragi	Lebih tidak larut	Kurang larut	Larut	Larut
Kelarutan ragi kering dalam air	Kurang larut	Kurang larut	Lebih mudah larut	Lebih mudah larut
Warna produk ragi kering	Krem muda	Krem muda	Krem muda	Krem muda
Perbedaan warna ragi kering terhadap kontrol positif (ΔE)	N/A	1,34	1,87	2,83
Bentuk produk ragi kering	Campuran serbuk dan granula halus yang mudah hancur	Campuran serbuk dan granula besar yang mudah hancur	Campuran serbuk dan granula halus yang mudah hancur	Campuran serbuk dan granula halus yang mudah hancur
Kadar air dalam ragi kering	7,23%	6,83%	6,71%	6,68%

3.2. Hasil pengeringan ragi

Sesuai dengan hasil uji inhibisi, produksi PADY dilakukan dengan tiga formulasi antioksidan, yaitu asam sitrat 0,5%, tokoferol 0,5%, dan asam askorbat 0,5%. Sebagai kontrol, akan diproduksi pula ragi kering dengan antioksidan BHT 0,5% yang merupakan antioksidan konvensional ragi kering. Tabel 1 menunjukkan hasil pengamatan proses dan produk pengeringan ragi dengan *spray dryer*.

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan kelarutan pada proses pembuatan lumpur ragi. Perbedaan ini disebabkan karena adanya perbedaan sifat kelarutan antioksidan. BHT dan tokoferol memiliki sifat larut dalam minyak sehingga sulit larut dalam lumpur ragi yang sebagian besar berisi air, walaupun telah dibantu dengan penambahan *emulsifier*. Sementara itu, asam askorbat dan asam sitrat memiliki sifat larut dalam air sehingga mudah menyatu dalam lumpur ragi.

Antara variasi antioksidan yang larut dalam minyak dan larut dalam air memiliki perbedaan perlakuan dalam pembuatan lumpur ragi. Pada variasi antioksidan yang larut dalam minyak, antioksidan akan dilarutkan terlebih dahulu ke dalam minyak jagung, barulah kemudian ditambahkan ke dalam campuran air, maltodekstrin, dan *emulsifier* yang dipanaskan hingga temperatur 60°C. Sementara itu, pada variasi antioksidan yang larut dalam air, antioksidan akan langsung ditambahkan ke dalam campuran air dan maltodekstrin. Perbedaan sistem ini mungkin akan menimbulkan pengaruh pada hasil lumpur ragi dan produk ragi kering yang diperoleh. Penambahan *emulsifier* berupa monogliserida dapat menambah jumlah padatan dalam PADY yang dihasilkan sehingga dapat menurunkan jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* per massa PADY. Selain itu, *emulsifier* yang memiliki warna putih tulang juga mungkin membuat warna PADY menjadi lebih terang. Akan tetapi, perbedaan-perbedaan ini diperkirakan tidak signifikan karena penggunaan *emulsifier* hanya sebesar 2%-w/w *compressed yeast*.

Dari Tabel 1 dapat dilihat juga bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada sifat fisik, baik warna, bentuk, maupun kadar air, dari ragi dengan berbagai variasi formulasi antioksidan. Hal ini disebabkan karena penggunaan antioksidan pada pembuatan ragi kering sangatlah kecil, yaitu hanya 0,5% dari massa *compressed yeast* hasil sentrifugasi.

Untuk parameter warna, nilai ΔE menunjukkan seberapa berbeda warna dari sampel terhadap acuan. Dengan acuan berupa kontrol positif (variasi BHT 0,5%), nilai ΔE dari variasi tokoferol dan asam askorbat berada pada rentang 1-2. Angka ini menunjukkan bahwa jika dibandingkan dengan kontrol positif, warna ragi kering pada variasi tokoferol dan asam askorbat dapat dibedakan melalui observasi dekat. Nilai ΔE dari variasi asam sitrat adalah 2,83 yang berada pada rentang 2-10, namun lebih dekat ke batas bawah yaitu 2. Angka ini menunjukkan bahwa warna ragi kering pada variasi asam sitrat dapat dibedakan melalui observasi sekilas. Warna ragi kering pada variasi tersebut lebih dapat dibedakan dari kontrol positif dibandingkan dengan variasi lain,

namun perbedaan ini tidak terlalu jauh. Secara keseluruhan warna dari ragi kering tersebut cukup mirip.

Untuk parameter kadar air, diperoleh hasil nilai kadar air dari seluruh ragi kering berada pada rentang 6,6-7,2%. Hasil ini masuk ke dalam rentang kadar air ragi kering menurut Bayrock (1997), yaitu 5-8%. Artinya, produk ragi kering ini memiliki kadar air yang sesuai dengan standar.

Berdasarkan sifat fisik ragi kering, variasi yang terbaik adalah variasi dengan antioksidan asam askorbat dan asam sitrat. Hal ini ditinjau dari sifat kelarutan ragi, di mana ragi dengan antioksidan asam askorbat dan asam sitrat lebih mudah larut daripada ragi dengan antioksidan BHT dan tokoferol. Selain itu, ragi kering dengan antioksidan asam askorbat dan asam sitrat memiliki bentuk lebih halus daripada ragi kering dengan antioksidan BHT dan tokoferol. Bentuk yang halus lebih mudah untuk digunakan dalam pembuatan roti karena lebih mudah untuk ditakar dan dicampurkan. Kadar air yang terkandung dalam variasi tersebut juga masih sesuai dengan standar.

3.3. Hasil uji umur simpan ragi kering

Perbandingan umur simpan antar variasi ragi kering diperkirakan melalui pengukuran ketahanan kualitas ragi selama 45-50 hari penyimpanan. Ketahanan kualitas ragi yang tinggi ditandai dengan rendahnya laju penurunan vitalitas ragi setiap waktunya. Hasil laju penurunan vitalitas untuk ragi dengan variasi antioksidan asam sitrat 0,5%, asam askorbat 0,5%, tokoferol 0,5%, dan BHT 0,5% dapat dilihat pada Gambar 3.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa vitalitas ragi mengalami penurunan di setiap waktunya. Hal ini dikarenakan adanya kelebihan radikal bebas oksigen yang sangat reaktif yang biasa disebut sebagai *reactive oxygen species* (ROS) pada sel ragi (*Saccharomyces cerevisiae*). Pembentukan ROS paling banyak terjadi pada mitokondria, yaitu bagian sel yang berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi untuk menghasilkan energi (Nohl dkk. (2003); Turrens (2003); Halliwell dan Whiteman (2004) di Herrero dkk. (2008); Finkel dan Holbrook (2000); Sheu dkk. (2006) di Eleutherio dkk. (2018); dan Ahmad (2012)). Jumlah ROS yang berlebih dalam sel akan memicu kondisi *oxidative stress* yang dapat merusak protein, lemak, dan DNA sel yang akhirnya mengarah pada kerusakan sel (Finkel dan Holbrook (2000); Harman (2006) di Eleutherio dkk. (2018); Lobo dkk. (2010); dan Jamieson (1998)). Untuk menyeimbangkan jumlah ROS dalam sel ragi, diperlukan sistem perlindungan dari antioksidan. Secara alami, antioksidan diproduksi oleh sel sendiri. Namun, untuk meningkatkan adaptasi ragi terhadap *oxidative stress* yang membahayakan, biasanya ditambahkan antioksidan eksternal (Fernandes dkk. (2007) di Eleutherio dkk. (2018)). Antioksidan eksternal yang biasanya ditambahkan ke ragi roti adalah butil hidroksi anisol (BHA) dan butil hidroksi toluena (BHT). Perbandingan laju penurunan vitalitas ragi dengan berbagai variasi formulasi antioksidan terhadap ragi dengan antioksidan BHT sebagai kontrol dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 3. Grafik penurunan vitalitas untuk tiap variasi ragi kering

Gambar 4. Grafik perbandingan konstanta laju kematian

Konstanta laju kematian menggambarkan seberapa besar tingkat kematian ragi selama masa penyimpanan. Dari Gambar 4 dapat diperhatikan bahwa konstanta kematian ragi dengan antioksidan asam askorbat dan asam sitrat lebih rendah dibanding tokoferol dan BHT. Hal ini dikarenakan perbedaan sifat kelarutan antar kedua kelompok antioksidan tersebut. Asam askorbat dan asam sitrat memiliki sifat larut dalam air, sementara tokoferol dan BHT memiliki sifat larut dalam lemak. Sifat kelarutan dalam air sangat penting pada proses produksi ragi kering menggunakan *spray dryer*. Berbeda dengan metode produksi ragi konvensional dimana cairan antioksidan disemprotkan pada *compressed yeast* kemudian diekstrusi, antioksidan pada metode produksi ragi dengan *spray dryer* harus ditambahkan pada suspensi ragi, dimana saat pengeringan suspensi ragi tidak dicampurkan secara intensif. Oleh karena itulah,

kemungkinan kehilangan antioksidan yang tidak larut dalam air lebih besar dibanding yang larut dalam air.

Dari Gambar 4, dapat dilihat juga bahwa ragi dengan antioksidan tokoferol memiliki konstanta laju kematian yang lebih tinggi dibanding kontrol BHT. Hal ini dapat terjadi karena sifat prooksidasi dari tokoferol pada konsentrasi yang tinggi. Sifat prooksidasi ini disebabkan karena mekanisme kerja tokoferol sebagai antioksidan. Salah satu mekanisme kerja tokoferol adalah dengan menangkap alkil peroksi radikal sehingga dihasilkan tokoferol radikal. Pada konsentrasi yang sangat tinggi, tokoferol radikal yang dihasilkan akan bereaksi dengan lipid peroksi radikal membentuk tokoferol peroksida sehingga tidak ada perubahan jumlah radikal (Liebler dkk., 1990). Saat hal tersebut terjadi, tokoferol tidak bekerja sebagai antioksidan. Selain itu, menurut Lam dkk. (2010), penambahan tokoferol pada ragi dapat meningkatkan *oxidative stress*.

Selain itu, Gambar 4 juga menunjukkan bahwa ragi yang ditambahkan antioksidan asam askorbat memiliki konstanta kematian yang lebih rendah dibanding ragi yang ditambahkan antioksidan asam sitrat. Hal ini dikarenakan mekanisme antioksidan dari asam askorbat yang lebih umum dibanding asam sitrat. Asam askorbat dapat berperan sebagai antioksidan secara langsung dengan bereaksi dengan radikal peroksidil maupun secara tidak langsung dengan memperbaiki sifat antioksidan dari vitamin E (Bendich dkk., 1986), sementara asam sitrat bekerja sebagai penangkap ion metal dan hanya efektif manakala ada kehadiran ion metal (Hudson, 1990).

3.4. Pemilihan formulasi antioksidan terbaik

Berdasarkan sifat fisik ragi kering, variasi yang terbaik adalah variasi dengan antioksidan asam askorbat dan asam sitrat. Hal ini ditinjau dari sifat kelarutan ragi, bentuk granula yang lebih halus, serta kadar air yang masih masuk ke dalam standart. Sementara itu, dari seluruh pembahasan terkait uji umur simpan, dapat disimpulkan bahwa formulasi antioksidan yang memberikan konstanta laju kematian terendah adalah asam askorbat 0,5%. Rendahnya konstanta laju kematian ini menunjukkan bahwa asam askorbat 0,5% memberikan performa terbaik sebagai antioksidan dalam menjaga kualitas ragi selama masa penyimpanan. Dengan konstanta laju kematian 0,0492/hari dan asumsi ragi dapat disimpan hingga vitalitas mencapai 10% dari vitalitas ragi awal, maka umur simpan ragi kering dengan antioksidan asam askorbat diperkirakan dapat mencapai 20 hari. Umur simpan tersebut cukup rendah disebabkan temperatur pengeringan yang digunakan bukan temperatur optimum yaitu 70°C (Purwadi dkk., 2008a; 2008b), melainkan 80°C. Hal ini disebabkan karena adanya kendala pada pengaturan kondisi *spray dryer*.

Karena memiliki sifat fisik dan umur simpan yang baik, ragi kering dengan antioksidan asam askorbat 0,5% berpotensi untuk diterapkan pada pembuatan PADY. Jika asam askorbat digunakan sebagai pengganti BHT pada pembuatan PADY, maka harga PADY kemungkinan besar akan naik, mengingat harga asam askorbat lebih mahal dari harga BHT, yaitu Rp 220.000,00/kg, sedangkan harga BHT sebesar Rp 110.000,00/kg. Namun

peningkatan harga tidak akan terlalu signifikan, karena antioksidan yang dibutuhkan untuk memproduksi PADY hanya sebanyak 0,011 g antioksidan/g PADY.

4. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan yang telah dipaparkan di atas, kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah pada konsentrasi 0,5%, asam askorbat menunjukkan performa yang lebih unggul dalam melindungi ragi kering dibandingkan antioksidan-antioksidan lain. Hal ini dilihat dari sifat inhibisi, sifat fisik, dan umur simpan. Asam askorbat tidak bersifat inhibisi pada ragi dan memiliki tren laju produksi CO₂ meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Dari segi sifat fisik, variasi PADY dengan asam askorbat 0,5% memiliki sifat kelarutan dalam air yang lebih baik serta bentuk granula lebih halus. Dari segi umur simpan, variasi PADY dengan asam askorbat 0,5% memiliki umur simpan yang lebih baik dilihat dari laju kematian ragi yang lebih rendah dibandingkan dengan variasi lain.

Daftar Notasi

k	: konstanta kematian [hari ⁻¹]
m	: massa ragi [g]
N	: jumlah koloni [CFU/g]
V	: volume sampel [mL]

Subskrip

0	: jumlah awal
---	---------------

Daftar Pustaka

Ahmad, S., *Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology*. New York: Chapman & Hall, 2012.

Bayrock, D.; Ingledew, W.M., Fluidized Bed Drying of Baker's Yeast: Moisture Levels, Drying Rates, and Viability Changes During Drying. *Food Research International*, 1997, **30**, 407–415.

Bendich, A.; Machlin, L.J.; Scandurra, O., The Antioxidant Role of Vitamin C. *Free Radical Biology & Medicine*, 1986, **2**, 419–444.

Eleutherio, E.; Brasil, A.A.B.; França, M.B.; Almeida, D.S.; Rona, G.B.; Magalhães, R.S.S., Oxidative Stress and Aging: Learning from Yeast Lessons. *Fungal Biology*, 2018, **122**(6), 514–525.

Fernandes, P.N.; Mannarino, S.C.; Silva, C.G.; Pereira, M.D.; Panek, A.D.; Eleutherio, E.C.A., Oxidative Stress Response in Eukaryotes: Effect of Glutathione, Superoxide Dismutase and Catalase on Adaptation to Peroxide and Menadione Stresses in *Saccharomyces cerevisiae*. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*, 2007, **12**, 236–244.

Finkel, T.; Holbrook, N.J., Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing. *Nature*, 2000, **408**, 239–247.

Frankel, E.; Huang, S.; Kanner, J.; German, J., Interfacial Phenomena in The Evaluation of Antioxidants: Bulk Oils

vs. Emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1994, **42**, 1054–1059.

Fuller, A.V., A Modified Form of the Smith Fermentation Tube. *Industrial & Engineering Chemistry*, 1920, **12**(6), 595–595.

Halliwell, B.; Whiteman, M., Measuring Reactive Species and Oxidative Damage in Vivo and in Cell Culture: How Should You Do It and What Do the Results Mean?. *British Journal of Pharmacology*, 2004, **142**, 231–255.

Harman, D., *Free Radical Theory of Aging: An Update—Increasing the Functional Life Span*. New York: Annals of the New York Academy of Sciences, 2006.

Herrero, E.; Ros, J.; Belli, G.; Cabisco, E., *Redox Control and Oxidative Stress in Yeast Cells*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2008, **1780**, 1217–1235.

Hudson, B.J.F., *Food Antioxidant*. New York: Elsevier Science Publishers, 1990.

Jamieson, D.J., Oxidative Stress Responses of Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1998, **14**, 1511–1527.

Lam, Y.T.; Stocker, R.; Dawes, I.W., The Lipophilic Antioxidants Alpha-tocopherol and Coenzyme Q10 Reduce The Replicative Lifespan of *Saccharomyces cerevisiae*. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, **49**, 237–244.

Lee, B.H., *Fundamentals of Food Biotechnology*, 2nd ed. West Sussex: Wiley Blackwell, 2015.

Liebler, D.C.; Baker, P.F.; Kaysen, K.L., Oxidation of Vitamin E: Evidence for Competing Autoxidation and Peroxyl Radical Trapping Reaction of the Tocopheroxy Radical. *Journal of the American Chemical Society*, 1990, **112**, 6995–7000.

Lobo, V.; Patil, A.; Phatak, A.; Chandra, N., Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacognosy Reviews*, 2010, **4**, 118–126.

Mäkinen, M.; Kähkönen, M.; Hopia, A., Ascorbic Acid and Ascorbyl Palmitate Have Only Minor Effect on the Formation and Decomposition of Methyl Linoleate Hydroperoxides. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2001, **103**(10), 683–687.

Nohl, H.; Kozlov, A.V.; Grille, L.; Staniek, K., Cell Respiration and Formation of Reactive Oxygen Species: Facts and Artefacts. *Biochem. Soc. Trans.*, 2003, **31**, 1308–1311.

NPCS Boards of Consultants & Engineers, *Handbook on Fermented Foods and Chemicals*. New Delhi: Asia Pacific Business Press Inc., 2011.

Purwadi, R.; Rizkiana, J.; Mulyono, M.P., *Pengeringan Ragi : Pengaruh Penambahan Emulsifier Terhadap Kualitas Ragi Kering*. Skripsi Sarjana, Institut Teknologi Bandung, 2008a.

Purwadi, R.; Stefanie, P.; Nicko, *Production of Dry Baker's Yeast*. Skripsi Sarjana, Institut Teknologi Bandung, 2008b.

Sheu, S.S.; Nauduri, D.; Anders, M.W., Targeting Antioxidants to Mitochondria: A New Therapeutic Direction. *Biochimica et Biophysica Acta–Molecular Basis of Disease*, 2006, **1762**, 256–265.

Soares, D.G.; Adreazza, A.C.; Salvador, M., Sequestering Ability of Butylated Hydroxytoluene, Propyl Gallate, Resveratrol, and Vitamins C and E against ABTS, DPPH, and Hydroxyl Free Radical in Chemical and Biological Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, **51**, 1077–1080.

Turrens, J.F., Mitochondrial Formation of Reactive Oxygen Species. *The Journal of Physiology*, 2003, **552**, 335–344.

Verachtert, H.; Mort, R.D., *Yeast: Biotechnology and Biocatalysis*. New York: Marcel Dekker, 1990.