

IDENTIFIKASI DIVERSITAS MIKROBA PADA PANGAN ROTI *EXPIRED* DAN *NON-EXPIRED*

Ira Rahmawati*, Labibah Fatihatu hanin, Muhimatul Umami

¹ Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung

Jl. A. H. Nasution No 105 Cibiru Bandung, Jawa Barat, Indonesia

e-mail: irarahmawati@gmail.com, labibahfhanin@gmail.com, muhimatul.umami@uinsgd.ac.id

Abstract

This study aims to identify microbial biodiversity in bread that has not passed its expiration date (non-expired) and that has passed its expiration date (expired). The research methods include microbial isolation, colony morphology identification, Gram staining, biochemical tests (sugar, catalase, motility, and oxidative-fermentative tests), Shannon Wiener Index used for diversity analysis. The results showed that microbes in expired bread tend to be more varied than non-expired bread, The number of colonies increases with the length of the 4, 6, and 8-day expiry periods of the expired period with a total of colonies 4, 405, and 3396. Gram staining showed the dominance of Gram-negative bacteria, although Gram-positive bacteria were also found. Biochemical test analysis revealed the dominant glucose fermentation ability in all colonies. Based on the diversity analysis, the highest level of microbial diversity was found in 8-day expired bread with an index of 0.67, while non-expired bread had an index of 0.56. These findings emphasize the importance of paying attention to the expiration date of bread to prevent microbial contamination that is potentially harmful to health.

Keyword : *Biodiversity; bread; expired; microorganism*

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi biodiversitas mikroba pada roti yang belum melewati masa kedaluwarsa (*non-expired*) dan yang telah melewati masa kedaluwarsa (*expired*). Metode penelitian meliputi isolasi mikroba, identifikasi bentuk koloni, pewarnaan, uji biokimia (uji gula, katalase, motilitas, dan oksidatif-fermentatif), serta analisis keanekaragaman menggunakan indeks Shannon-Wiener. Hasil menunjukkan bahwa mikroba pada roti *expired* cenderung lebih bervariasi dibandingkan roti *non-expired*, jumlah koloni meningkat seiring lamanya masa kedaluwarsa 4, 6 dan 8 hari masa *expired* dengan jumlah koloni 4, 405, dan 3396. Pewarnaan Gram menunjukkan dominasi bakteri Gram negatif, meskipun bakteri Gram positif juga ditemukan. Analisis uji biokimia mengungkapkan kemampuan fermentasi glukosa yang dominan pada semua koloni. Berdasarkan analisis keanekaragaman, tingkat keanekaragaman mikroba tertinggi ditemukan pada roti *expired* 8 hari dengan indeks 0.67, sementara roti *non-expired* memiliki indeks 0.56. Temuan ini menegaskan pentingnya memperhatikan masa kedaluwarsa roti untuk mencegah kontaminasi mikroba yang berpotensi berbahaya bagi kesehatan.

Kata kunci : *Biodiversitas, roti; kadaluwarsa; mikroorganisme*

1. PENDAHULUAN

Roti merupakan makanan yang dikenal luas dan juga diminati oleh masyarakat umum. Kandungan roti dalam bentuk karbohidrat dapat menjadi pengganti sumber

energi praktis. Roti sebagai alternatif sumber karbohidrat yang sudah cukup populer di Indonesia. Penelitian yang dilakukan oleh (Ridhani *et al.*, 2021) Menyebutkan bahwa kandungan gizi dalam roti menjadi sumber energi yang baik untuk tubuh. Pergeseran pola konsumsi masyarakat ini menjadi perhatian penting karena ketahanan roti yang dapat dikatakan tidak terlalu lama. beberapa konsumen tidak memperhatikan *expired* dari suatu bahan pangan (Ariyana *et al.*, 2018). Pembuatan roti dilakukan dengan fermentasi untuk membantu roti berkembang dengan baik, pada proses fermentasi biasanya dibantu dengan menambahkan ragi. Mikroorganisme yang terdapat pada ragi adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Ragi mengolah gula menjadi karbon dioksida dan alkohol. Gas karbon dioksida yang terbentuk terperangkap di dalam adonan, membuatnya mengembang dengan sempurna dan menghasilkan tekstur lembut seperti roti (Alviani *et al.*, 2023). Mikroba yang terkandung pada roti secara tidak langsung menjadi bakteri indigenous dari roti itu sendiri, namun pada beberapa saat setelah melewati masa *expired* mikroba menjadi tidak terkendali dan memungkinkan berpotensi hadirnya mikroorganisme yang berbahaya pada roti untuk itu masa *expired* atau ketahanan suatu produk harus sangat diperhatikan. Mikroba bersifat kosmopolit artinya, mereka ada di mana-mana dan dapat beradaptasi serta membentuk mikrobioma di banyak ekosistem berbeda karena keberadaan mikroba yang ada dimana-mana ini perlu diketahui juga keberadaannya di pangan dan perbandingan dengan masa simpannya. Dengan kata lain, mikroorganisme yang berasal dari daerah tropis dapat hidup di daerah subtropis atau dingin selama nutrisi yang dibutuhkan tersedia (Nurmaulawati *et al.*, 2022).

Keamanan pada suatu produk makanan dapat dilihat dari umur simpannya. umur simpan merupakan ketahanan produk makanan yang berhubungan dengan keamanan konsumsi makanan tersebut serta berkaitan erat dengan proses pembusukan, pembusukan dapat disebabkan oleh mikroba, semakin banyak mikroba yang dibunuh dan ditahan pertumbuhannya makan umur simpan pada suatu olahan pangan akan semakin lama. setiap industri makanan wajib menyertakan tanggal kadaluarsa atau

expired date suatu produk tersebut (Rahmawati *et al.*, 2022). Menurut standar nasional indonesia bahan makanan pangan dapat dicemari oleh mikroorganisme yang menyebabkan standar makanan tersebut menjadi tidak layak untuk dikonsumsi dan menimbulkan resiko terhadap kesehatan. Cemaran biologis dapat berupa bakteri, virus, khamir, mikroalga, protozoa dan kapang. Menurut Rafika (2018), kontaminasi mikroorganisme yang melebihi batas aman dapat menyebabkan penyakit berbahaya bagi kesehatan manusia jika dikonsumsi, yang dikenal sebagai *foodborne disease*. Penelitian mengenai kontaminasi mikroba khususnya roti telah banyak dilakukan. Namun, diperlukan penelitian lanjut untuk memahami secara lebih mendalam mengenai diversitas mikroba yang terdapat pada roti expired. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi diversitas mikroba pada roti expired dan non-expired. Dengan memahami jenis dan jumlah mikroba, diharapkan dapat dikembangkan strategi pencegahan dan deteksi kontaminasi yang lebih efektif.

2. METODE PENELITIAN

Metode eksperimental digunakan dalam penelitian ini dengan perlakuan berupa lama waktu *expired* yaitu 0, 4, 6, dan 8 hari dan beberapa uji pada sampel dengan tujuan untuk mengetahui biodiversitas mikroba pada roti yang *expired* dan non-*expired*. langkah pertama melakukan isolasi, identifikasi morfologi, pewarnaan bakteri, motil, katalase dan uji OF (*Oxidatif Fermentatif*).

3.1 Isolasi Mikroba

Isolasi dilakukan dengan melakukan pengenceran bertingkat. 5 tabung reaksi steril 9 ml NaCl fisiologi di isi masing-masing. Kemudian disertakan label pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . 1g roti ditimbang menggunakan neraca analitik dan dihaluskan lalu dimasukkan kedalam tabung pengenceran pertama lalu dihomogenkan menggunakan vortex. diambil 1 ml dari pengenceran pertama dari setiap sampel lalu dimasukkan ke tabung 10^{-1} , hal serupa dilakukan hingga pengenceran 10^{-4} kemudian sampel dari pengenceran dikultur pada media nutrien agar selama 24 jam. Mikroba

yang tumbuh diitung dengan menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*).

3.2 Identifikasi morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan dengan menganalisis koloni pada cawan petri dari setiap sampel yang kemudian disesuaikan dengan buku identifikasi yang tersedia. Setiap koloni diamati bentuk, tepi, tinggi, dan warna setiap koloni, lalu dicatat pada buku pengamatan. menurut (Wulandari *et al.*, 2019). Karakterisasi koloni bakteri dilakukan setelah koloni bakteri diinkubasi pada media NA selama 24 - 48 jam. Pengamatan yang dilakukan meliputi tepian koloni, bentuk koloni, elevasi, permukaan koloni, dan warna koloni.

3.3 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui morfologi bakteri dan sifat Gram bakteri. Pewarnaan Gram menggunakan empat macam cat yakni Gram A (Kristal violet), Gram B (iodine Lugol), Gram C (etanol 96%) dan Gram D (Safranin). Bakteri yang mempunyai sifat Gram positif akan berwarna biru keunguan sedangkan bakteri yang mempunyai sifat Gram negatif berwarna merah (Wulandari *et al.*, 2019).

3.4 Uji Katalase

Uji ini dilakukan dengan pengambilan 1 ose isolat lalu tetesi 1 tetes H₂O₂ (*Hydrogen Peroxide*) selanjutnya diamati ada atau tidaknya gelembung. Adapun menurut (Yuka dkk., 2021) Uji katalase bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. Cara kerja dari uji katalase yaitu dilakukan diatas kaca preparat dengan cara satu tetes H₂O₂ 3% dicampurkan dengan isolat bakteri. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung gas, sedangkan hasil negatif tidak ada gelembung gas.

3.4 Uji Gula

Pengujian gula dalam penelitian ini meliputi glukosa, laktosa, dan sukrosa. Tes ini dilakukan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri memfermentasi gula atau karbohidrat. Uji gula menandakan positif bila warnanya berubah menjadi kekuningan, dan negatif jika warnanya tetap biru.

3.5 Uji Motilitas

Uji motilitas yaitu untuk melihat pergerakan dari bakteri. Pergerakan bakteri dapat dilihat dengan adanya kekeruhan di sekitar tusukan pada media. Uji motilitas dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri ditanam secara tegak lurus di tengah media SWC (*Sea Water Complete*) semi solid. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar, maka bakteri tersebut bergerak (motil) dan bila pertumbuhan bakteri tidak menyebar hanya berupa satu garis, maka bakteri tersebut tidak bergerak (non motil) (Yuka *et al.*, 2021).

3.6 Analisis Keanekaragaman

Analisis keanekaragaman dilakukan dengan menghitung jumlah individu pada setiap perlakuan menggunakan rumus keanekaragaman shannon wiener. dengan Indeks keanekaragaman (H') merupakan suatu angka yang tidak memiliki satuan dengan kisaran 0 – 3 Tingkat keanekaragaman akan tinggi jika nilai H' mendekati 3, sehingga hal ini menunjukkan kondisi keanekaragaman tinggi. Sebaliknya jika nilai H' mendekati 0 maka keanekaragaman rendah (Abdillah *et al.*, 2020). Menurut Karyaningsih & Hendrayana (2021) Untuk mengetahui nilai indeks keanekaragaman dilakukan perhitungan dengan mengacu pada perhitungan Shanon Wiener dengan rumus sebagai berikut :

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

$$H' = -\sum_{i=1}^s [(p_i \ln p_i)]$$

Keterangan :

H' = indeks keragaman

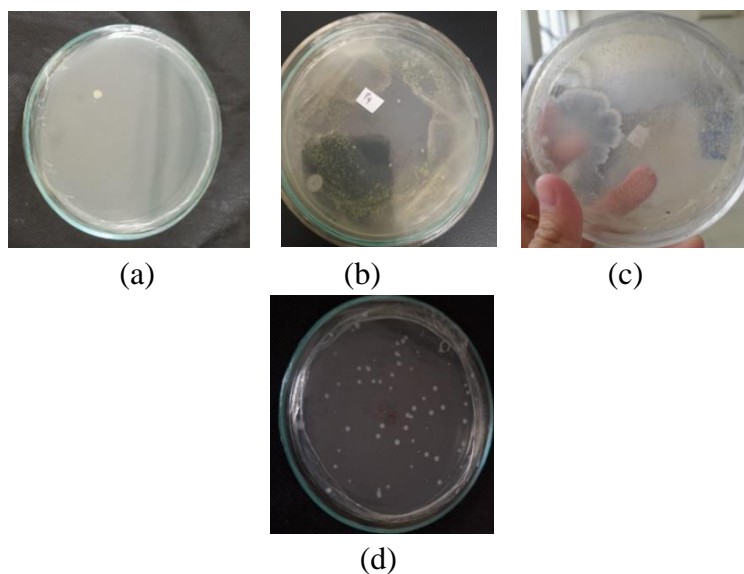
S = jumlah karakter bakteri yang berbeda

N_i = jumlah individu koloni

N = total jumlah individu semua koloni

Nilai keanekaragaman koloni rendah/sedikit jika nilai $H' < 1$. keanekaragaman koloni bakteri pada suatu sampel melimpah sedang Jika nilai $1 \leq H' \leq 3$. Dan Apabila indeks mendekati 3 maka keanekaragaman di suatu sampel tersebut termasuk tinggi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. (a) Isolat *Non-Expired*, (b) Isolat *Expired 4*, (c) Isolat *Expired 6*, (d) Isolat *Expired 8*

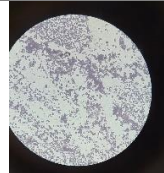
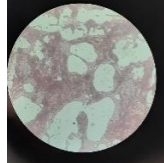
Berdasarkan hasil isolasi mikroba dari 4 sampel dengan masing-masing masa inkubasi selama 48 jam di suhu ruang yaitu 26°C mikroorganisme tumbuh dalam jumlah yang berbeda beda di setiap sampelnya. Sampel 1 yaitu roti yang belum melewati masa *expired* tumbuh 1 koloni bakteri dan ini sesuai dengan hipotesis bahwa pada roti yang belum melewati masa *expired* masih layak untuk dimakan hal ini dapat dilihat dengan tumbuhnya sedikit koloni pada media isolasi. Pada roti *expired* dengan masa lewat 4 hari terlihat tumbuh 2 koloni dengan jumlah rata-rata pada koloni 1 sebesar 13 dan pada koloni 2 sebesar 22. Roti *expired* hari ke-6 ditemukan 4 koloni yang berbeda dari 5 kali pengulangan dengan jumlah yang variatif jumlah koloni 1 (K1) sebanyak 4, Koloni 2 (K2) sebanyak 13, koloni 3 (K3) sebanyak 115 dan koloni 4 (K4) sebanyak 446. Pada sampel roti *expired* hari ke-8 ditemukan 2 koloni dengan jumlah rata-rata yang berebda dari 5 kali pengulangan yaitu K1 sebanyak 456 dan K2 sebanyak 305. Berdasarkan pengamatan jumlah koloni pada setiap perlakuan adalah sampel roti *non-expired* berjumlah 12 koloni (2.4 ± 1.14); sampel roti *expired* hari ke-4 berjumlah 34 koloni (6.8 ± 4.44); sampel roti *expired* hari ke-6 berjumlah 2018 koloni (403.6 ± 29.4); dan sampel roti *expired* hari ke-8 berjumlah 3396 koloni (679.2 ± 108.5).


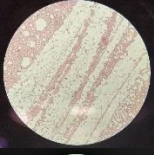
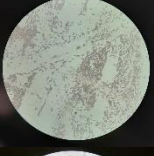

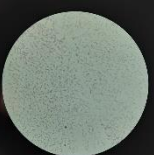
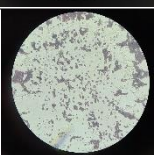
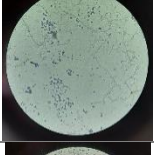
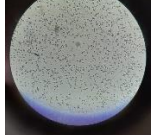
Tabel 1. Karakteristik Morfologi Mikroorganisme

Sampel	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
Roti Exp 4	Filamentous	Branching	Flat	Kuning
	Round	entire	Flat	Putih
Roti Exp 6	Irregular	Erose	Flat	Putih
	Round	Entire	Konvex	Putih
	Round	Entire	Flat	Putih
Roti Exp 8	Flamentous	Branching	Raised	Putih
	Round	Entire	Flat	Putih
	Irregular	Erose	Flat	Putih
Roti Non Exp	Round	Entire	Flat	Kuning
	Irregular	Erose	Flat	Putih

Berdasarkan tabel hasil dari keempat sampel yang diambil di dapatkan 10 koloni dari seluruh sampel roti *non-expired*, *expired* hari ke-4, 6, dan 8 dengan bentuk irregular, bulat, filamentous, Rose, Round. Secara karakteristik morfologi, beberapa koloni memiliki perbedaan dan sebagian besar morfologi antara koloni memiliki persamaan. Adapun identifikasi morfologi dilakukan dengan mengacu pada buku identifikasi yang tersedia.

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram Koloni

Sampel	Kode Isolat	Hasil Pewarnaan Gram	Dokumentasi
Roti Non Exp	K1	Positif	
	K2	Negatif	

Sampel	Kode Isolat	Hasil Pewarnaan Gram	Dokumentasi
Roti Exp 4	K1	Negatif	
	K2	Negatif	
Roti Exp 6	K1	Negatif	
	K2	Negatif	
	K3	Negatif	
	K4	Negatif	
Roti Exp 8	K1	Positif	
	K2	Positif	

Keterangan : K1 = Koloni 1 Exp 4 = Sampel *Expired* Hari ke-4
 K2 = Koloni 2 Exp 6 = Sampel *Expired* Hari ke-6
 K3 = Koloni 3 Exp 8 = Sampel *Expired* Hari ke-8
 K4 = Koloni 4 Non Exp = Sampel Tidak *Expired*

Berdasarkan hasil pewarnaan gram ditemukan bentuk koloni yang dominan yaitu coccus sebanyak 8 koloni dengan sifat gram negatif 5 koloni dan positif 3 koloni serta ditemukan 3 koloni yang berbentuk basil dengan sifat gram Negatif. Koloni gram positif dan gram negatif ditentukan dari perbedaan mikroorganisme tersebut dalam pelarutan warna, koloni gram positif akan melarutkan warna merah atau zat safranin sehingga akan berwarna ungu sedangkan koloni gram negatif akan melarutkan warna ungu atau zat violet sehingga akan berwarna merah. Hal ini sesuai dengan (Aristyawan dkk., 2017) bahwa koloni bakteri Gram positif akan tampak berwarna ungu, sedangkan koloni bakteri Gram negatif akan tampak berwarna merah. Perbedaan warna ini disebabkan oleh variasi struktur dinding sel dan kandungan asam teikoat pada kedua jenis bakteri. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan tebal yang mengandung asam teikoat, sehingga mampu mempertahankan warna ungu dari pewarna kristal violet meskipun terkena alkohol. Sebaliknya, bakteri Gram negatif tidak memiliki asam teikoat, sehingga warna kristal violet terhapus oleh alkohol, dan bakteri ini akan tampak merah setelah diberi pewarna safranin. Berdasarkan literatur, beberapa jenis jamur yang umum ditemukan pada roti yang membusuk meliputi *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.*, *Geotrichum sp.*, serta kemungkinan *Aspergillus sp.* dan jenis jamur lainnya (Sulastina, 2020). Bakteri gram negatif dapat berperan menjadi agen pembusukan roti, penelitian yang dilakukan oleh Thomson (2016) menyebutkan beberapa bakteri yang berperan dalam pembusukan roti termasuk dalam genus *Bacillus* mampu menyebabkan kondisi pembusukan makanan pada roti. Jenis bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium* dan *B. cereus* terlibat dalam melakukan proses tersebut.

Tabel 3. Uji Biokimia

Sampel	Kode Isolat	Uji Gula-Gula			Uji Katalase	Uji Motil	Uji O/F	
		Glukosa	Sukrosa	Laktosa			Parafin	Tanpa Parafin
Exp 4	K1	+	+	-	-	-	-	+
	K2	+	+	-	-	+	-	+
Exp 6	K1	+	+	+	-	-	+	-

Sampel	Kode Isolat	Uji Gula-Gula			Uji Katalase	Uji Motil	Uji O/F	
		Glukosa	Sukrosa	Laktosa			Parafin	Tanpa Parafin
Exp 8	K2	+	+	+	-	-	+	-
	K3	+	-	+	-	-	-	+
	K4	+	+	-	-	-	-	+
	K1	+	-	+	-	-	-	+
Non Exp	K2	+	+	+	-	-	-	-
	K1	+	+	-	-	-	-	+
Non Exp	K2	+	+	+	-	+	-	-

Keterangan :K1 = Koloni 1 Exp 4 = Sampel *Expired* Hari ke-4

K2 = Koloni 2 Exp 6 = Sampel *Expired* Hari ke-6

K3 = Koloni 3 Exp 8 = Sampel *Expired* Hari ke-8

K4 = Koloni 4 Non Exp = Sampel Tidak *Expired*

Uji biokimia dilakukan dengan melakukan beberapa pengujian yaitu uji gula, motilitas, katalase dan fermentatif oksidatif. Berdasarkan data hasil uji biokimia gula-gula rata-rata seluruh koloni bakteri dapat memanfaatkan karbohidrat berupa glukosa sebagai substrat untuk melakukan fermentasi dan metabolismenya hal ini

dibuktikan dengan berubahnya warna media gula glukosa menjadi hijau kekuningan dengan indikator bromtinol biru, berbeda dengan media sukrosa dan laktosa tidak semua koloni mikroba dapat memanfaatkan substrat laktosa dan glukosa dapat di lihat dari tabel dimana pada uji sukrosa dan laktosa tidak semuanya positif hanya koloni bakteri *expired* 6 dan 8 yang menggunakan sukrosa dan laktosa sebagai sumber untuk metabolisme. Menurut Apriyanthi *et al.* (2022), uji gula ini merupakan salah satu uji biokimia untuk isolasi *Escherichia coli* dengan mengukur kemampuan fermentasi karbohidrat bakteri. Uji gula yang digunakan adalah sukrosa, manitol, glukosa, dan sukrosa. Tes fermentasi kembali positif, menyebabkan menguning dan menghasilkan gas. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat memfermentasi karbohidrat.

Hasil Uji katalase tidak ada koloni bakteri yang menunjukkan dapat menghasilkan enzim katalase dan dibuktikan dengan tidak adanya gelembung gas CO₂ yang dihasilkan oleh bakteri setelah penambahan reagen H₂O₂. Menurut Handoko *et al.* (2020) Kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase ditunjukkan dengan

kemampuannya memecah H_2O_2 (hidrogen peroksida) menjadi H_2O (air) dan O_2 (oksigen). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung di sekitar koloni ketika H_2O_2 dijatuhkan ke koloni. Adanya gelembung udara menandakan adanya proses di mana H_2O_2 dipecah oleh enzim katalase yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri sehingga membentuk sistem pertahanan terhadap racun H_2O_2 yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri.

Berdasarkan uji motilitas, dari 10 koloni terdapat dua koloni bakteri yang motil yaitu pada *expired* hari ke-4 dan *non-expired* dan artinya bakteri menggunakan flagel dan fli sebagai alat untuk berpindah tempat. Bakteri dikategorikan motil jika pertumbuhannya menyebar di sekitar area tusukan dan membuat medium menjadi keruh, namun bila pertumbuhan bakteri tetap serta tidak keruh hanya membentuk garis sepanjang tempat tusukan maka bakteri dianggap tidak motil (Aisyah, 2014).

Berdasarkan data pengamatan yang telah dilakukan dari uji O/f yang tidak di lapisi oleh cairan parafin hanya ada satu koloni yang positif yang pada koloni dengan kode isolat K1 Exp-6 kebanyakan koloni tidak dapat memanfaatkan glukosa pada keadaan anaerob hal ini dapat di lihat dengan tidak adanya perubahan yang terjadi pada uji O/f dengan parafin, namun pada beberapa sampel uji o/f tanpa menggunakan parafin terjadi perubahan warna dengan hasil uji positif pada sampel dengan kode isolat K1, K2, K3, K4. Menurut (Suciati *et al.*, 2016) Bakteri pengoksidasi menggunakan glukosa sebagai donor elektron dan oksigen sebagai sumber utama elektron, serta memanfaatkan oksigen untuk menghasilkan karbon dioksida dan air. O/F Jika media uji berwarna biru, berarti bakteri sedang teroksidasi. Bakteri fermentasi menggunakan glukosa sebagai sumber energi untuk mendapatkan berupa produk akhir karbon dioksida dan air. Jika media uji O/F berwarna kuning, berarti bakteri dapat difermentasi.

Tabel 4. Analisis Keanekaragaman Mikroorganisme pada Roti

Komunitas	Spesies	Jumlah Individu	S	N	H'
exp-0	S1	1	2	4	0,56
exp-0	S2	3			
exp-4	S1	13	2	35	0,66
exp-4	S2	22			
exp-6	S1	4	4	578	0,64

Komunitas	Spesies	Jumlah Individu	S	N	H'
exp-6	S2	13			
exp-6	S3	115			
exp-6	S4	446			
exp-8	S1	456	2	761	0,67
exp-8	S2	305			

Keterangan :

H' = indeks keanekaragaman

S = jumlah karakter bakteri yang berbeda

Ni = jumlah individu koloni

N = total jumlah individu semua koloni

Berdasarkan analisis keanekaragaman, data yang menunjukkan tingkat keanekaragaman tertinggi yaitu pada sampel *expired* hari ke-8 dengan indeks keanekaragaman 0.67 sedangkan keanekaragaman rendah ditunjukkan pada data sampel *non-expired* dengan indeks 0.56. Faktor yang mempengaruhi keanekaragaman dapat berupa suhu, kelembaban serta habitat dari lingkungannya tetapi tidak ada perbedaan yang cukup terlihat di antara masing-masing sampel yang diujikan. dan berdasarkan indeks keanekaragaman shannon wiener keanekaragaman mikroba masih dikatakan rendah karena tidak mendekati angka 1 sampai 3.

Hal ini sesuai dengan hipotesis awal yang membuktikan bahwa semakin lama roti tersebut melewati masa *expired* yang telah ditentukan, maka jumlah mikroorganisme yang tumbuh akan sangat memungkinkan lebih banyak bahkan pada roti dengan masa lewat *expired* selama 4 hari pun sudah terbukti dapat tumbuh berbagai macam mikroorganisme dan tidak layak lagi untuk dikonsumsi. Adapun penjelasan oleh (Sulastina, 2020) disebutkan bahwa Kehadiran mikroorganisme yang tumbuh pada bahan makanan memiliki dampak yang signifikan terhadap kerusakan produk yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan seperti keracunan.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian identifikasi biodiversitas mikroba pada roti *non-*

expired dan *expired* menggunakan metode isolasi mikroba, pewarnaan Gram, uji biokimia, serta analisis keanekaragaman yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa mikroba pada roti *expired* lebih beragam dibandingkan roti non-*expired*, dengan tingkat keanekaragaman tertinggi pada roti *expired* 8 hari (indeks keanekaragaman 0.67) dan terendah pada roti non-*expired* (indeks keanekaragaman 0.56), Mikroba Gram-negatif lebih dominan, meskipun beberapa mikroba Gram-positif juga ditemukan, Sebagian besar mikroba mampu memfermentasi glukosa, meskipun tidak semua dapat memanfaatkan sukrosa dan laktosa, faktor seperti suhu dan kelembaban memengaruhi tingkat keanekaragaman mikroba pada sampel roti.

4.2 Saran

Penelitian ini perlu dilakukan analisis mikroba lebih lanjut untuk mengidentifikasi jenis mikroorganisme spesifik yang ditemukan pada roti *expired* dan dampak mikroorganisme tersebut, serta analisis lebih lanjut terkait pengaruh lingkungan eksternal lainnya, seperti paparan udara dan kemasan, terhadap pertumbuhan mikroba pada roti.

5. REFERENSI

- Abdillah, M., Nauval, A., A., & Anwar. (2020). Keanekaragaman Mikroba Tanah di Gunung Anjasmoro, Desa Carangwulung, Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang. *Bioma: Jurnal Biologi Makasar*. 5(2). <http://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Arrizqi A., N., Wahyuni, I., Jannah, M., Oktarisya, T., Islam, R., F., U., & Selatan, S. (2023). Perbandingan Penggunaan Bakteri Asam Laktat dan Ragi Instan pada Proses Fermentasi Roti. *Jurnal Agribisnis Dan Teknologi Pangan*, 4(1), 46–51. <https://doi.org/10.32627>
- Aristyawan, D., A., & Erma, S., N. (2017). Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(1), 39-45.
- Devi, A., M., Amaro, M., Werdiningsih, W., Rien, H., B., & Sri Widyastuti, dan. (2018). *Addition of lactic acid bacteria to improve bread quality, safety, and shelf life*. 2. <http://www.profood.unram.ac.id/index.php/profood>
- Handoko, Y. A., Kristiawan, Y. A., & Agus, Y. H. (2020). Isolasi dan karakterisasi biokimia bakteri pembusuk buah cabai rawit. *Teknologi Pangan :Media Informasi Dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 11(1), 34–41. <https://doi.org/10.35891/tp.v11i1.1881>
- Karyaningsih, I., & Hendrayana, Y. (2021). Keanekaragaman Makrofauna Tanah Nasional

- Gunung Ciremai Blok pasir Batang Desa Karang Sari Kabupaten Kuningan. Pendidikan dan biologi, 13(1), 60-67.
- Rahmawati, L. R., Adlina, S., Yuliana, A., (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Protease Ekstraseluler Dari Limbah Cair Tahu Putih. *Jurnal Ilmiah Baktihusada*. 8 (10).
- Rafika, N. (2018). Tingkat Cemaran Bakteri Escherichia coli Pada Daging Ayam yang dijual di pasar Tradisional Makassar. *Jurnal Biologi Makassar*. 5 (9). <https://doi.org/10.23969/pftj.v8i3.4106>
- Ridhani, M., Prahastiyi Vidyaningrum, I., Nazzala Akmala, N., Fatihatunisa, R., Azzahro, S., Aini, N., Studi Teknologi Pangan, P., Pertanian, J., & Jenderal Soedirman Jalan Soeparno, U. (2021). Potensi Penambahan Berbagai Jenis Gula Terhadap Sifat Sensori dan Fisikokimia Roti Manis: Review. In *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)* 8, (3).
- Nurmaulawati, R., Ayu, S., A., Nata, W., K., Rezaldi, F., Puspita, S., Rosalina, V., (2022). Antimikroba Pada Produk Bioteknologi Farmasi Berupa Sediaan Obat Kumur Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L). *Jifa: Jurnal Ilmiah Farmasi Attamaru*. <https://journal.uim.ac.id/index.php/Attamru>
- Putu, R., V., D., Saka, L., A. W., & Putu, W., N. (2020). Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Gelang Tri Datu Identification Of contaminan Bacteria on Tri Datu Bracelet. *BIOMA : Jurnal Biologi Makassar*. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Suciati, P., Tjahjaningsih, W., Masithah, E. D., & Pramono, D. H. (2018). *Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (Scylla spp.) Sebagai Kandidat Probiotik Activity Enzymatic of Isolate Lactic Acid Bacteria from the Digestive Tract of Mud Crab (Scylla spp.) as a Candidate Probiotics*.
- Sulastina, N. A. (2020). Analisis Jamur Kontaminan Pada Roti Tawar Yang Dijual di Pasar Tradisional. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 5(1). 122-130. <https://doi.org/10.36729/jam.v5i1.318>
- Thompson, J. M., Dodd, C. E. R., & Waites, W. M. (2016). Spoilage of bread by bacillus. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 32(1-3), 55-66. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(93\)90039-5](https://doi.org/10.1016/0964-8305(93)90039-5)
- Wulandari, D., & Purwaningsih. (2019). Identifikasi Karakterisasi Bakteri Amilolitik Pada Umbi Colocasia esculenta L. Secara Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. <http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
- Yuka, R. A., Setyawan, A., & Supono, S. (2021). Identifikasi Bakteri Bioremediasi Pendegradasi Total Ammonia Nitrogen (TAN). *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sains dan Teknologi*, 14(1), 20-29. <https://doi.org/10.21107/jk.v14i1.8499>