

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KHAMIR PADA BUNGA PISANG
KLUTUK (*Musa balbisiana*) SERTA KEMAMPUANNYA DALAM
FERMENTASI KARBOHIDRAT**

SKRIPSI

Oleh :
YODA IKKE FITRIA CITRA
NIM. 14620002



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KHAMIR PADA BUNGA PISANG
KLUTUK (*Musa balbisiana*) SERTA KEMAMPUANNYA DALAM
FERMENTASI KARBOHIDRAT**

SKRIPSI

Oleh:
YODA IKKE FITRIA CITRA
NIM. 14620002

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

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019

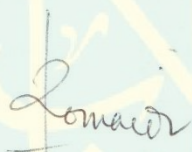
**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KHAMIR PADA BUNGA PISANG
KLUTUK (*Musa balbisiana*) SERTA KEMAMPUANNYA DALAM
FERMENTASI KARBOHIDRAT**

SKRIPSI

Oleh:
YODA IKKE FITRIA CITRA
NIM. 14620002

Telah telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal : 27 Februari 2019

Pembimbing I



Romaidi, M. Si., D, Sc
NIP. 198102012009011019

Pembimbing II



M. Muhklis Fahrudin M. SI
NIPT. 20142011409

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M. Si., D, Sc
NIP. 198102012009011019

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KHAMIR PADA BUNGA PISANG
KLUTUK (*Musa balbisiana*) SERTA KEMAMPUANNYA DALAM
FERMENTASI KARBOHIDRAT**

SKRIPSI

Oleh:
YODA IKKE FITRIA CITRA
NIM. 14620002

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 27 April 2019

Penguji Utama:	Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si	(.....)
	NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji:	Ir. Liliek Harianie AR. M.P	(.....)
	NIP. 19620901 199803 2 001	
Sekretaris Penguji:	Romaidi, M. Si, D.Sc	(.....)
	NIP. 19810201 200901 1 019	
Anggota Penguji:	M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I	(.....)
	NIPT. 201402011409	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si, D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan taufik dan hidayahnya, sehingga penulis bisa menyelesaikan tugas akhir ini. Shalawat dan salam semoga selalu terlimpah curahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Terima kasih saya sampaikan kepada ibu saya Daswati dan bapak saya Suyono yang telah mendidik dan membimbing saya, sehingga saya bisa menjadi seperti saat ini. Adik saya Yoda Nur Wijayanti yang selalu memberikn dukungan kepada saya, semoga selalu berbakti kedua orang tuanya, dan juga menjadi sukses dan berhasil kedepannya.

Tak lupa juga saya sampaikan terima kasih banyak kepada guru –guru saya dari mulai TK sampai jenjang sarjana semoga Allah SWT membalas semua jasa ibu bapak guru, Aamiin. Dan mudah-mudahan semua guru-guru saya yang sudah wafat diampuni segala dosanya dan ditempatkan di tempat yang paling mulia serta mendapatkan ridho dan surga Allah SWT, Aamiin.

Teman-teman Telomer 2014 yang selalu bersama dalam suka dan duka, teman-teman Biologi 2015-2017 yang selalu menyemangati saya, *My Yeast Team* (Achmad Rifky dan Hari Ismail), *My Group* (Dyta K.,Eva Zunia, Dika Dara, Nurul Izzatul, Arina H, Anida R. dan Ely) dan teman-teman yang lain yang tak bisa saya sebutkan semuanya, semoga selalu mendapatkan ridlo Allah SWT, Amiinyaa Robbal ‘Alamiin.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yoda Ikke Fitria Citra
NIM : 14620002
Jurusan/Fakultas : Biologi/Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Isolasi Dan Identifikasi Khamir Pada Bunga Pisang Klutuk
(*Musa Balbisiana*) Serta Kemampuannya Dalam Fermentasi Karbohidrat

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

Malang, Februari 2019

Yang membuat pernyataan,



Yoda Ikke Fitria Citra
NIM. 14620002

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



Isolasi Dan Identifikasi Khamir Pada Bunga Pisang Klutuk (*Musa balbisiana*) Serta Kemampuannya Dalam Fermentasi Karbohidrat.

Yoda Ikke Fitria Citra, Romaidi dan Muhklis Fahrudin

ABSTRAK

Khamir merupakan mikroorganisme uniseluler eukariotik yang memiliki berbagai macam potensi khususnya dalam fermentasi karbohidrat. Eksplorasi khamir pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) perlu dilakukan karena merupakan sumber karbohidrat tertinggi diantara bunga lainnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis khamir yang berasosiasi dengan bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) berdasarkan karakter morfologi dan molekuler serta potensinya dalam fermentasi karbohidrat. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu: isolasi, purifikasi, identifikasi khamir secara makroskopik dan mikroskopik, uji fermentasi karbohidrat dan gula 50%. Isolate khamir dengan kemampuan fermentasi terbaik dipilih untuk identifikasi molekuler dengan menggunakan primer ITS1 dan ITS4. Hasil isolasi dan identifikasi didapatkan 7 (YI-1, YI-2, YI-3, YI-4, YI-5, YI-6 dan YI-7) isolat khamir berdasarkan karakter morfologi dimana semua jenis isolate mempunyai kemiripan dengan anggota kelas *Ascomycetes*. Berdasarkan uji fermentasi karbohidrat (fruktosa, glukosa, dan galaktosa) didapat tiga isolat terbaik yaitu isolat YI-4, YI-6, dan YI-7. Hasil analisa genetika diketahui bahwa isolat YI-4 mempunyai kemiripan dengan *Saccharomyces cerevisiae* strain HBUM07151 (99%), isolat YI-6 dengan *Saccharomyces cerevisiae* isolate E1 (98%), dan isolat YI-7 dengan *Saccharomyces cerevisiae* isolate B-WHX-12-48 (99%).

Kata Kunci: Khamir, bunga pisang klutuk, isolasi, identifikasi morfologi, fermentasi karbohidrat, analisis genetik, *Saccharomyces cerevisiae*

Isolation and Identification of Yeast (Khamir) on the Klutuk Pisang Flower (Musa balbisiana) and The Ability in Carbohydrate Fermentation.

Yoda Ikke Fitria Citra, Romaidi and Muhklis Fahrudin

ABSTRACT

Yeast is eukaryotic unicellular microorganism which has potentials in it, especially in carbohydrate fermentation. Yeast exploration on the klutuk banana flower (Musa balbisiana) needs to be done due to the highest source of carbohydrates among other flowers. The purpose of the research is to determine the type of yeast that is associated with klutuk banana flower (Musa balbisiana) based on morphological and molecular characters and the potentials in carbohydrate fermentation. The research consists of several stages, namely: isolation, purification, identification of yeast macroscopically and microscopically, carbohydrate fermentation test and 50% sugar. Yeast isolate with the best fermentation ability is chosen for molecular identification using primary ITS1 and ITS4. The isolation and identification results obtained 7 (YI-1, YI-2, YI-3, YI-4, YI-5, YI-6 and YI-7) of yeast isolates based on morphological characters in which all isolates have similarities with members of the Ascomycetes class. Based on carbohydrate fermentation tests (fructose, glucose, and galactose) were obtained three best isolates, namely YI-4, YI-6, and YI-7 isolates. Genetic analysis revealed that YI-4 isolate had similarities with *Saccharomyces cerevisiae* strain HBUM 07151 was (99%), YI-6 isolate with *Saccharomyces cerevisiae* isolate E1 was (98%), and YI-7 isolate with *Saccharomyces cerevisiae* isolate B-WHX-12-48 was (99%).

Keywords: yeast, klutuk pisang flower, isolation, morphological identification, carbohydrate fermentation, genetic analysis, *Saccharomyces cerevisiae*

العزل وتحديد خمير للزهرة فيسانج كلوتوك (*Musa balbisiana*) وقدرتها في تخمير الكربوهيدرات.

يودا إيكي فتريا جيترا، رميدي، مخلص فخر الدين

ملخص البحث

خمير هو الكائنات الحية الدقيقة لأحادي الخلية حقيقية النواة الذي له أنواع مختلفة من الإمكانيات خاصة في تخمير الكربوهيدرات. يجب استكشاف الخمير للزهرة فيسانج كلوتوك (*Musa balbisiana*) أن يقوم بها لأنها أعلى مصدر للكربوهيدرات بين الأزهار الأخرى. الاهداف البحث هي لتحديد نوع الخمير المرتبط بزهرة فيسانج كلوتوك (*Musa balbisiana*) على أساس الخصائص المورفولوجية والجزيئية وإمكاناتها في تخمير الكربوهيدرات. يتكون هذا البحث من عدة مراحل، وهي: العزلة، التنقية، تحديد الخمير مجهريا، اختبار تخمير الكربوهيدرات والسكر بنسبة 50%. أفضل تخمر العزل الخمير هو تحديد الجزيئي باستخدام الابتدائي ITS1 و ITS4 . حصلت نتائج العزل وتحديد على 7 (YI-1 و YI-2 و YI-3 و YI-4 و YI-5 و YI-6 و YI-7) العزل خمير القائم على خصائص المورفولوجية التي تتشابه فيها جميع العزلات مع أعضاء فئة Ascomycetes ، بناء على اختبار التخمر الكربوهيدرات (الفركتوز والجلوكوز والجالاكتوز) حصلت على ثلاث أفضل عزلات، فهي YI-4 و YI-6 و YI-7 . كشف التحليل الوراثي أن عزل YI-4 له تشابه مع *Saccharomyces cerevisiae* لسلالة HBUM07151 (99%)، وعزل YI-6 مع *Saccharomyces cerevisiae* عزل E1 هو (98%)، وعزل YI-7 مع *Saccharomyces cerevisiae* عزل B-WHX-12-48 هو (99%)

الكلمات الرئيسية: خمير، زهرة فيسانج كلوتوك، العزل، تحديد المورفولوجي، تخمير الكربوهيدرات، التحليل الوراثي، *Saccharomyces cerevisiae*

MOTTO

“Allah always with me and Just trust to Allah”



KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT yang telah memberikan nikmat yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu sayarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada besar Muhammad SAW yang telah membimbing umatnya dari zaman jahiliyah sampai menjadi terang benderang melalui penyebaran cahaya iman, islam dan ilmu pengetahuan yang hakiki.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini telah mendapatkan banyak bantuan dan semangat dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M. Si, D. Sc Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Romaidi, M. Si, D. Sc selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. M. Muhklis Fahrudin selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.
6. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muctaromah, M. Si, selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis baik akademik maupun non akademik dan selalu

memberikan motivasi agar penulis tetap semangat dalam menempuh studi di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

7. Ayah, ibu, adik dan semua keluargaku tercinta yang telah mendidik dan membimbing serta mendampingi dengan penuh kasih sayang dan kesabaran, serta selalu memberikan do'a kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan karunia Allah SWT selalu melindungi mereka dan mendapat keridhoan-nya.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Karena kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Untuk itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. *Amiin Yaa Allah Ya Rabbal'alamiin.*

Malang, 27 Februari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	Error! Bookmark not defined.i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAANB SKRIPSI.....	ivii
ABSTRAK	iviii
ABSTRACT.....	ix
ملخص البحث.....	x
MOTTO	xi
KATA PENGANTAR	xii
DADTAR ISI	xiv
DAFTAR GAMBAR	xivi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 9
2.1 Khamir.....	9
2.1.1 Ciri Umum	9
2.1.2 Taksonomi Khamir.....	9
2.1.3 Habitat Khamir.....	12
2.1.4 Morfologi Khamir	12
2.1.5 Fisiologi Khamir	12
2.1.5 Manfaat khamir	16
2.2 Bunga Pisang Klutuk (<i>Musa balbisiana</i>)	17
2.2.1 Pisang klutuk (<i>Musa balbisiana</i>)	17
2.2.2 Morfologi dan Anatomi bunga Pisang klutuk (<i>Musa balbisiana</i>) ..	18
2.3 Isolasi Khamir	21
2.4 Identifikasi Khamir.....	22
2.4.1 Identifikasi Konvensional	23
2.4.2 Identifikasi Molekuler.....	24
2.5 Fermentasi Karbohidrat.....	26
 BAB III METODE PENELITIAN.....	 27
3.1 Rancangan Penelitian	27
3.2 Waktu dan Tempat	27
3.3 Alat dan Bahan	27

3.3.1	Alat.....	27
3.3.2	Bahan.....	28
3.3.3	Sterilisasi Alat dan Bahan	28
3.3.4	Pembuatan media	29
3.3.5	Isolasi Khamir	31
3.3.6	Purifikasi	32
3.3.7	Identifikasi Morfologi Khamir.....	33
3.3.8	Identifikasi Biokimia.....	34
3.3.9	Identifikasi Molekuler.....	35
3.4	Analisa Data	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		42
4.1	Spesies Khamir Pada Bunga Pisang Klutuk (<i>Musa balbisiana</i>) Berdasarkan Karakter Morfologi	42
4.2	Uji Kemampuan Isolat Khamir Dalam Hal Fermentasi	51
4.3	Identifikasi Molekuler Jenis Isolat Khamir dengan Kemampuan Fermentasi Karbohidrat Terbaik	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		60
5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran	60
DAFTAR PUSTAKA		61
LAMPIRAN.....		68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Bunga Pisang Klutuk (<i>Musa balbisiana</i>)	19
Gambar 2.2. Struktur bunga pisang	20
Gambar 2.3. Unit Transkripsi ITS	25
Gambar 2.4. Bagan Jalur Utama Fermentasi	38
Gambar 2.5. Fermentasi Karbohidrat	39
Gambar 4.1 a) Koloni isolat YI-1 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-1, c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 5918	45
Gambar 4.2 d) Sel isolat YI-1 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-1, f) Pertunasan Multilateral.....	45
Gambar 4.3 a) Koloni isolat YI-2 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-2, c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 1817	46
Gambar 4.4 d) Sel isolat YI-2 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-2, f) Pertunasan Multilateral	46
Gambar 4.5 a) Koloni isolat YI-3 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-3, c) <i>Millerozyma farinosa</i> JCM 3578	47
Gambar 4.6 d) Sel isolat YI-3 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-3, f) Pertunasan Multilateral	47
Gambar 4.7 a) Koloni isolat YI-4 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-4, c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 2330	48
Gambar 4.8 d) Sel isolat YI-4 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-4, f) Pertunasan Multilateral	48
Gambar 4.9 a) Koloni isolat YI-5 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-5, c) <i>Kazachstania servazzii</i> JCM 5200	49
Gambar 4.10 d) Sel isolat YI-5 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolate YI-5, f) Pertunasan Multilateral	49
Gambar 4.11 a) Koloni isolat YI-6 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-6, c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 2222	50
Gambar 4.12 d) Sel isolat YI-6 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-6, f) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50
Gambar 4.13 a) Koloni isolat YI-7 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-7, c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 2219	51
Gambar 4.14 d) Sel isolat YI-7 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-7, f) Pertunasan Multilateral	51
Gambar 4.15 Pertumbuhan pada <i>Medium Glucose Yeast Peptone</i> Konsentrasi Gula 50%	53
Gambar 4.16 Uji Kualitas DNA Pasca Proses PCR.....	55
Gambar 4.17 Rekonstruksi Pohon Filogenetik Isolat Khamir YI-6, dan YI-7	58

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Morfologi Makroskopis Khamir	43
Tabel 4.2 Morfologi Mikroskopis Khamir	43
Tabel 4.3 Kemampuan khamir dalam fermentasi glukosa, fruktosa dan galaktosa	52
Tabel 4.4 Hasil blast isolat khamir	57



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Proses pembuatan YMB	68
Lampiran 2. Proses pembuatan YMEA	69
Lampiran 3. Proses Isolasi khamir pada bunga pisang	70
Lampiran 4. Proses purifikasi	71
Lampiran 5. Identifikasi molekuler.....	72
Lampiran 6. Hasil Fermentasi Karbohidrat Glukosa	73
Lampiran 7. Hasil Fermentasi Karbohidrat fruktosa	74
Lampiran 8. Hasil Fermentasi Karbohidrat Galaktosa	75
Lampiran 9 Urutan gen ITS khamir hasil <i>sequencing</i>	76
Lampiran 10. Gambar peak DNA hasil <i>sequencing</i> pada SeqScanner..	77
Lampiran 11. Nilai alignment proses Blast NCBI	78
Lampiran 12. Hasil Blast NCBI.....	79
Lampiran 13. Hasil alignment MEGA6	80

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi di dunia dan dikenal sebagai negara megabiodiversity (Triyono, 2013). Keanekaragaman tersebut mencakup segala bentuk kehidupan yang meliputi gen, spesies tumbuhan, hewan dan mikroorganisme (Sutoyo, 2010). Contoh keanekaragaman mikroorganisme meliputi bakteri, ganggang, fungi dan khamir (Purwitasari dkk, 2004).

Keanekaragaman khamir di Indonesia sangat tinggi yaitu sebanyak 42% khamir di dunia (Kanti, 2005). Menurut Kurtzman & Fell (2006) terdapat 89 *genera* khamir yang pernah terdaftar dalam monograf khamir dan sebanyak 37 *genera* ditemukan di Indonesia. Menurut Kurtzman & Piskur (2006) baru sekitar 1% khamir berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari seluruh total perkiraan keanekaragaman khamir yang terdapat di dunia.

Khamir mempunyai berbagai macam habitat. Suryaningsih (2018) mengungkapkan khamir mempunyai habitat di tanah, udara dan kulit binatang. Menurut Sumerta & Kanti (2016) khamir sangat dominan pada hutan hujan tropis, karena khamir memiliki peran ekologi yang penting dalam siklus bahan organik. Han *et al.* (2015) juga menambahkan bahwa habitat khamir juga ditemukan pada buah dan bunga.

Khamir yang ditemukan pada bunga umumnya dalam populasi cukup besar dengan persebaran yang luas. Pusey *et al.* (2009) menjelaskan khamir termasuk

mikroba asli (*indigenus*) pada tanaman khususnya pada permukaan daun dan permukaan bunga. Pusey *et al.* (2009) juga menjelaskan bahwa populasi khamir pada bunga juga terdapat pada bagian kepala putik (*stigma*) dan dasar bunga (*hypanthia*). Menurut Janisiewicz *et al.* (2010) mikroflora khamir juga banyak ditemukan pada serbuk sari di berbagai spesies bunga.

Bunga merupakan sampel yang banyak ditemukan spesies khamir. Beberapa jenis khamir yang berhasil ditemukan, yaitu *Candida sake* pada bunga *Thelymitra atronitida*, *Eucalyptus sideroxylon*, *Eucalyptus microcarpa*, *Corymbia gummifera*; *Candida pulcherrima* pada bunga *Thelymitra atronitida* dan *Eucalyptus sideroxylon*; *Candida magnoliae* pada bunga *Eucalyptus microcarpa*; *Rhodotorula glutinis* pada bunga *Thelymitra atronitida* dan *Undet sp.* pada bunga *Eucalyptus sideroxylon* (Birtchnell, 2008). Khamir yang diisolasi dari bunga apel yaitu *Cryptococcus magnus*, *Rhodotorula sp.*, *Cryptococcus victoriae*, *Pichia guilliermondii*, *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus sp.* (Pusey *et al.*, 2009).

Bunga pisang memiliki potensi tempat pertumbuhan khamir khususnya pisang klutuk (*Musa balbisiana*). Bunga pisang klutuk memiliki nilai gizi yang cukup tinggi khususnya karbohidrat (Kuswardhani dan Lindriati, 2015). Karbohidrat sendiri tersusun atas karbon, hidrogen dan oksigen. Menurut Janisiewicz *et al.* (2010) kelimpahan khamir dipengaruhi kelimpahan karbon dan nitrogen yang merupakan sumber energi dari khamir.

Pisang merupakan salah satu tumbuhan yang disebut dalam al-Qur'an yakni pada surat Al-Waqiah ayat 29-31 yang berbunyi:

وَطَلِحَ مَنضُودٍ ﴿٢٩﴾ وَظَلَّ مَمْدُودٍ ﴿٣٠﴾ وَمَاءٍ مَّسْكُوبٍ ﴿٣١﴾

Artinya: ” dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya), dan naungan yang terbentang luas, dan air yang tercurah.” (QS. Al-Waaqi’ah: 29-31)

Berdasarkan ayat di atas Allah SWT telah menciptakan tanaman pisang. Lafadz طلع (Talḥ) tersebut menurut Mandzur (1993) antara lain diartikan sebagai pohon yang memiliki sedikit daun, pohon yang bayang-bayangnya dapat dijadikan naungan atau tempat berteduh, serta kata طلع (Talḥ) diartikan sebagai pohon yang memiliki buah yang memiliki rasa yang manis. Menurut Sulaiman bin Umar al-Ajily dalam kitab Tafsir al-Futuhatul Ilahiyyah (2009) beliau memahami kata طلع (Talḥ) dengan pohon pisang.

Pisang klutuk (*Musa balbisiana*) merupakan tanaman yang memiliki potensi adanya mikroorganisme khamir. Pisang klutuk merupakan tanaman yang selalu ada sepanjang tahun dan tidak dipengaruhi oleh musim. Bunga pisang klutuk juga merupakan spesies liar yang kurang dimanfaatkan oleh masyarakat pada umumnya, karena memiliki ukuran yang kecil. Kuswardhani & Lindriati (2015) mengatakan bunga pisang klutuk memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi diantara bunga-bunga lain yaitu sebanyak 34,83%. Kandungan karbohidrat bunga pisang klutuk juga merupakan yang tertinggi diantara bunga pisang jenis lain, sebagai contoh menurut Putri (2016) menyebutkan bahwa kandungan karbohidrat bunga pisang kepok hanya sebesar 8,3%. Hal ini menjelaskan bahwa bunga pisang klutuk lebih berpotensi ditemukan spesies khamir.

Khamir hidup pada kandungan gula yang cukup tinggi. Belisle *et al.* (2011) menjelaskan bahwa khamir nektar bunga dapat hidup dan tumbuh pada nektar dengan kandungan gula 20% - 50%. Menurut Pfannebecker *et al.* (2016) bahwa khamir hidup pada lingkungan dengan kadar gula tinggi disebut dengan khamir

osmotoleran yang hidup pada kadar gula sekitar 50%-70%. Isolasi khamir perlu dilakukan, sehingga dapat diketahui potensi khamir yang terdapat pada bunga pisang klutuk.

Penelitian khamir pada bunga pisang klutuk belum dilakukan di Indonesia, namun penelitian pada pisang kapok telah dilakukan. Triintan dkk. (2014) melakukan isolasi khamir pada pelepah dan bonggol pisang. Spesies khamir yang ditemukan yaitu spesies *Metschnikowia* sp., *Rhodotorula* sp., *Candida* sp., dan *Hansenula* sp. Penelitian khamir pada pisang masih sebatas pada pelepah dan bonggol, namun pada bunga pisang yang memiliki banyak potensi masih belum dilakukan.

Khamir mempunyai potensi dalam proses fermentasi yang dapat dijadikan sebagai sumber energi (Steensels *et al.* 2014). Khamir sebagai sumber energi digunakan untuk pengembangan energi terbarukan seperti bioetanol atau biofuel (Basso *et al.* 2008; Buijs *et al.* 2013). Wine dan tuak merupakan contoh fermentasi minuman. Fermentasi makanan yang dilakukan oleh khamir antara lain tapai dan roti (Nielsen *et al.* 2013). Khamir dalam proses fermentasi membutuhkan karbohidrat sebagai sumber energi.

Karbohidrat merupakan makromolekul yang penting bagi kehidupan khamir dan makhluk hidup. Karbohidrat tersusun atas 4 jenis, yaitu monosakarida, disakarida, oligosakarida dan polisakarida (Muchtadi, 2009). Sastrohamidjojo (2005) menjelaskan bahwa sebanyak 70-80% kandungan pada tumbuhan adalah karbohidrat. Sumber-sumber karbohidrat merupakan salah satu indikator habitat dari khamir yang perlu dilakukan penelitian.

Khamir perlu diketahui dengan cara isolasi dan identifikasi khamir. Identifikasi suatu spesies khamir dapat dilakukan dengan menggunakan metode konvensional dan molekuler. Identifikasi konvensional merupakan identifikasi berdasarkan karakter fenotif. Karakter fenotif dilihat dari karakter morfologi khamir, baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Karakter fenotif juga dapat dilihat dari fase reproduksi seksual dan aseksual khamir serta karakter biokimia yang dilakukan dengan uji fermentasi karbohidrat (Barnett *et al.*, 2000).

Identifikasi konvensional berdasarkan karakter fenotif khamir memiliki banyak kekurangan (Lachance *et al.*, 2003). Identifikasi konvensional membutuhkan waktu yang lama, kerja yang cukup intensif dan interpretasi yang subjektif (Martins *et al.*, 2008). Identifikasi konvensional sering kali tidak dapat membedakan spesies khamir (Nejedlik *et al.*, 2004).

Identifikasi spesies khamir menggunakan metode genetika molekuler. Identifikasi khamir secara molekuler menggunakan aplikasi BLAST NCBI. Identifikasi secara molekuler memiliki beberapa keuntungan dibandingkan identifikasi secara konvensional, yaitu mampu untuk mengidentifikasi hingga tingkat spesies dengan menggunakan metode sekuensing DNA (Kurtzman dan Fell, 2006). Identifikasi molekuler juga menghasilkan data yang akurat dan prosesnya lebih cepat (Martins *et al.*, 2008).

Identifikasi khamir secara molekuler ditentukan berdasarkan data sekuens dari daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) dari DNA ribosomal. Analisis filogenetik dari hubungan kekerabatan spesies menggunakan daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS 1 dan ITS 2) dan 5.8S subunit ribosom (Basukriadi, 2010). Subunit kecil rRNA kenyataannya sebagai tingkatan yang berbeda dari

konservasi sekuensing (dari konservasi yang tinggi hingga semikonservasi pada wilayah variabel yang tinggi), yang digunakan untuk menentukan jarak hubungan kekerabatan, seperti hubungan kekerabatan evolusi. Informasi yang sedikit terkait filogeni khamir pada kronometer dibandingkan dengan bakteri, sehingga analisis sekuensing subunit kecil rRNA akan berkontribusi secara signifikan pada sistematika khamir (James, 1996).

Berdasarkan penelitian di atas perlu dilakukan penelitian tentang isolasi khamir pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) sebagai starter pembuatan roti. Untuk mengetahui keragamannya, penelitian ini tidak hanya menjadi dasar untuk menggali potensi ekologi dan ekonomi khamir di alam, akan tetapi dapat digunakan untuk pemanfaatan lainnya seperti untuk agen bioremediasi dalam dekontaminasi bahan pencemarnya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dikaji dalam penelitian ini adalah:

1. Apa saja jenis khamir yang ditemukan pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) berdasarkan karakter morfologi ?
2. Bagaimana kemampuan isolat- isolat khamir dari bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) dalam fermentasi karbohidrat?
3. Apakah spesies khamir yang teridentifikasi pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) dengan kemampuan fermentasi karbohidrat terbaik secara molekuler?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui jenis khamir yang ditemukan pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) berdasarkan karakter morfologi.
2. Mengetahui kemampuan isolat- isolat khamir dari bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) dalam fermentasi karbohidrat.
3. Mengetahui spesies khamir yang teridentifikasi pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) dengan kemampuan fermentasi karbohidrat terbaik secara molekuler.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah

1. Penelitian ini dapat memberikan informasi spesies yang ditemukan pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) berdasarkan karakter morfologi.
2. Mengetahui sifat biokimia khamir yang terdapat pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*).
3. Penelitian ini diharapkan dapat diaplikasikan dalam bidang mikrobiologi terutama dalam bidang pangan
4. Landasan acuan untuk mengembangkan potensi Indonesia mandiri dalam berbagai bidang dan mengurangi konsumsi produk impor

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bunga yang digunakan adalah bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*).
2. Media isolasi khamir yaitu *Yeast Media* (YM).
3. Khamir diremajakan pada media *Yeast Media Extract Agar* (YMEA).

4. Identifikasi khamir dilakukan dengan cara mengkarakterisasi morfologi sel dan koloni khamir, meliputi bentuk, warna, elevasi koloni, tepian koloni, reproduksi seksual sel dan ukuran.
5. Uji fermentasi karbohidrat menggunakan sumber karbohidrat berupa glukosa, fruktosa, dan sukrosa.
6. Uji pertumbuhan khamir pada media glukosa konsentrasi 50% hanya dilakukan pada isolat khamir yang dapat memfermentasi karbohidrat.
7. Khamir yang dipilih dalam uji lanjut identifikasi genetika adalah khamir yang memiliki kemampuan fermentasi karbohidrat terbaik.
8. Identifikasi khamir secara molekuler dilakukan dengan menggunakan *primer Internal Transcribe Spacer (ITS) rDNA 1* (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') sebagai *forward primer* dan ITS 4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai *reverse primer*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Khamir

2.1.1 Ciri Umum

Khamir merupakan fungi uniseluler yang melakukan reproduksi dengan cara seksual dan aseksual. Reproduksi seksual dilakukan dengan menghasilkan basidiospora dan askospora. Reproduksi aseksual dilakukan dengan pembelahan (*fission*) dan pertunasan (*budding*) (Boekhout dan Phaff, 2003).

Khamir ada beberapa yang termasuk golongan *dimorphic*. Golongan *dimorphic* merupakan mikroorganisme yang memiliki dua fase hidup, yaitu fase uniseluler dan fase hifa. Perubahan fase tersebut dapat terjadi karena adanya respon terhadap perubahan lingkungan (Satyanarayana, 2009).

2.1.2 Taksonomi Khamir

Khamir masuk dalam *Kingdom Eumycota* yang terdiri atas *Phylum Ascomycota* dan *Basidiomycota*. *Phylum Ascomycota* terbagi atas tiga *Class*, yaitu *Archiascomycetes*, *Euascomycetes* dan *Hemiascomycetes* (Hamamoto & Nakase, 2000). *Phylum Basidiomycota* terbagi atas tiga *Class*, yaitu *Urediniomycetes*, *Hymenomycetes*, dan *Ustilaginomycetes* (Choudhary & Johri, 2009).

2.1.2.1 *Phylum Ascomycota*

Kelompok khamir *Ascomycota* membentuk spora seksual dalam struktur seperti kantung yang disebut askospora (Barr, 2001). Reproduksi aseksual *Ascomycota* dengan cara pembentukan tunas secara holoblastik (Boekhout &

Kurtzman, 1996). Dinding sel khamir *Ascomycota* terdiri atas *bilayer* (dua lapis) (Kurtzman & Sugiyama, 2001).

1. *Class Archiascomycetes*

Khamir *Class Archiascomycetes* mempunyai askus yang tidak tertutup oleh askokarp (tubuh buah), dinding selnya berlapis dua, serta bereproduksi aseksual dengan pembentukan tunas secara enteroblastik atau dengan pembelahan sel (Hamamoto & Nakase, 2000; Kurtzman & Sugiyama, 2001). Contoh dari *class Archiascomycetes* adalah *genus Lalaria* dengan ciri reproduksi vegetatif dengan cara tunas yang keluar pada kutub sel atau dekat kutub sel. Pertumbuhan koloni pada *genus Lalaria* umumnya berwarna merah muda atau kekuningan. Secara fisiologi *genus Lalaria* tidak memfermentasi gula (Kurtzman & Fell, 1998).

2. *Class Euascomycetes*

Khamir *Class Euascomycetes* mempunyai askus yang tertutup oleh askokarp (tubuh buah). Khamir *Class Euascomycetes* umumnya merupakan *yeast-like fungi* (Hamamoto & Nakase, 2001). Contoh dari *class Euascomycetes* adalah *genus Endomyces* dengan *spesies Endomyces scopularu*. Koloni umumnya berwarna putih dan menggumpal (Kurtzman & Fell, 1998).

3. *Class Hemiascomycetes*

Khamir *Class Hemiascomycetes* mempunyai askus yang tidak tertutup oleh askokarp (tubuh buah), dinding selnya berlapis dua, serta bereproduksi

aseksual dengan pembentukan tunas secara holoblastik (Hamamoto & Nakase, 2000; Kurtzman & Sugiyama, 2001). Contoh dari *class Hemiascomycetes* adalah genus *Saccharomyces* dengan spesies *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* sel-selnya berbentuk bulat, bulat telur atau memanjang, (3.0-8.0) μm x (5.0-10.0) μm . pertumbuhan koloni pada *Saccharomyces cerevisiae* memiliki tekstur seperti mentega dan berwarna krem muda. Permukaan halus, biasanya rata dan beberapa timbul (Kurtzman & Fell, 1998).

2.1.2.2 Phylum Basidiomycota

Khamir *Phylum Basidiomycota* reproduksi seksual menghasilkan basidiospora pada struktur berbentuk gada yang disebut *basidium* (Kurtzman & Fell, 2006). Khamir *Phylum Basidiomycota* dinding selnya terdiri atas banyak lapis (*multilayer*). Reproduksi Khamir *Phylum Basidiomycota* dengan pembentukan tunas secara enteroblastik (Fell *et al.*, 2001).

1. Class Urediniomycetes

Khamir *Class Urediniomycetes* merupakan kelompok khamir yang beragam, dapat berperan sebagai saprofit dan parasit (Hamamoto dan Nakase, 2000). Contoh khamir *class Urediniomycetes* adalah genus *Cystofilobasidium* dengan spesies *Cystofilobasidium infirmominiatum*. Pertumbuhan koloni pada *Cystofilobasidium infirmominiatum* berwarna merah muda dengan permukaan yang halus, berkilau, dan sedikit timbul. Sel-selnya berbentuk oval ke elongate (1-5.5) μm x (2.5-12) μm (Kurtzman & Fell, 1998).

2. Class *Hymenomyces*

Khamir *Class Hymenomyces* mempunyai septa tipe *dolipore*. Khamir *Class Hymenomyces* dinding selnya terdiri dari komposisi gula, yaitu glukosa, mannosa dan xylosa (Sjamsulridzal, 2006). Contoh dari *class Hymenomyces* adalah *genus Bullera* dengan *spesies Bullera armeniaca*. Sel-sel *Bullera armeniaca* umumnya berbentuk ellipsoidal (5.0-10.0) μm . Pertumbuhan koloni memiliki tekstur seperti mentega, elevasi umumnya datar namun ada beberapa yang timbul. Koloni mengkilap dengan warna oranye kemerahan atau oranye (Kurtzman & Fell, 1998).

3. Class *Ustilaginomyces*

Khamir *Class Ustilaginomyces* dinding selnya terdiri dari komposisi gula. Kandungan gula yang dominan berupa galaktosa, glukosa dan mannosa (Sjamsulridzal, 2006). Contoh dari *class Ustilaginomyces* adalah *genus Pseudozyma* dengan *spesies Pseudozyma aphidis*. Pertumbuhan koloninya mengandung banyak tetesan minyak dan elevasi datar. Koloni berwarna keputihan hingga krem kekuningan dan terlihat kusam (Kurtzman & Fell, 1998).

2.1.3 Habitat Khamir

Khamir dicirikan dengan penyebaran yang luas pada habitat alamnya. Khamir umum tersebar pada tanaman, tanah dan air. Khamir juga ditemukan pada permukaan daun dan pada saluran usus hewan berdarah panas, dimana khamir dapat hidup secara simbiotik atau sebagai parasit (Schneiter, 2004). Khamir banyak ditemukan pada buah-buahan, biji-bijian dan bunga yang banyak mengandung gula Suryaningsih dkk. (2018).

Spesies khamir terdapat pada buah dan bunga (Schneider, 2004). Spesies khamir *Saturnispora silvae* ditemukan pada sampel buah (Sumerta, 2016). Khamir dari genus *Metschnikowia*, *Wickerhamiella* dan *Starmerellaclades* juga ditemukan pada bunga (Lachance *et al.*, 2001).

Spesies khamir yang diisolasi dari nektar bunga. Populasi khamir sering terdapat pada nektar bunga dari tanaman penyerbukannya dibantu oleh serangga. Khamir pada nektar bunga dapat berperilaku sebagai parasit dari hubungan mutualisme antara tanaman dan serangga (Brysch-Herzberg, 2004; Canto *et al.*, 2008; Herrera, 2008; de Vega, 2009).

Khamir dan tanaman penghasil nektar melakukan simbiosis mutualisme. Simbiosis mutualisme terjadi saat suhu lingkungan di sekitar tanaman dingin. Suhu nektar bunga yang dingin dapat diubah menjadi hangat oleh khamir. Khamir pada nektar bunga berperan dalam fermentasi gula nektar, sehingga dapat terjadinya pemanasan bunga yang mempercepat pertumbuhan tabung serbuk sari dan menarik serangga untuk melakukan penyerbukan (Wiens *et al.*, 2008).

Khamir mempunyai populasi yang besar pada bunga. Khamir termasuk mikroba indigenus pada tanaman khususnya pada permukaan daun dan permukaan bunga (Pusey, 2009). Penelitian Pusey (2009) menjelaskan bahwa populasi khamir juga terdapat pada *stigma* dan *hypanthia*. Menurut Janisiewicz *et al.* (2010) mikroflora termasuk khamir juga terdapat pada serbuk sari. Penelitian keberadaan khamir pada bunga belum dilakukan di Indonesia. Hingga saat ini, identifikasi khamir yang pernah dilakukan adalah pada sampel tanah dan pada pisang kepok. Triintan dkk. (2014) melakukan isolasi khamir pada pelepah dan bonggol pisang kepok. Spesies khamir yang ditemukan yaitu spesies

Metschnikowia sp., *Rhodotorula* sp., *Candida* sp., dan *Hansenula* sp. Penelitian khamir pada pisang masih sebatas pada pelepah dan bonggol, namun pada bunga pisang yang memiliki banyak potensi masih belum dilakukan.

2.1.4 Morfologi khamir

Morfologi sangat penting kaitannya dalam klasifikasi dan identifikasi khamir. Morfologi mikroskopik mencakup deskripsi bentuk sel, ukuran sel, dan reproduksi sel. Bentuk sel, reproduksi sel dan ukuran sel khamir berfungsi sebagai parameter pembeda antar khamir dan mikroorganisme lainnya. Parameter bentuk dan ukuran sel juga berfungsi sebagai pembeda antar *class* dan *genus* khamir. Bentuk sel dan bagian struktural khamir dapat digambarkan sebagai objek tiga dimensi, seperti bola, *globe*, berbentuk telur, silinder, berbentuk zaitun, dan seterusnya (de Becze, 1956). Reproduksi aseksual khamir secara pembelahan sel termasuk dalam *genus Schizosaccharomyces*, *class Ascomycetes ordo Saccharomycetales* untuk khamir dengan pertunasan holoblastik, dan *class Basidiomycetes* untuk khamir dengan pertunasan enteroblastik (Kurtzman & Fell, 1998).

Morfologi makroskopik mencakup bentuk koloni, tekstur koloni, warna koloni, margin koloni dan permukaan koloni. *Class Basidiomycetes* umumnya memiliki pigmen dengan warna-warna terang seperti merah muda, merah dan jingga, akan tetapi berbeda dengan *class Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna putih dan krem (Fell, 1998).

Saccharomyces cerevisiae merupakan jenis khamir paling khas dalam penampilan dan paling banyak dimanfaatkan. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki bentuk telur, elips, atau kadang-kadang bulat khas dengan dimensi 4µm-8µm,

dengan diameter 4µm-7µm atau 7µm-10µm untuk sel elips (de Becze, 1956). *Saccharomyces cerevisiae* termasuk sel eukariotik yang berisi semua komponen utama yang umum seperti inti, endoplasma, mitokondria, badan golgi, vakuola, sitoskeleton, dll. Koloni *Saccharomyces* tumbuh pesat dan berumur dalam tiga hari. Koloni *Saccharomyces* memiliki karakteristik elevasi datar, halus, lembab, berkilau atau kusam, dengan warna putih krem (de Oca *et al.*, 2016).

2.1.5 Fisiologi Khamir

Fisiologi sel khamir dapat didefinisikan sebagai pemahaman pertumbuhan dan metabolisme yang terjadi pada sel khamir. Sel khamir secara umum menjalankan keseluruhan fungsi fisik dan kimiawi untuk mendukung kehidupan. Pertumbuhan dan metabolisme khamir berkaitan dengan interaksi khamir dengan lingkungan biotik dan abiotik, dalam istilah tertentu fisiologi khamir berkaitan dengan cara memproses makanan, proses metabolisme, proses pertumbuhan, proses reproduksi, proses bertahan hidup dan berakhir dengan proses kematian (Walker, 1998).

Aspek-aspek fisiologi khamir yang berkaitan dengan eksploitasi khamir dalam bioteknologi mempunyai peranan penting. Aspek-aspek fisiologi khamir meliputi: sitologi khamir (bentuk ultrastruktur dan fungsi sel khamir dan organel), nutrisi khamir (translokasi dan asimilasi nutrisi esensial khamir), pertumbuhan khamir (mode pertumbuhan reproduksi dan koordinasi pertumbuhan dengan pembelahan sel dan faktor yang mempengaruhi kelangsungan hidup khamir sel dalam kultur), metabolisme khamir (rute katabolik dan anabolik utama untuk nutrisi dalam sel khamir serta regulasi jalur metabolisme utama) dan terakhir aspek-aspek fisiologi sel khamir ini akan berdampak pada teknologi khamir

(industrialisasi dan komersialisasi khamir *Saccharomyces* dan khamir non-*Saccharomyces*) (Walker, 1998).

Salah satu aspek penting khamir yang mempunyai banyak manfaat bagi manusia adalah katabolisme gula. Katabolisme gula oleh khamir merupakan proses dengan menggunakan berbagai jalur metabolisme. Khamir yang melakukan proses katabolisme gula biasanya merupakan khamir yang hidup pada aktivitas air yang rendah dengan aktivitas zat terlarut yang tinggi. Khamir semacam ini disebut dengan khamir osmotoleran (Dijken & Alexander, 1986).

Khamir osmotoleran merupakan khamir yang hidup pada kadar gula yang tinggi serta dapat pula hidup pada kadar garam yang tinggi. Khamir osmotoleran merupakan khamir yang dimanfaatkan oleh manusia sebagai fermipan. Khamir osmotoleran adalah strain khusus khamir kering instan yang berkinerja lebih baik dalam adonan gula tinggi daripada khamir lainnya (Dijken & Alexander, 1986)

2.1.6 Manfaat khamir

Manfaat khamir terdapat dalam Al-Quran surat an Nahl ayat 13 yang berbunyi:

وَمَا ذَرَأَّا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya :” Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran” (QS. Nahl (16): 13)

Berdasarkan ayat di atas Allah S.W.T menciptakan berlain-lainan macamnya. Tafsir Ibnu katsir (Abdullah, 2007) menjelaskan bahwa Allah S.W.T telah mengingatkan tanda-tanda yang ada di langit dan mengingatkan pula atas apa yang telah diciptakan di bumi. Benda-benda yang dimaksud diantaranya adalah hewan, tumbuhan dan mikroorganisme termasuk khamir yang memiliki banyak manfaat.

Khamir dapat digunakan sebagai pengembang roti. Khamir pengembang roti biasa disebut dengan khamir osmotoleran. Jenis khamir yang digunakan untuk pengembang roti berasal dari *phylum Ascomycetes sub class Saccharomyces*, yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus*, dan *Saccharomyces rosei* (Kurtzman & Fell, 1998). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan khamir yang berperan penting dan dominan digunakan dalam pembuatan roti (Asyikeen *et al.*, 2013; Satyanarayana & Kunze, 2009).

Khamir ditemukan pada beberapa bagian tanaman pisang dan mempunyai banyak manfaat. Khamir *Saccharomyces cerevisiae* terdapat pada kulit pisang, yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat fermentasi etanol (Martiningsih, 2007). *Saccharomyces cerevisiae* pada kulit pisang juga dapat digunakan sebagai etil asetat (Gusrini, 2016). *Saccharomyces cerevisiae* pada bonggol pisang juga digunakan dalam pembuatan asam cuka (Surtiyani, 2015). Khamir *genus Zygosaccharomyces* yang ditemukan pada pisang juga dapat digunakan untuk fermentasi alkohol (Dewi & Susanto, 2013).

2.2 Bunga Pisang Klutuk (*Musa balbisiana*)

2.2.1 Pisang klutuk (*Musa balbisiana*)

Sistematika tumbuhan pisang adalah sebagai berikut.

Kingdom : *Plantae* – Tumbuhan
 Subkingdom : *Tracheobionta*
 Superdivision : *Spermatophyta*
 Divisi : *Magnoliophyta*
 Kelas : *Liliopsida*
 Bangsa : *Zingiberales*
 Suku : *Musaceae*
 Marga : *Musa*
 Jenis : *Musa balbisiana* (Tjitrosoepomo, 2000)

Tanaman pisang termasuk dalam golongan tanaman monokotil tahunan yang berbentuk pohon dan tersusun atas batang semu. Batang semu pisang merupakan tumpukan pelepah daun yang tersusun secara rapat. Percabangan tanaman pisang bertipe simpodial atau cabang yang sulit dibedakan dengan batang pokok. Pisang mempunyai bonggol yang berada di bagian bawah batang. Pucuk lateral keluar dari kuncup pada bonggol yang selanjutnya tumbuh menjadi tanaman pisang. Pisang mempunyai meristem ujung pada batang yang memanjang dan membentuk bunga (Australian Department of Health and Aging, 2008).

2.2.2 Morfologi dan Anatomi bunga Pisang klutuk (*Musa balbisiana*)

Anatomi bunga pisang terdapat dalam Al-Quran surat Yaasiin ayat 36 yang berbunyi:

سُبْحَنَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُثْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ ﴿٣٦﴾

Artinya: “Maha suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri

mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui” (QS. Yaasiin (36):36)

Thanthawi Jauhari (1932) menjelaskan bahwa ayat ini menyinggung masalah perkawinan atau penyerbukan pada tumbuhan, bahwa di bumi terdapat segala sesuatu yang berpasang-pasangan, mulai dari manusia, hewan, dan juga tumbuhan. Allah tidak akan menumbuhkan tumbuhan kecuali tumbuhan tersebut memiliki pasangan dari jenis laki-laki dan perempuan. Thanthawi Jauhari (1932) juga mengatakan bahwa “Dan di dalam bunga yang tertutup tersebut, terkumpul sepasang kelamin jantan dan betina, sebagaimana pasangan yang bermacam-macam dari hewan maupun manusia, yaitu sama, ada laki-laki dan juga perempuan.”



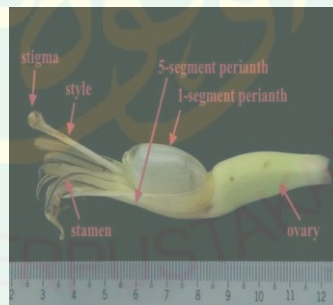
Gambar 2.1. Bunga Pisang Klutuk (*Musa balbisiana*)

(Hapsari dkk., 2015)

Bunga pisang merupakan bunga majemuk dan biasa disebut dengan perbungaan (*inflorescence*). Perbungaan pisang mempunyai bentuk menyerupai jantung sehingga disebut jantung pisang (*bell*). Perbungaan pisang merupakan perbungaan tandan campuran (*mixed spadix*). Perbungaan tandan campuran mempunyai tipe dengan perbungaan *cymose* yang masing-masing kuncup

dibungkus oleh daun tandan yang tersusun ke arah ujung (*acropetal*). Tipe perbungaan tandan dapat terus tumbuh (*indeterminate inflorescence*) karena adanya sumbu berdaging (*spadix*) tanpa bunga terminal. Setiap cymose terbungkus oleh daun tandan (*bract*) yang tebal. *Bract* akan melebar dan membuka melengkung ke arah punggung pada saat bunga mekar yang biasa disebut *spathe* (Australian Department of Health and Aging, 2008).

Bunga pisang terdapat pada ketiak daun tandan yang umumnya tersusun dalam dua barisan. Perbungaan pisang tersusun seperti sisir dan bersifat campuran (*polygamous*). *Polygamous* merupakan campuran atas bunga betina dan jantan. Bunga betina (*pistilate flowers*) terletak di bagian pangkal, bunga-bunga biseksual (*bisexual flowers*) di bagian tengah, dan bunga-bunga jantan (*staminate flowers*) di bagian ujung sumbu (Australian Department of Health and Aging, 2008).



Gambar 2.2. Struktur bunga pisang (Bird Ecology Study Group, 2017)

Bunga pisang merupakan bunga dengan tipe homoklamid (*homochlamydeous*). *Homochlamydeous* merupakan bunga dengan kelopak (*sepal*) dan mahkota (*petal*). Gabungan sepal dan petal biasa disebut dengan tenda

bunga (*tepala*) yang berfungsi sebagai perhiasan bunga (*perianth*) (*Australian Department of Health and Aging*, 2008).

Bagian bunga pisang terdiri atas tangkai bunga, tenda bunga, putik, dan benang sari. Tenda bunga pisang mempunyai bagian dengan bentuk tabung bersegmen lima yang terbuka pada arah perut dan terdapat satu bagian bebas (*free tepal*) yang tipis seperti kertas. Ovarium pada bunga betina terletak di dalam tangkai bunga. Ovarium bunga pisang terdiri atas tiga karpel (*tricarpellate*) dan masing-masing berisi banyak bakal biji berplasenta. Putik (*style*) terdiri atas benang tebal dan kepala putik (*stigma*) yang berjumlah tiga. Benang sari (*stamen*) berjumlah enam dan tersusun dalam dua gerombol yang masing-masing terdiri atas tiga benang sari. Stamen yang berjumlah enam terdapat satu stamen yang tereduksi atau tergantikan oleh *staminode* (*Australian Department of Health and Aging*, 2008).

2.3 Isolasi Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme yang biasa diisolasi menggunakan teknik selektif. Teknik selektif menggunakan media spesifik, agar khamir dapat tumbuh. Media spesifik khamir dapat menekan pertumbuhan jamur dan bakteri. Khamir dapat tumbuh pada media dengan konsentrasi gula yang cukup tinggi untuk menghambat perkembangan banyak bakteri (Kurtzman & Fell, 2006).

Media pertumbuhan khamir menggunakan glukosa-pepton-yeast agar dan *yeast medium* (YM). Media YM mengandung glukosa dengan konsentrasi 30% hingga 50% yang cocok untuk memulihkan *osmophilic* dan *osmotolerant* khamir dari bahan makanan (Kurtzman & Fell, 2006).

Media khamir dibuat dengan menambahkan antibiotik. Antibiotik digunakan untuk menghambat dan menekan pertumbuhan bakteri (Kurtzman & Fell, 2006). Beech *et al.* (1980) menjelaskan bahwa penggunaan antibiotik seperti sikloheksimida, aureomisin, kloramfenikol, dan penisilin pada media isolasi khamir dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Agen antibiotik harus digunakan dengan hati-hati, karena senyawa tersebut dapat pula menghambat beberapa pertumbuhan khamir (Kurtzman & Fell, 2006).

Inkubasi kultur khamir menggunakan suhu 20-25 ° C. Suhu 20-25°C merupakan suhu yang sesuai dengan khamir mesofilik. Suhu inkubasi yang tinggi kisaran 30-37°C dibutuhkan oleh khamir yang sangat terkait dengan sumber panas (Kurtzman & Fell, 2006).

2.4 Identifikasi Khamir

Firman Allah swt dalam Al-Qur'an surat Al Baqarah ayat 31 yang berbunyi:

وَعَلَّمَ آدَمَ الْأَسْمَاءَ كُلَّهَا ثُمَّ عَرَضَهُمْ عَلَى الْمَلَائِكَةِ فَقَالَ أَنْشِئُونِي بِأَسْمَاءِ هَٰؤُلَاءِ إِنْ كُنْتُمْ صَادِقِينَ ﴿٣١﴾

Artinya: “Dan Dia ajarkan kepada Adam nama-nama (benda) semuanya, kemudian Dia perlihatkan kepada para malaikat, seraya berfirman, “Sebutkanlah kepada-Ku nama semua (benda) ini, jika kamu yang benar!”(QS. Al Baqarah (1):31)

Surat Al Baqarah ayat 31 menurut kajian tafsir Jalalain karangan Al-Imam Jalaluddin Al-Mahalli dan Al-Imam Jalaluddin As-Suyuthi yang diterjemahkan oleh Najib Junaidi, Lc (2010) bahwa Nabi Adam diperintahkan

oleh Allah S.W.T memberitahukan semua jenis nama-nama benda kepada malaikat. Manusia memiliki kodrat untuk mengetahui nama-nama benda yaitu benda-benda yang ada di muka bumi termasuk makhluk hidup. Benda-benda yang dimaksud ialah makhluk hidup yang hidup pada permukaan bumi berupa hewan, tumbuhan dan mikroorganisme termasuk khamir.

Identifikasi khamir merupakan proses membandingkan antara khamir yang belum diketahui fenotif dan genotifnya dengan referensi khamir (Barnett *et al.*, 2000). Identifikasi khamir dilakukan dengan menggunakan 2 cara, yaitu konvensional dan molekuler. Identifikasi konvensional dilakukan berdasarkan karakter fenotipik (Barnett *et al.*, 2000). Identifikasi molekuler merupakan teknik yang digunakan untuk analisis genetik (Karsinah dkk., 2002).

2.4.1 Identifikasi Konvensional

Identifikasi konvensional merupakan identifikasi yang dilakukan berdasarkan karakter fenotif. Karakter fenotif dapat diketahui dari karakter morfologi khamir, yaitu secara makroskopik dan mikroskopik (Barnett *et al.*, 2000). Karakter fenotif juga dapat diketahui dari karakter fisiologi biokimia serta fase reproduksi seksual dan aseksual khamir (Barnett *et al.*, 2000).

Karakteristik morfologi khamir diketahui secara mikroskopik dan makroskopik. Karakter mikroskopik diantaranya berupa ukuran dan bentuk sel serta tipe reproduksi aseksual (*budding*, *fission*, blastokonidia, sterigmatokonodia atau membentuk *hyphae*). Karakter makroskopik khamir diantaranya berupa morfologi koloni, meliputi bentuk, tekstur, warna, permukaan, dan elevasi khamir (Barnett *et al.*, 2000).

Karakter fisiologi biokimia termasuk ke dalam karakter fenotif. Karakter fisiologi biokimia meliputi kemampuan fermentasi gula tertentu (glukosa, fruktosa dan galaktosa), kemampuan asimilasi karbon dan nitrogen, kemampuan tumbuh tanpa adanya nutrisi tertentu, kemampuan tumbuh pada kandungan gula dan garam yang tinggi, kemampuan tumbuh pada suhu 37°C, serta mampu tumbuh dengan adanya *cycloheximide (actidione)* (Barnett *et al.*, 2000).

Karakter fenotif khamir yang biasa digunakan memiliki banyak kekurangan (Daniel & Meyer, 2003). Karakter fenotif sering kali tidak dapat membedakan spesies khamir (Geiser, 2004). Khamir umumnya memiliki morfologi sederhana yang mirip antar spesies, sehingga sulit untuk diidentifikasi (Daniel & Meyer, 2003). Identifikasi konvensional membutuhkan waktu yang lama, kerja yang intensif dan membutuhkan interpretasi yang subjektif (Montero *et al.*, 2008).

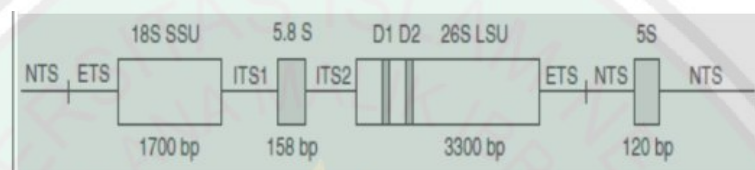
2.4.2 Identifikasi Molekuler

Teknik molekuler digunakan untuk mengidentifikasi suatu spesies. Identifikasi khamir secara molekuler adalah dengan menggunakan data *sequence* DNA (Kurtzman & Fell, 2006). Identifikasi khamir menggunakan gen-gen yang terdapat pada ribosomal DNA (rDNA) (Kurtzman *et al.*, 2003). Fell *et al.* (2000) melaporkan penggunaan analisis *sequence* DNA untuk identifikasi khamir anggota Basidiomycota hingga tingkat spesies.

Identifikasi molekuler memiliki banyak keuntungan. Keuntungan identifikasi molekuler antara lain lebih akurat dan prosesnya lebih cepat (Montero, 2008). Keuntungan penggunaan gen pengkode rDNA, yaitu terdapat pada semua makhluk hidup, berasal dari nenek moyang yang sama dan mudah *disequencing*

karena menggunakan primer yang bersifat universal (dapat digunakan pada semua makhluk hidup) (Kutrzman & Fell, 2006).

Gen pengkode rDNA terdiri atas daerah *coding* dan *non-coding*. Daerah *coding* rDNA terdiri atas small sub-unit (SSU rDNA 18S), gen 5.8S, dan large sub-unit (LSU rDNA 28S). Daerah *non-coding* terdiri atas *Internal Transcribed Spacer* (ITS1 dan ITS2) dan *Intergenic Spacer* (IGS) (James & Stratford, 2003).



Gambar 2.3. Unit Transkripsi ITS

Keterangan:

NTS: Non-transcribed Spacer

ETS: External Transcribed Spacer

ITS: Internal Transcribed Spacer

SSU: Small Sub-unit

LSU: Large Sub-unit

D: Domain (James & Stratford, 2003).

Daerah *coding* untuk identifikasi molekuler. Gen 5.8S dapat digunakan untuk identifikasi pada tingkat filum dan kelas. Gen LSU rDNA 28S memiliki variasi nukleotida yang lebih tinggi daripada gen SSU rDNA 18S dan 5.8S, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi sampai tingkat genus dan spesies (Guaro,1999).

Daerah ITS rDNA merupakan daerah *non-coding* (James & Stratford, 2003). Daerah ITS rDNA memiliki variasi urutan tinggi antaspecies (Ciardo *et al.*, 2006). Menurut James dan Stratford (2003), daerah ITS rDNA bahkan dapat digunakan untuk identifikasi spesies khamir yang berkerabat sangat dekat (*closely related species*).

2.5 Fermentasi Karbohidrat

Karbohidrat adalah zat gizi sebagai sumber utama yang paling penting bagi seluruh makhluk hidup, karena molekulnya menyediakan unsur karbon yang dapat dipergunakan oleh sel. Pada dasarnya terdapat empat jenis karbohidrat, yaitu monosakarida, disakarida, oligosakarida dan polisakarida (Muchtadi, D, 2009).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi dan deskriptif kualitatif. Penelitian eksplorasi dalam penelitian ini adalah dengan cara mengisolasi khamir pada bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) yang diperoleh dari Desa Banjarejo Kecamatan Pakis Kabupaten Malang. Penelitian deskriptif kualitatif dilakukan melalui pengamatan morfologi isolat *yeast* terpilih serta hasil identifikasi khamir secara biokimia dan molekuler.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai dengan bulan November 2018. Lokasi pengambilan sampel bunga pisang klutuk dilakukan di Desa Banjarejo RT. 03, RW. 02 Kecamatan Pakis Kabupaten Malang. Isolasi dan identifikasi *yeast* pada bunga pisang klutuk dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Biokimia, Optik dan analisis molekuler bertempat di Laboratorium Genetika dan Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung endofoft 50 ml, erlenmeyer, *beaker glass*, cawan petri, objek *glass*, *deckglass*, pipet volume, bola hisap, gelas ukur, labu ukur, spatula, mikropipet, timbangan analitik, inkubator, lemari pendingin, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, *hotplate*, mikroskop, korek,

jarum ose, pinset, pengaduk kaca, tabung reaksi, stirer, lemari es, sendok, jarum penebar, oven, kamera, *tube eppendorf* 0,5 mL dan 1,5 mL, rak tube, mikropipet, blue tip, yellow tip, white tip, vortex, spatula, *neraca analitic sartorius*, gelas ukur, *Erlenmeyer*, *microwave*, cetakan agar, perangkat elektroforesis, power suply *BIO-RAD*, *Molecular Imager® Agar Doc™ XR System BIO-RAD*, dan *MyCycler™ Thermal Cycler BIO-RAD*.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*), *Yeast Medium (YM)*, *Yeast Malt Extract Agar (YMEA)*, Media Fermentasi Karbohidrat, *Glucose Yeast Peptone Medium (GYP)* Konsentrasi Glukosa 50%, *Sodium DL-Lactate*, alkohol 70%, aquades, etanol absolut, TE (Tris-EDTA) buffer pH 7,6, spirtus, methilen blue, tissue, kertas minyak, kertas label alumunium foil, *agarose*, *Tris-Boric EDTA (TBE)*, *loading dye*, *Ethidium Bromide (EtBr) SIGMA-ALDRICH*, alkohol 70%, *Master Mix*, *primer ITS 1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')*, *primer ITS 4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')*.

3.3.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan cara membungkus cawan petri dengan kertas kemudian memasukkannya dalam plastik tahan panas dan alat-alat gelas lain yang dibungkus menggunakan alumunium foil. Selanjutnya alat-alat disterilisari menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

3.3.4 Pembuatan media

3.3.4.1 Media YM Broth (Yeast Malt Broth)

Media YMB dibuat dengan acuan buku Kurtzman dan Fell tahun 1998 dengan modifikasi. Pembuatan 1000 ml media YMB membutuhkan 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 3 gram *yeast extract*, 3 gram *malt extract* dan 1000 ml aquades. Bahan-bahan yang telah siap kemudian dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Tabung erlenmeyer kemudian ditutup menggunakan alumunium foil. Media kemudian dihomogenkan menggunakan *hotplate* tanpa pemanasan. Media yang telah dihomogenkan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C. Media YMB yang sudah steril ditambahkan antibiotik *Sodium DL-Lactate* sebanyak 120 µl pada saat suhu media sekitar 50°C (*Biomedical Engineering*, 2015). Media dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan (lampiran 1).

3.3.4.2 Media Yeast Malt Extract Agar (YMEA)

Media YMEA dibuat dengan acuan buku Kurtzman dan Fell tahun 1998 dengan modifikasi. Pembuatan 1000 ml media YMEA membutuhkan 20 *microbial agar*, 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 3 gram *yeast extract*, 3 gram *malt extract*, dan 1000 ml aquades. Bahan-bahan yang telah siap kemudian dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Tabung erlenmeyer kemudian ditutup menggunakan alumunium foil. Media kemudian dihomogenkan menggunakan *hotplate* tanpa pemanasan. Media yang telah homogen kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C. Media YMEA yang sudah steril diberikan antibiotik *Sodium DL-Lactate* sebanyak 120 µl pada saat suhu media sekitar 50°C (*Biomedical Engineering*, 2015). Media dihomogenkan dengan cara

digoyang-goyangkan. Media tersebut kemudian dituangkan pada setiap cawan petri steril sebanyak 20 ml dan ditunggu hingga mengeras (lampiran 2).

3.3.4.3 Media Fermentasi Karbohidrat

Media fermentasi karbohidrat dibuat dengan acuan buku Atlas tahun 2005 dengan modifikasi. Pembuatan 1000 ml media fermentasi karbohidrat membutuhkan 10 gram peptone, 5 gram NaCl, 3 gram meat extract, 50 ml *carbohidrat solution* dan 10 ml *Andrade's indicator*. Pembuatan *carbohidrat solution* dan *Andrade's indicator* dilakukan secara terpisah. Pembuatan media fermentasi dilakukan dengan mengencerkan bahan tersebut selain *carbohidrat solution* dengan 990 ml aquades. Setelah homogen kemudian media fermentasi yang berada pada erlenmeyer dimasak dengan air mendidih sampai media fermentasi berubah warna menjadi merah.

Pembuatan 100 ml *carbohidrat solution* dilakukan dengan mengencerkan 10 gr gula (jenis gula yang diinginkan sebagai sumber karbohidrat pada uji fermentasi) pada 100 ml aquades. Jenis gula yang digunakan pada penelitian ini adalah fruktosa, glukosa, dan sukrosa. Kemudian *carbohidrat solution* disterilisasi dengan *autoklaf*. Sedangkan pembuatan *Andrade's indicator* sebanyak 100 ml dibutuhkan acid fuchsin 0,1 gram dan NaOH (1 N Solution) 16 ml. Bahan-bahan tersebut kemudian dilarutkan pada aquades.

Media fermentasi karbohidrat yang telah berwarna merah kemudian dimasukkan sebanyak 10 ml pada tabung reaksi yang telah diletakkan tabung durham didalamnya. Kemudian dipastikan media fermentasi juga masuk memenuhi tabung durham dengan cara mengocok tabung reaksi secara perlahan. Kemudian tabung reaksi ditutup dan dilakukan proses sterilisasi dengan autoklaf.

Setelah media dingin kemudian ditambahkan 0,5 ml *carbohidrat solution* steril pada setiap tabung.

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

Media GYP 1000 ml dengan konsentrasi glukosa 50% dibuat dengan mengencerkan 500 gram glukosa, 5 gram peptone, 5 gram *yeast extract* dan 15 gram *microbial agar* pada 1000 ml aquades. Media GYP kemudian dihomogenkan dan disterilisasi menggunakan *autoclaf*. Media GYP yang telah steril kemudian dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml kemudian ditunggu hingga mengeras (Kurtzman dan Fell, 1998).

3.3.5 Isolasi Khamir

Isolasi khamir yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan teknik Winogradsky dengan modifikasi yang dikenal dengan nama *enrichment culture on selective media* (Martini, A, 2007). Teknik ini digunakan untuk mengisolasi khamir pada substrat alami (buah). Cara kerja dari teknik ini adalah memperbanyak *culture* dengan memberikan media bernutrisi, sehingga *culture* khamir tumbuh dengan cepat pada media tersebut atau dikenal dengan “*auto-enrichment culture*”. *Culture* diinkubasi pada media sampai dengan terjadi proses fermentasi.

Sample bunga pisang klutuk (*Musa balbisiana*) yang telah disiapkan, dipisahkan terlebih dahulu dari tandan, kemudian dimasukkan bunga pisang ke dalam tabung ependorf steril berukuran 50 ml sebanyak 15 gram. Tabung ependorf yang berisi bunga pisang kemudian ditambahkan dengan media YM *Broth* hingga mencapai 50 ml, kemudian diinkubasi dengan suhu ruangan (25°C-

27°C) selama 24-72 jam. Setelah media mengeluarkan gelembung, aroma fermentasi serta volume yang meningkat, dilakukan pengenceran terhadap sample tersebut (Kurtzman dan Fell, 1998).

Pengenceran dilakukan dengan melarutkan media *YM Broth* ke dalam aquades steril dan diencerkan hingga 10^{-3} (Sugiawan, 2006). Menurut Thompson (1969) 1 ml sample dilarutkan dalam 9 ml aquades steril dalam tabung reaksi, kemudian dikocok dengan menggunakan vortex hingga homogen. Larutan 10^{-1} tersebut kemudian diencerkan kembali hingga mendapat larutan 10^{-2} dan larutan 10^{-2} dilakukan pengenceran kembali hingga mendapat larutan 10^{-3} .

Masing-masing sample dari hasil pengenceran dituangkan sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri yang telah berisi media YMEA, kemudian diratakan dengan menggunakan batang penebar (masing-masing sampel hasil pengenceran diinokulasikan pada media YMEA sebanyak 2 kali ulangan) untuk dilakukan inkubasi pada suhu 25°C - 27°C selama 2 hari. Biakan sample yang telah tumbuh kemudian diamati koloni yang tumbuh (lampiran 3).

3.3.6 Purifikasi

Purifikasi khamir dilakukan dengan cara memilih koloni yang terlihat berbeda dengan koloni yang lain dari segi morfologi dan tumbuh secara dominan pada media (Widiastutik dan Nur, 2014). Kemudian koloni terpilih distreak plate pada media YMEA miring (Cyriacus dan Kingsley, 2010). Isolat khamir hasil isolasi yang terdapat pada media YMEA kemudian diambil 1 koloni dengan menggunakan jarum ose dan ditanam pada 3 ml YMB. Isolate kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 24-72 jam. Isolat yang telah tumbuh kemudian dipindah pada media YMEA sebanyak 20 ul dan diratakan dengan

jarum penebar. Isolate diinkubasi selama 24-72 jam pada suhu ruang. Isolate yang telah tumbuh pada YMEA kemudian koloni terpilih distreak plate pada media YMEA miring. Isolat diinkubasi hingga tumbuh selama 24-72 jam pada suhu ruang (lampiran 4).

3.3.7 Identifikasi Morfologi Khamir

3.3.7.1 Pengamatan Makroskopis

Identifikasi khamir secara makroskopik dilakukan dengan menggunakan buku acuan *The Yeast Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 1998). Identifikasi makroskopik dilakukan pada isolat hasil purifikasi yang berumur 24-72 jam. Karakter makroskopis yang diamati berdasarkan kenampakan atau morfologi koloni yang tumbuh pada media padat, meliputi: tekstur koloni, warna koloni, tepi atau margin koloni, elevasi, dan permukaan koloni (Suryaningsih, 2018).

3.3.7.2 Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis merupakan pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan mikroskop serta objek diwarnai dengan menggunakan pewarna *Methylene blue* untuk melihat bentuk sel, *budding* dan ukuran sel (Suryaningsih, 2018). Preparat khamir dibuat dengan isolat hasil purifikasi yang berumur 24-72 jam. Objek gelas steril disiapkan kemudian pijarkan jarum ose pada api bunsen. Jarum ose yang telah steril digunakan untuk mengambil isolat khamir kemudian gesekan pada objek gelas dan tetesi dengan aquades kemudian fiksasi. Preparat yang telah kering kemudian dilakukan pewarnaan dengan menggunakan *methylene blue* selama 20 detik kemudian bilas dengan aquades untuk menghilangkan zat

warna yang lebih. Preparat yang telah siap kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop.

3.3.8 Identifikasi Biokimia

3.3.8.1 Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat merupakan uji gula dengan menggunakan berbagai macam jenis gula seperti pada penelitian ini yang menggunakan gula glukosa, fruktosa dan galaktosa. Uji fermentasi karbohidrat dalam adalah sebagai tolak ukur dalam menentukan isolat untuk lanjutan identifikasi pertumbuhan khamir pada media dengan konsentrasi gula 50% dan identifikasi molekuler. Uji fermentasi karohidrat ini menjadi dasar pengaplikasian khamir dalam hal kemampuan fermentasi karbohidrat. Uji fermentasi karbohidrat menggunakan isolat khamir sebanyak 100 µl berumur 48 jam yang dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi berisi 10 ml larutan fermentasi karbohidrat. Isolat kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang dan diamati perubahannya setiap hari. *Andrade's indicator* pada media fermentasi karbohidrat berfungsi sebagai indikator pH . Perubahan media dari merah menjadi kuning menunjukkan reaksi positif, hal ini mengindikasikan khamir telah menghasilkan asam sehingga merubah pH media menjadi asam. Sedangkan tetapnya warna merah media disertai adanya gelembung menunjukkan adanya reaksi fermentasi karbohidrat menjadi etanol. Sedangkan penggunaan tabung durham untuk menangkap gelembung-gelembung udara sebagai hasil dari proses fermentasi. Pengamatan pada uji fermentasi karbohidrat dilakukan selama 7 hari (Harley & Prescott, 2002).

3.3.8.2 Uji Pertumbuhan pada *Medium Glucose Yeast Peptone* Konsentrasi

Gula 50%

Uji pertumbuhan pada medium glukosa 50% dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat ke dalam medium *Glucose Yeast Peptone* dengan konsentrasi gula 50%. Isolat cair yang berumur 24-72 jam kemudian dituang pada medium *Glucose Yeast Peptone* dengan konsentrasi gula 50%. Isolat selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang dan diamati pertumbuhannya selama 24-48 jam dengan 2 kali ulangan (Suryaningsih, 2018).

3.3.9 Identifikasi Molekuler

3.3.9.1 PCR Koloni

Isolasi dan pemurnian DNA adalah kunci dalam keberhasilan identifikasi molekuler sehingga PCR koloni merupakan metode yang tepat. Metode PCR koloni merupakan metode amplifikasi yang sederhana, spesifik, dan sensitif. Penelitian ini menggunakan metode PCR koloni yang menggunakan sel khamir langsung sebagai templat, tanpa ekstraksi dan pemurnian DNA sebelum PCR. PCR koloni merupakan cara termudah dan nyaman untuk DNA amplifikasi khamir (Mirhendi *et al.*, 2007).

Amplifikasi daerah ITS rDNA dilakukan dengan pembuatan PCR mix dengan volume 25 μL , yang terdiri dari DNA *template* (koloni khamir) sebanyak 1 μL , *Primer forward* 1 μL 10 pmol, *primer reverse* 1 μL 10 pmol, ddH₂O 7,5 μL , PCR mix 12,5 μL . Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah ITS 1 (5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') sebagai *forward primer* dan ITS 4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai *reverse primer*. Amplifikasi dimulai dengan tahapan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 7 menit (1

siklus), selanjutnya 30 siklus yang terdiri dari: *Denaturasi* 94°C selama 45 detik, *annealing* 56°C selama 60 detik dan pemanjangan (*extension*) 72°C selama 60 detik. Kemudian *post extension* 72°C selama 7 menit (Mirhendi *et al.*, 2007).

3.3.9.2 Uji Kualitas DNA

Deteksi hasil isolasi menggunakan *elektroforesis horizontal* atau sering disebut *elektroforesis agarose*, menurut Ausubel, *et al.*, (1995) dengan konsentrasi gel *agarose* yang digunakan adalah 1 % untuk hasil dari isolasi DNA dan 1,5% untuk hasil PCR. Waktu yang digunakan dalam proses elektroforesis adalah 30 menit dan tegangan listriknya adalah 100 volt. Kemudian hasil elektroforesis dilihat dengan menggunakan alat *Geldoc*.

3.3.9.3 Sequencing

Hasil amplifikasi yang didapatkan kemudian disequencing menggunakan jasa perusahaan Bioneer Korea Selatan. Hasil *sequencing* yang diterima kemudian diolah menggunakan *BioEdit*. Kemudian dianalisis menggunakan web NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) secara online (Haddad, *et al.*, 2014). Selanjutnya data dianalisis dengan cara mensejajarkan sekuens isolat yang diperoleh dengan sekuens fungi pembanding yang diperoleh dari *GenBank* NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kemudian *sekuens* disejajarkan dengan program Mega (Thompson, 1997). File *fasta* hasil penyejajaran kemudian diimport ke dalam program MEGA 6.0 untuk mencari model substitusi terbaik (*best-fit substitution model*) untuk analisis pohon filogenetik. Setelah didapatkan model substitusi terbaik selanjutnya dibuat pohon filogenetik dengan menggunakan metode algoritma *Neighbor Joining*

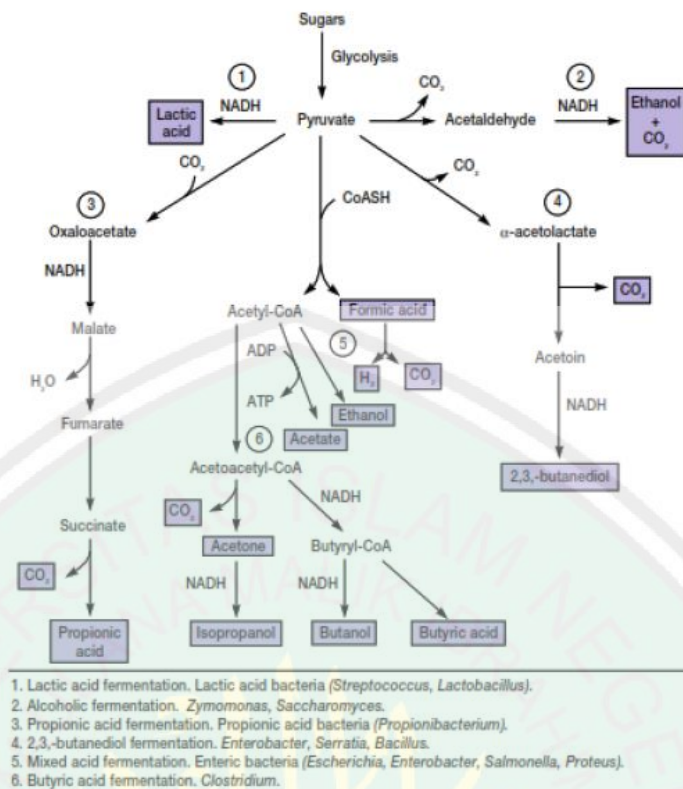
(NJ).Program BLAST (Basic Local Allignment Search Tools) digunakan sebagai analisis penyejajaran. Urutan tersebut kemudian dibandingkan dengan *database* yang diakses melalui NCBI *Genbank* www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST (Haddad *et al.*, 2014).

3.4 Analisa Data

Data yang diperoleh disusun dalam bentuk tabel serta gambar. Analisis data dilakukan secara deskriptif yang meliputi data pengamatan makroskopik dan mikroskopik. Data hasil sekuensing *ITS* dibaca dengan *BioEdit* Kecocokan *ITS* dengan *Query* yang diperoleh dari Gene Bank diketahui dengan program BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) (Haddad *etal.*, 2014).

Data hasil penelitian dianalisis dan diintegrasikan dengan ayat-ayat Al-Quran dan Hadits. Analisis diintegrasikan yang dilakukan akan memberikan manfaat secara ilmiah maupun secara keislaman. Hal ini akan memberikan kesadaran bagi manusia yang memiliki peranan sebagai khalifah di bumi.

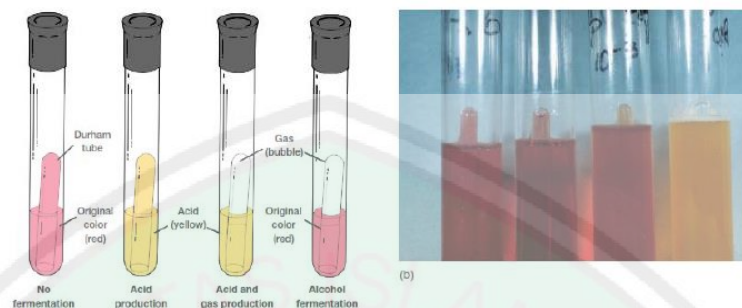
Allah S.W.T menciptakan manusia sebagai khalifah di bumi, agar manusia dapat menjaga apa saja yang telah Allah ciptakan. Hal ini menunjukkan bahwa telah menjadi keharusan bagi umat manusia mengetahui nama sesuatu makhluk ciptaan Allah, agar dapat selalu menjaga, merawatnya dan memanfaatkannya dengan baik.



Gambar 2.4. Bagan Jalur Utama Fermentasi (Harley & Prescott., 2002)

Menurut Harley & Prescott., (2002) bahwa kemampuan dari mikroba untuk mengubah karbohidrat menjadi suatu produk metabolisme tertentu sangat berguna dalam identifikasi. Hal ini dikarenakan karbohidrat dapat difermentasi ke sejumlah produk akhir yang berbeda tergantung pada mikroba yang terlibat (Gambar 2.4). Produk akhir pada proses fermentasi karbohidrat dapat berupa alkohol, asam, gas, atau molekul organik lainnya. Hal ini merupakan karakteristik khusus dari mikroba yang berperan. Contohnya jika suatu isolat mikroba ditumbuhkan pada medium yang mengandung karbohidrat glukosa, mikroba tersebut dapat menghasilkan asam organik sebagai produk sampingan dari proses metabolisme. Asam-asam ini dilepaskan ke medium dan menurunkan pH medium. Jika pada medium ditambahkan pH indikator seperti fenol merah atau

bromcresol ungu, maka akan terjadi perubahan warna medium dari yang aslinya berwarna merah menjadi warna (gambar 2.5).



Gambar 2.5. Fermentasi Karbohidrat (Harley & Prescott., 2002)

Menurut Harley & Prescott (2002) bahwa gas yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat dideteksi dengan menggunakan tabung kecil yang terbalik, yang disebut tabung Durham (dinamai Herbert Edward Durham, bakteriolog Inggris, 1866–1945), dalam media biakan cair. Setelah menambahkan jumlah komposisi media yang tepat pada tabung reaksi, tabung Durham dimasukkan ke masing-masing tabung reaksi. Selama autoklaf, udara dikeluarkan dari tabung Durham, sehingga tabung Durham menjadi penuh medium. Jika ada gas yang diproduksi oleh suatu isolat mikroba, maka medium cair di dalam tabung Durham akan dipindahkan, menjebak gas dalam bentuk gelembung-gelembung udara (gambar 2.5). Khamir yang telah diuji dengan menggunakan uji fermentasi karbohidrat kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Glucose Yeast Peptone Medium* (GYP) Konsentrasi Glukosa 50%.

Glucose Yeast Peptone Medium (GYP) Konsentrasi Glukosa 50% merupakan uji yang berfungsi mengetahui khamir yang hidup pada lingkungan dengan kadar gula yang tinggi. Pada uji fermentasi gula dengan konsentrasi gula

yang tinggi khamir mempunyai reaksi positif pada gula dekstrosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, raffinosa, trehalosa, dan negatif pada gula laktosa (Lodder, 1970). Khamir yang hidup pada kadar gula yang tinggi disebut khamir osmotoleran. Menurut Pfannebecker *et al.* (2016) bahwa khamir osmotoleran yang dapat hidup pada lingkungan dengan kadar gula tinggi, yaitu sekitar 50%-70%. Khamir osmotoleran merupakan khamir yang hidup pada kadar gula yang tinggi serta dapat pula hidup pada kadar garam yang tinggi. Khamir osmotoleran merupakan khamir yang dimanfaatkan oleh manusia sebagai fermipan. Khamir osmotoleran adalah strain khusus khamir kering instan yang berkinerja lebih baik dalam adonan gula tinggi daripada khamir lainnya (Dijken & Alexander, 1986).

Khamir sangat penting dalam fermentasi adonan, selain untuk mengembangkan adonan dan meningkatkan volume adonan, khamir juga membantu menciptakan rasa dan tekstur. Khamir menghasilkan gas karbon dioksida selama fermentasi, kemudian terperangkap dalam jaringan gluten yang menyebabkan roti bisa mengembang. Karbon dioksida yang dihasilkan mematangkan dan mengempukan gluten dalam adonan. Komponen lain yang terbentuk selama proses fermentasi seperti alkohol juga berkontribusi terhadap rasa dan aroma roti, namun alkohol akan menguap dalam proses pengembangan roti (Fleury *et al.* , 2002).

2.6 Analisis Daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) rDNA Khamir

Daerah ITS dapat dilakukan analisis *sequence* dengan menggunakan beberapa tahapan. Tahapan-tahapan dalam analisis *sequence* antara lain, isolasi DNA *genom*, *Poly Chain Reaction* (PCR), elektroforesis, purifikasi produk PCR,

cycle sequencing, purifikasi produk *cycle sequencing* dan *sequencing* (Sjamsuridzal, 2008).

Sequencing adalah pembacaan urutan asam basa nukleotida DNA (Starr *et al.*, 2004). Metode ini dilakukan dengan menggunakan metode *Sanger dideoxy-chain termination* (Sambrook & Russel, 2001). DNA cetakan diamplifikasi dengan menggunakan DNA oligonukleotida (sebagai primer), DNA polimerase, deoksinukleotida (dNTP) dan dideoksinukleotida (ddNTP). Setiap ddNTP diberi pewarna berfluoresensi yang berfungsi sebagai label. Fragmen DNA yang disintesis melekat pada ujung 3' dan mengandung dideoksinukleotida. Fragmen-fragmen DNA tersebut kemudian dipisahkan berdasarkan ukurannya melalui kapiler dan detektor laser akan membaca label yang berfluoresen dari setiap fragmen (Moat *et al.*, 2002).

Hasil *sequence* yang diperoleh diubah ke dalam format FASTA untuk kemudian diproses. Urutan nukleotida dalam format FASTA merupakan input untuk alignment dengan menggunakan program Clustal 1.83. *Sequence* daerah ITS untuk semua spesies khamir tersedia dalam database DNA international Genbank pada situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Data *sequence* daerah ITS yang diperoleh dari suatu isolat khamir dapat dikirim melalui program pencarian homologi Basic Local Alignment Search Tools (BLAST) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/> sehingga diketahui tingkat homologinya terhadap spesies terdekat yang ada di database DNA Genbank. Suatu hasil *sequence* DNA khamir dianggap sebagai spesies yang sama apabila memiliki homologi 99% (Sugita, 1999).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Jenis Khamir Pada Bunga Pisang Klutuk (*Musa balbisiana*) Berdasarkan Karakter Morfologi

Isolasi dan identifikasi khamir telah berhasil dilakukan dengan menemukan 7 isolat khamir yang berasal dari bunga pisang klutuk. 7 isolat khamir yang berhasil ditemukan diberi kode isolat sebagai berikut, yaitu: YI-1, YI-2, YI-3, YI-4, YI-5, YI-6 dan YI-7. Isolat-isolat khamir yang berhasil ditemukan kemudian diidentifikasi karakter morfologi berdasarkan pada buku *The Yeast: A Taxonomic Study* baik secara makroskopis dan mikroskopis (Kurtzman & Fell, 1998). Tiga dari tujuh isolat khamir berhasil diidentifikasi secara molekuler setelah terseleksi dalam uji fermentasi karbohidrat. Hasil identifikasi yang telah dilakukan terdapat pada tabel 4.1 untuk identifikasi secara makroskopis dan pada tabel 4.2 untuk identifikasi secara mikroskopis.

Warna koloni dari isolat-isolat yang ditemukan dalam penelitian ini dominan warna putih dan krem (Tabel 4.1). Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan khamir-khamir yang diisolasi dari bunga pisang klutuk termasuk ke dalam kelompok khamir *Ascomycetes* bukan dari kelompok khamir *Bacidiomycetes*. Menurut Fell *et al.* (1998) kelompok khamir *Bacidiomycetes* umumnya memiliki pigmen dengan warna-warna terang seperti merah muda, merah dan jingga, akan tetapi berbeda dengan kelompok khamir *Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna putih dan krem.

Tabel 4.1 Morfologi Makroskopis Khamir

Kode		Morfologi Koloni				
Isolat	Bentuk	Tekstur	Warna	Permukaan	Elevasi	Tepi
YI-1	Bulat	Seperti mentega	Putih Krem	Tidak halus	Timbul	Filamen
YI-2	Bulat	Seperti mentega	Krem	Halus	Timbul	Rata
YI-3	Bulat	Seperti mentega	Krem	Tidak halus	Timbul	Filamen
YI-4	Bulat	Seperti mentega	Krem	Halus	Timbul	Rata
YI-5	Bulat	Seperti mentega	Krem	Halus	Timbul	Rata
YI-6	Bulat	Seperti mentega	Krem	Halus	Timbul	Rata
YI-7	Bulat	Seperti mentega	Krem	Halus	Timbul	Rata

Tabel 4.2 Morfologi Mikroskopis Khamir

Kode Isolat	Morfologi Mikroskopik		
	Bentuk Sel	Reproduksi aseksual	Ukuran (mm)
YI-1	Lonjong	Pertunasan Multilateral	0,05-0,10
YI-2	Oval	Pertunasan Multilateral	0,07-0,08
YI-3	Oval	Pertunasan Multilateral	0,05-0,09
YI-4	Oval	Pertunasan Multilateral	0,05-0,08
YI-5	Oval	Pertunasan Multilateral	0,06-0,07
YI-6	Lonjong	Pertunasan Multilateral	0,05-0,06
YI-7	Oval	Pertunasan Multilateral	0,06-0,10

Hasil karakterisasi khamir isolat YI-1 pada bunga pisang klutuk secara makroskopis dan mikroskopis disajikan pada tabel 4.1 dan pada gambar 4.2. Isolat khamir ditumbuhkan pada *Yeast Media Extract Agar* (YMEA) dengan suhu 28°C pada inkubator. Koloni pada medium *Yeast Media Extract Agar* (YMEA) sudah mulai terlihat pada hari pertama penanaman. Hal ini sesuai dengan firman Allah S.W.T sebagaimana yang dijelaskan dalam al-Quran surat Faatir (35): ayat 28:

وَمِنَ النَّاسِ وَالْأَنْعَامِ خُلُقَاتٌ أَلْوَنُهُ ۚ كَذَٰلِكَ إِنَّمَا يَخْشَى اللَّهَ مِنْ عِبَادِهِ الْعُلَمَاءُ ۗ إِنَّ اللَّهَ عَزِيزٌ غَفُورٌ ﴿٢٨﴾

Artinya: “Dan demikian (pula) di antara manusia, makhluk bergerak yang bernyawa, dan hewan-hewan ternak ada yang bermacam-macam warnanya (dan jenisnya). Di antara hamba-hamba Allah yang takut kepada-Nya, hanyalah para ulama. Sungguh, Allah Maha Perkasa, Maha Pengampun”(QS. Faatir (35): 28)

Kata *mukhtalifun* oleh banyak ulama dipahami bahwa keragaman itu juga terdapat pada seluruh makhluk hidup. Pada ayat tersebut dijelaskan tentang manusia, binatang-binatang ternak seperti unta, domba, dan sapi yang bermacam-macam bentuk, jenis, dan warnanya. Sama hal-nya dengan keragaman pada satu jenis tumbuhan yang memiliki banyak keragaman mulai dari warna, jenis, ukuran (Shihab, 2002)

Ayat tersebut juga menekan pada keanekaragaman. Dalam hal ini dapat diibaratkan keanekaragaman yang juga terdapat pada khamir dari segi morfologi koloni yang meliputi bentuk, tekstur, warna, permukaan, elevasi dan tepian koloni. Hal ini juga berlaku pada morfologi sel khamir yang meliputi bentuk sel, ukuran sel dan reproduksi aseksualnya yang beranekaragam.

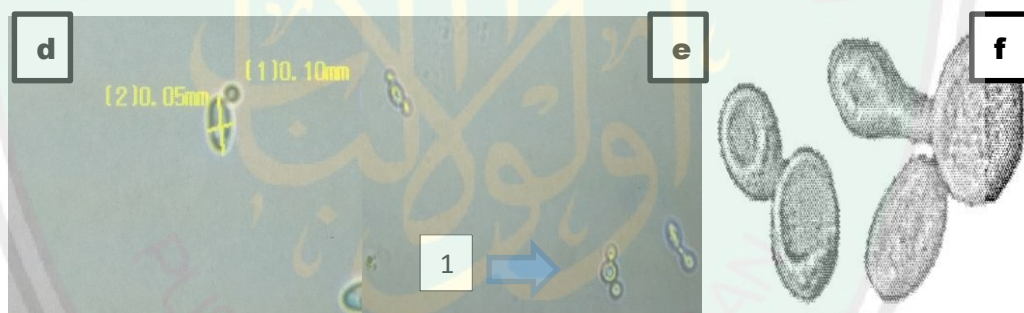
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis (gambar 4.1.a) koloni isolat YI-1 perbesaran 11x memiliki bentuk bulat dengan tekstur seperti mentega. Warna koloni krem dengan bentuk permukaan tidak halus serta elevasi

yang tidak rata. Menurut Fell *et al.* (1998) *class Ascomycetes* merupakan *class* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga koloninya berwarna putih dan krem. Koloni isolat YI-1 memiliki tepi yang rata.



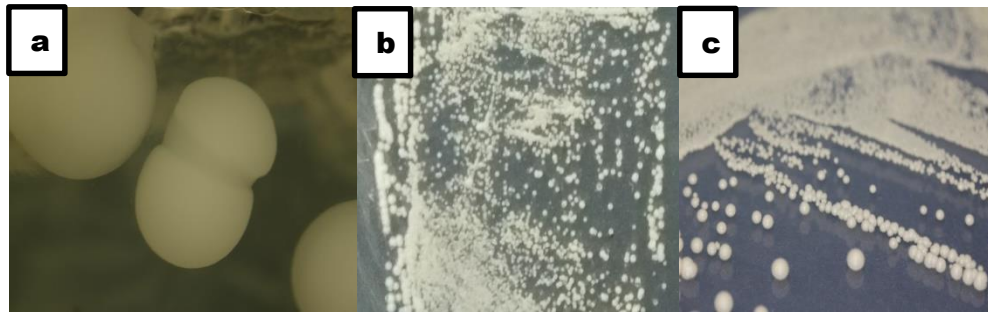
Gambar 4.1 a) Koloni isolat YI-1 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-1, c) *Saccharomyces cerevisiae* JCM 5918 (JCM Catalogue, 1986)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.2.e) dari isolat YI-1 adalah memiliki bentuk sel oval lonjong dengan ukuran 0,05-0,10 mm. Isolat YI-1 ini melakukan reproduksi vegetatif secara *multilateral budding* (gambar 4.2.f). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YI-1 ini termasuk dalam *class Ascomycetes*.



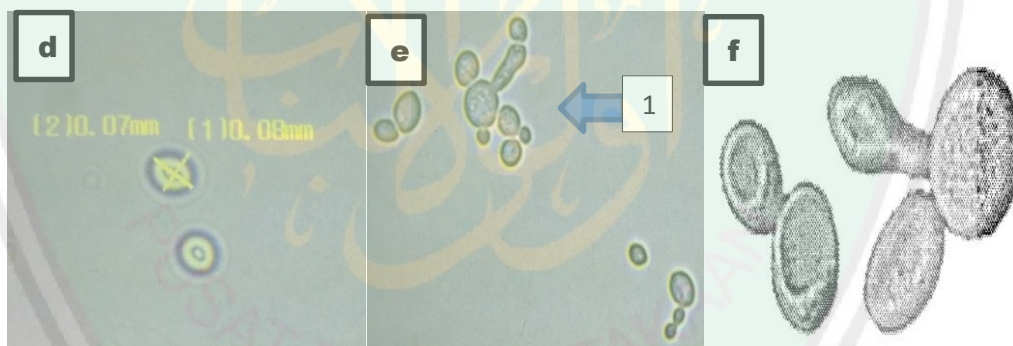
Gambar 4.2 d) Sel isolat YI-1 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-1, f) Pertunasan Multilateral (Kurtzman & Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis (gambar 4.3.a) isolat YI-2 memiliki bentuk bulat dengan tekstur seperti mentega. Warna koloni putih krem dengan bentuk permukaan halus serta elevasi timbul. Menurut Fell *et al.* (1998) *class Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna putih dan krem. Isolat YI-2 memiliki tepi koloni yang rata.



Gambar 4.3 a) Koloni isolat YI-2 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-2, c) *Saccharomyces cerevisiae* JCM 1817 (JCM Catalogue, 1983)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.4.d) dari isolat YI-2 adalah memiliki bentuk sel bulat oval dengan ukuran 0,07-0,08 mm. Menurut Kurtzman & Fell (1998) pertumbuhan pada *genus Saccharomyces* sel bulat, bulat telur atau memanjang, sedangkan pertumbuhan koloninya bertekstur seperti mentega dan berwarna krem muda dengan permukaan halus dan tepi rata. Isolat YI-2 melakukan reproduksi vegetatif secara *multilateral budding* (gambar 4.4.f). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YI-2 ini termasuk dalam *class Ascomycetes genus Saccharomyces*



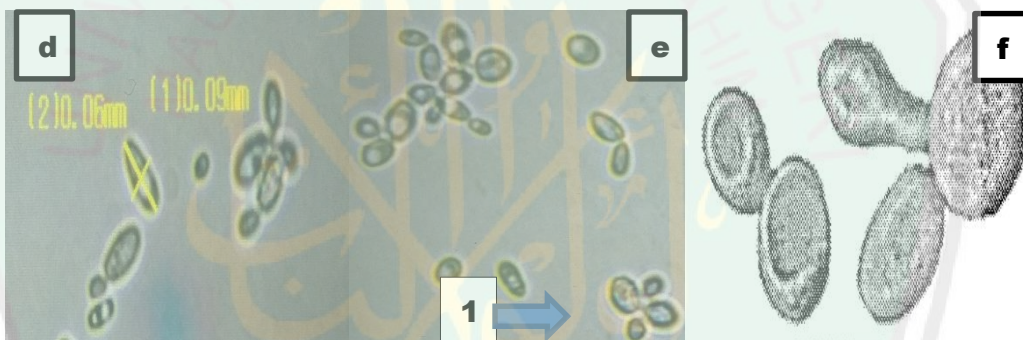
Gambar 4.4 d) Sel isolat YI-2 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-2, f) Pertunasan Multilateral (Kurtzman & Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis (gambar 4.5.a) isolat YI-3 memiliki bentuk koloni bulat dengan tekstur seperti mentega. Warna koloni krem dengan bentuk permukaan tidak rata serta elevasi timbul. Menurut Fell *et al.* (1998) *class Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna putih dan krem. Isolat YI-3 memiliki tepi yang filamen.



Gambar 4.5 a) Koloni isolat YI-3 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-3, c) *Millerozyma farinosa* JCM 3578 (JCM Catalogue, 1984)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.6.d) pada isolat YI-3 memiliki bentuk sel bulat oval dengan ukuran 0,05-0,09 mm. Isolat YI-3 melakukan reproduksi vegetatif dengan cara *multilateral budding* (gambar 4.6.e). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YI-3 ini termasuk dalam *class Ascomycetes*.



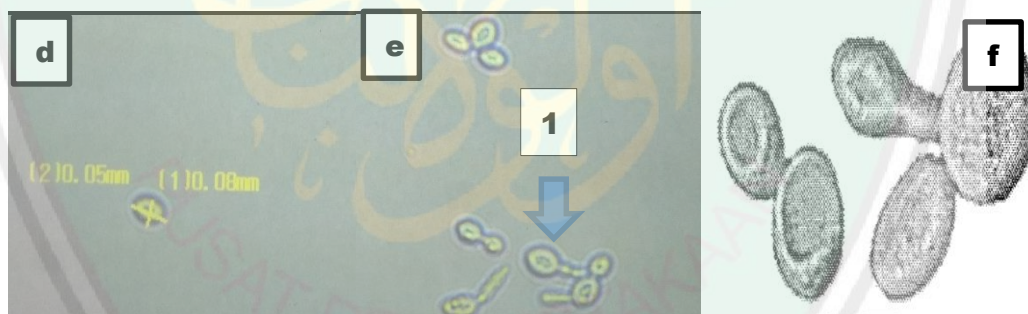
Gambar 4.6 d) Sel isolat YI-3 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-3, f) Pertunasan Multilateral (Kurtzman & Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis (gambar 4.7.a) isolate YI-4 memiliki bentuk bulat dengan tekstur *butyrous*. Warna koloni krem dengan bentuk permukaan rata serta elevasi yang timbul. Menurut Fell *et al.* (1998) *class Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna putih dan krem. Isolat YI-4 memiliki tepi yang rata.



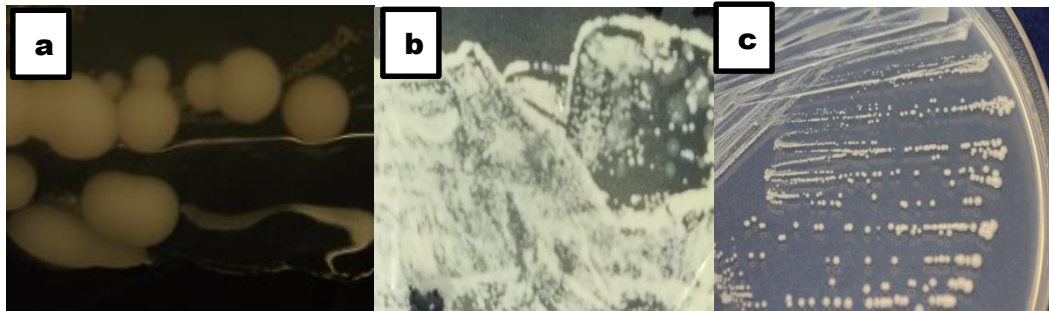
Gambar 4.7 a) Koloni isolat YI-4 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-4, c) *Saccharomyces cerevisiae* JCM 2330 (JCM Catalogue, 1983)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.8.b) pada isolat YI-4 adalah memiliki bentuk sel bulat oval dengan ukuran 0,05-0,08 mm. Menurut Kurtzman & Fell (1998) pertumbuhan pada *genus Saccharomyces* sel bulat, bulat telur atau memanjang, sedangkan pertumbuhan koloninya bertekstur butyrous dan berwarna krem muda dengan permukaan halus dan tepi filamen. Isolat YI-4 melakukan reproduksi vegetatif secara *multilateral budding* (gambar 4.4.c). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YI-4 ini termasuk dalam *class Ascomycetes* genus *Saccharomyces*.



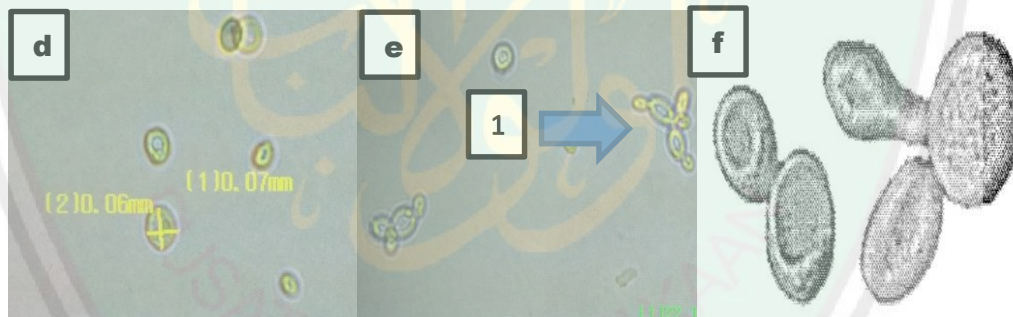
Gambar 4.8 d) Sel isolat YI-4 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-4, f) Pertunasan Multilateral (Kurtzman & Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis (gambar 4.9.a) isolate YI-5 memiliki bentuk bulat dengan tekstur *butyrous*. Warna koloni putih kusam dengan bentuk permukaan halus serta elevasi yang timbul. Menurut Fell *et al.* (1998) *class Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna putih dan krem. Isolat YI-5 memiliki tepi yang rata.



Gambar 4.9 a) Koloni isolat YI-5 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-5, c) *Kazachstania servazzii* JCM 5200 (JCM Catalogue, 1986)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.10.b) pada isolat YI-5 adalah memiliki bentuk sel bulat oval dengan ukuran 0,06-0,07 mm. Menurut Kurtzman & Fell (1998) pertumbuhan pada *genus Saccharomyces* sel bulat, bulat telur atau memanjang, sedangkan pertumbuhan koloninya bertekstur butyrous dan berwarna krem muda dengan permukaan halus dan tepi rata. Isolat YI-4 melakukan reproduksi vegetatif secara *multilateral budding* (gambar 4.10.c). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YI-5 ini termasuk dalam *class Ascomycetes genus Saccharomyces*.



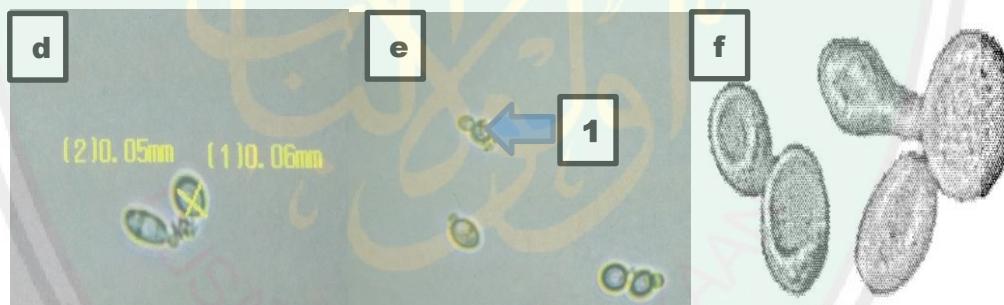
Gambar 4.10 d) Sel isolat YI-5 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-5, f) Pertunasan Multilateral (Kurtzman & Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis (gambar 4.11.a) isolat YI-6 memiliki bentuk bulat dengan tekstur *butyrous*. Warna koloni putih kusam dengan bentuk permukaan halus serta elevasi yang timbul. Menurut Fell *et al.* (1998) *class Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna krem. Isolat YI-6 memiliki tepi yang rata.



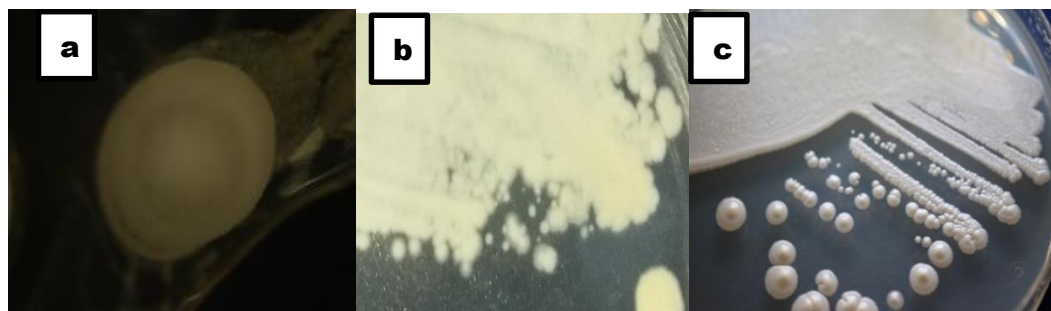
Gambar 4.11 a) Koloni isolat YI-6 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-6, c) *Saccharomyces cerevisiae* JCM 2222 (JCM Catalogue, 1983)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.6.b) pada isolat YI-6 adalah memiliki bentuk sel bulat oval dengan ukuran 0,05-0,06 mm. Menurut Kurtzman & Fell (1998) pertumbuhan pada *genus Saccharomyces* sel bulat, bulat telur atau memanjang, sedangkan pertumbuhan koloninya bertekstur *butyrous* dan berwarna krem muda dengan permukaan halus dan tepi rata. Isolat YI-4 melakukan reproduksi vegetatif secara *multilateral budding* (gambar 4.12.c). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YI-6 ini termasuk dalam *class Ascomycetes genus Saccharomyces*.



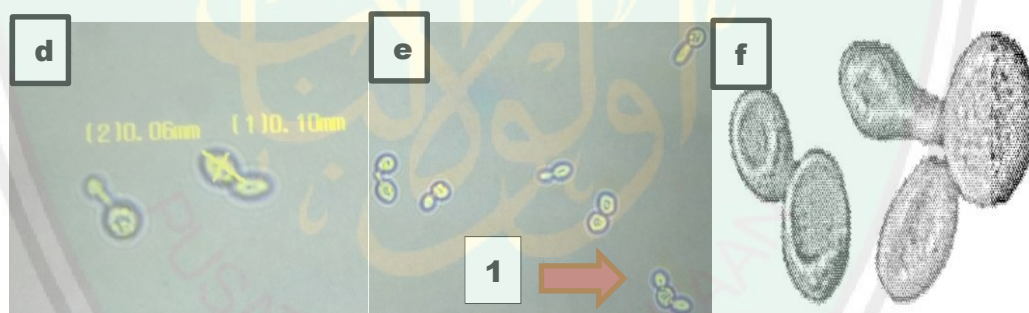
Gambar 4.12 d) Sel isolat YI-6 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-6, f) *Saccharomyces cerevisiae* (Kurtzman & Fell, 1998).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis (gambar 4.13.a) isolat YI-7 memiliki bentuk bulat dengan tekstur *butyrous*. Warna koloni putih kusam dengan bentuk permukaan halus serta elevasi yang timbul. Menurut Fell *et al.* (1998) *class Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga warna koloni dominan warna putih. Isolat YI-7 memiliki tepi yang rata.



Gambar 4.13 a) Koloni isolat YI-7 perbesaran 11x, b) Koloni isolat YI-7, c) *Saccharomyces cerevisiae* JCM 2219 (JCM Catalogue, 1983)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.14.b) pada isolat YI-7 adalah memiliki bentuk sel bulat oval dengan ukuran 0,06-0,10 mm. Menurut Kurtzman & Fell (1998) pertumbuhan pada *genus Saccharomyces* sel bulat, bulat telur atau memanjang, sedangkan pertumbuhan koloninya bertekstur butyrous dan berwarna krem muda dengan permukaan halus dan tepi rata. Isolat YI-4 melakukan reproduksi vegetatif secara *multilateral budding* (gambar 4.14.c). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YI-7 ini termasuk dalam *class Ascomycetes genus Saccharomyces*.



Gambar 4.14 d) Sel isolat YI-7 perbesaran 400x, e.1) Pertunasan sel isolat YI-7, f) Pertunasan Multilateral (Kurtzman & Fell, 1998).

4.2 Uji Kemampuan Isolat Khamir dalam Hal Fermentasi

Uji fermentasi karbohidrat 7 isolat khamir yang berhasil diisolasi dari bunga pisang klutuk, dalam penelitian ini dilakukan uji fermentasi dengan sumber karbohidrat fruktosa, glukosa, dan galaktosa. Pemilihan ketiga jenis gula ini berdasarkan jenis gula monosakarida. Gula monosakarida merupakan gula sederhana yang mudah diuraikan oleh khamir. Menurut Suryaningsih (2018) menjelaskan bahwa khamir memanfaatkan gula sederhana untuk mendapatkan energi dengan cepat. Prosedur penelitian ini mengikuti prosedur penelitian Harley

& Prescott (2002) dengan sedikit modifikasi dari Atlas (2005) dengan tiga kali pengulangan pada masing-masing isolate (lampiran 6, 7 dan 8).

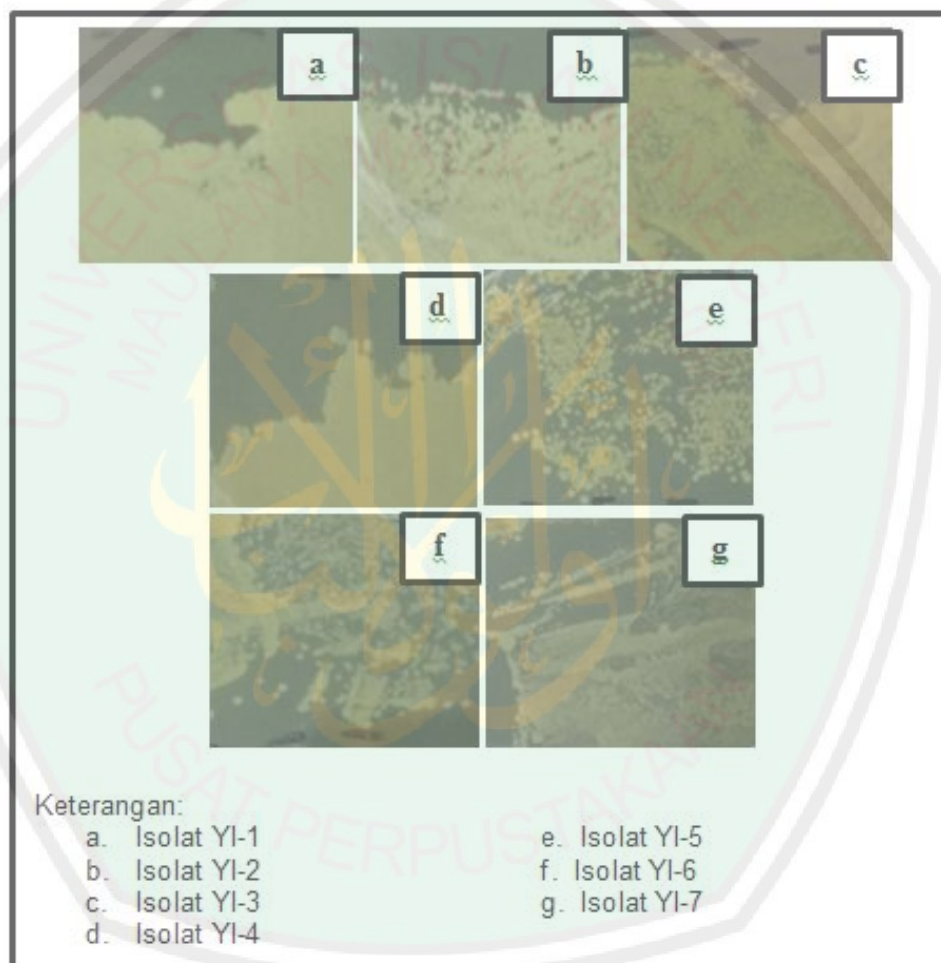
Tabel 4.3 Kemampuan khamir dalam fermentasi glukosa, fruktosa dan galaktosa

No	Kode Isolat	Uji fermentasi gula		
		Glukosa	Fruktosa	Galaktosa
1	YI-1	+	+	+
2	YI-2	+	+	+
3	YI-3	+	+	+
4	YI-4	++	++	++
5	YI-5	+	+	+
6	YI-6	++	++	++
7	YI-7	++	++	++

Keterangan: + = terdapat gelembung ,
 ++ = terdapat gelembung dengan volume di atas setengah tabung durham
 - = tidak terdapat gelembung (Kurtzman & Fell, 1998)

Berdasarkan tabel 4.3 hampir semua isolat khamir dapat melakukan fermentasi dari tiga jenis gula yang dijadikan sebagai sumber fermentasi kecuali pada isolat YI-2 fermentasi glukosa ulangan 1 dan 2 tidak keluar gelembung akan tetapi pada ulangan 3 terdapat sedikit gelembung. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat aktivitas khamir dalam media fermentasi akan tetapi membutuhkan waktu yang lebih dari 7 hari. Menurut Bhowmik (2011) munculnya gelembung pada tabung durham karena adanya fermentasi gula sederhana yang terjadi. Menurut Kurtzman & Fell (1998) munculnya gelembung pada tabung durham dengan umur biakan 7 hari termasuk reaksi yang *strongly positive* namun apabila gelembung muncul pada umur biakan lebih dari 7 hari termasuk reaksi yang *weakly positive*. Keberhasilan fermentasi dapat diketahui dari parameter yang digunakan yaitu warna media selektif dan juga gelembung udara yang terperangkap pada tabung durham. Warna media selektif yang menunjukkan hasil positif khamir dapat memfermentasi gula adalah merah. Menurut Harley & Prescott (2002) suatu isolat

mikroba yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung karbohidrat glukosa, mikroba tersebut dapat menghasilkan alkohol serta CO_2 sebagai produk sampingan dari proses metabolisme. Alkohol yang bersifat basa ini dilepaskan ke medium dan menaikkan pH medium. Jika pada medium ditambahkan pH indikator, maka tidak akan terjadi perubahan warna medium (tetap merah). Ketujuh isolat khamir (YI-1, YI-2, YI-3, YI-4, YI-5, YI-6 dan YI-7) yang berhasil memfermentasi ketiga gula kemudian dilakukan pengujian pertumbuhan pada medium *Glucose Yeast Peptone* konsentrasi gula 50%.



Gambar 4.15 Pertumbuhan pada *Medium Glucose Yeast Peptone* Konsentrasi Gula 50%

Berdasarkan hasil uji pertumbuhan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ketujuh isolat khamir (YI-1, YI-2, YI-3, YI-4, YI-5, YI-6 dan YI-7) dapat hidup pada media dengan konsentrasi gula 50% (gambar 4.15). Hal ini dimaksudkan untuk melihat kemampuan hidup khamir pada media dengan sumber

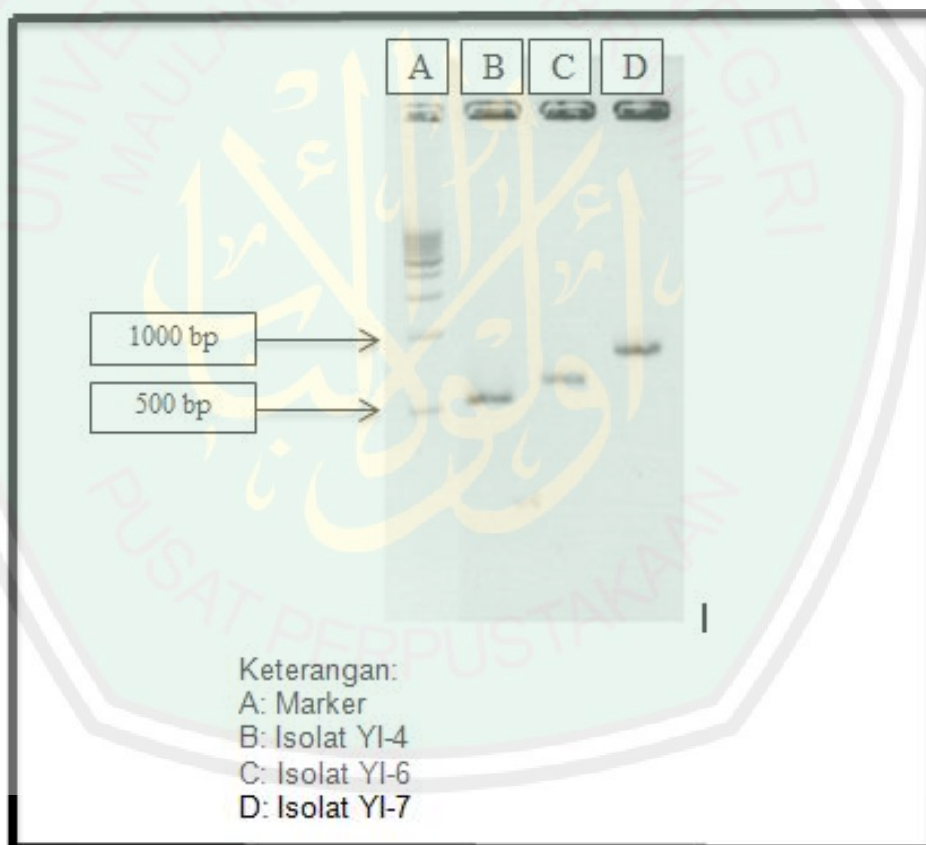
gula tinggi. Menurut Herrera, *et al.*, (2009) bahwa hanya sedikit spesies dari khamir yang dapat hidup pada lingkungan dengan kadar gula tinggi, yaitu sekitar 20%-50%. Menurut Dijken & Alexander (1986) khamir yang dapat hidup pada lingkungan dengan kadar gula yang tinggi disebut dengan khamir osmotoleran. Menurut Pfannebecker, *et al.*, (2016) bahwa khamir osmotoleran yang dapat hidup pada lingkungan dengan kadar gula tinggi, yaitu sekitar 50%-70%. Menurut Dijken & Alexander (1986) Khamir osmotoleran merupakan khamir khusus yang berfungsi sebagai fermipan. Tujuan dari uji pertumbuhan pada media gula 50% adalah untuk mengetahui spesies khamir yang dapat dimanfaatkan sebagai fermipan. Hal ini dilakukan karena khamir memanfaatkan gula sebagai sumber makanan. Khamir melakukan katabolisme gula dalam proses metabolisme tubuhnya. Siklus katabolisme gula merupakan proses penting bagi khamir yang memiliki banyak manfaat bagi manusia (Dijken & Alexander, 1986).

4.3 Identifikasi Molekuler Jenis Isolat Khamir dengan Kemampuan Fermentasi Karbohidrat Terbaik

Identifikasi molekuler dilakukan pada tiga isolat terbaik dalam uji fermentasi karbohidrat. Isolat khamir dengan kemampuan terbaik dalam fermentasi karbohidrat yaitu isolat YI-4, YI-6 dan YI-7. Identifikasi molekuler ini dilakukan untuk mengetahui spesies dari isolat khamir yang memiliki kemampuan terbaik dalam fermentasi karbohidrat. Hal ini dilakukan untuk mempermudah pengaplikasian khamir sebagai pengembang roti. Isolasi dan pemurnian DNA adalah kunci dalam keberhasilan identifikasi molekuler sehingga PCR koloni merupakan metode yang tepat. Metode PCR koloni merupakan metode Mirhendi *et al.* (2007) yang menggunakan sel khamir langsung sebagai templat, tanpa ekstraksi dan pemurnian DNA sebelum PCR. Tujuan utama dari PCR koloni adalah sekuens daerah ITS1 dan ITS2 pada *Ribosomal* DNA (rDNA). Daerah ITS1 dan ITS2 merupakan daerah untuk identifikasi spesies pada golongan fungi, karena daerah ITS1 dan ITS2 merupakan daerah yang *conserved* (Articus, 2004). Hasil uji kualitas DNA pada isolat khamir YI-4, YI-6, dan YI-7 dilakukan dengan menggunakan elektroforesis *Mupid*.

Keberhasilan isolasi DNA sebagai cetakan (*template*) untuk reaksi PCR ditunjukkan oleh hasil elektroforesis dari produk PCR daerah ITS rDNA. Hasil

elektroforesis menunjukkan adanya pita tunggal yang tebal untuk semua sample khamir (Gambar 4.16). Hal tersebut menunjukkan bahwa daerah ITS rDNA dari seluruh isolat berhasil teramplifikasi menggunakan primer ITS1 dan ITS4 dengan kondisi PCR tepat dan konsentrasi *template* DNA yang cukup. Menurut Abliz *et al.* (2004), primer ITS1 dan ITS4 merupakan primer universal untuk fungi yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi seluruh daerah ITS rDNA pada fungi. Berdasarkan Sambrook & Russell (2001), konsentrasi template DNA dari khamir yang dibutuhkan dalam reaksi PCR minimal sebesar 10 ng. Ahmed (2006) melaporkan bahwa selain penggunaan primer yang tepat dan konsentrasi template yang cukup kondisi PCR juga sangat mempengaruhi keberhasilan amplifikasi DNA.



Gambar 4.16 Uji Kualitas DNA Pasca Proses PCR

Allah berfirman di dalam Al-Quran surat Al-Furqaan ayat 2 yang berbunyi

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: “Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan di telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.” (QS. Al-Furqaan (25):2)

Menurut Al-Jazairi (2006) kalimat **فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا** adalah “Dia (Allah) yang telah menetapkan suatu ukuran dengan serapi-rapinya tanpa ada cela.” Menurut Al- Mahalli dan Al-Syuthi (2010) menjelaskan kalimat **فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا** berarti “dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya secara tepat dan sempurna”. Menurut Travers (2015) menjelaskan bahwa DNA merupakan salah satu material kehidupan yang penting bagi makhluk hidup. DNA disebut sebagai perpustakaan makhluk hidup karena menjadi pusat informasi dari sebuah individu. DNA merupakan sebuah rancangan dari Allah S.W.T yang dibuat dengan ukuran serapi-rapinya sehingga dapat menjadi sebuah tolak ukur dalam pengidentifikasian suatu individu.

Hasil gel elektroforesis produk PCR (gambar 4.17) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ukuran daerah ITS rDNA pada masing-masing isolat khamir. Ukuran pita produk PCR rDNA berada pada kisaran 500 bp sampai 1000 bp. Menurut Katsu *et al.* (2003) menjelaskan bahwa daerah ITS rDNA khamir sangat bervariasi antarspesies dengan panjang daerah 300-900 bp.

Hasil gel elektroforesis produk PCR terlihat dengan jelas bahwa ukuran pita berada pada kisaran 500 bp sampai 1000 bp. Hasil baca dari SeqScanner menunjukkan bahwa pasang basa (bp) sekuens YI-4 berjumlah 488. Hal ini terjadi karena adanya kesalahan pada proses *sequencing* hingga menyebabkan banyaknya None (N) yang tidak diperukan pada basa nukleotida hingga menyebabkan jumlahnya berkurang.

Hasil *sequencing* dibaca dengan menggunakan software SeqScanner (lampiran 9). Hasil dari SeqScanner menunjukkan bahwa sekuen YI-4 terdapat warna biru, kuning dan merah. Warna kuning dan merah pada basa nukleotida menandakan bahwa hasil kurang bagus. Sedangkan hasil SeqScanner pada sekuen YI-6 dan YI-7 menunjukkan hasil yang bagus yang ditandai dengan warna biru

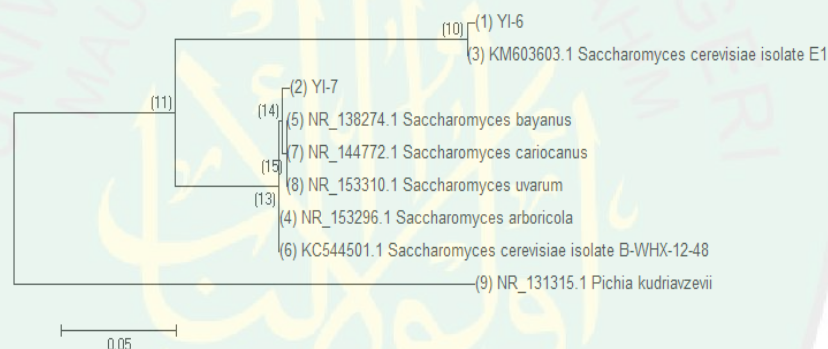
yang terdapat pada basa nukleotida. Menurut Claverie & Notredame (2007) menyatakan bahwa pada kromatogram hasil *sequencing* warna ungu menunjukkan *peak* intensitas yang tinggi, warna kuning menunjukkan *peak* intensitas menengah dan warna merah menunjukkan *peak* intensitas yang rendah. Sedangkan grafik *peak* pada software *SeqScanner* menunjukkan bahwa ketiga sekuen dikategorikan baik karena terdapat puncak-puncak tinggi yang saling terpisah antar *peak* atau tidak saling bertumpuk (lampiran 10).

Tabel 4.4 Hasil blast isolat khamir

No	Kode	Hasil Blast			Panjang bp
	Isolat	Nama Spesies	Ident	Seq Id	
1	YI-4	<i>Saccharomyces</i>			
		<i>cerevisiae</i>	99%	MF662380.1	488
		strain HBUM07151			
2	YI-6	<i>Saccharomyces</i>			
		<i>cerevisiae</i>	98%	KM603603.1	594
		isolate E1			
3	YI-7	<i>Saccharomyces</i>			
		<i>cerevisiae</i>	99%	KC544501.1	813
		isolate B- WHX-12-48			

Hasil *sequencing* yang telah dibaca dengan software *SeqScanner* kemudian dilakukan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) untuk menganalisis kemiripan sekuens yang terdapat pada server NCBI. Menurut Claverie & Notredame (2007) menyatakan bahwa sekuens dapat dikatakan homolog apabila similaritas lebih dari 70%. Spesies-spesies khamir tersebut terdiri atas spesies yang sama yaitu *Saccharomyces cerevisiae* namun dengan strain yang berbeda. Tabel 4.4 diketahui bahwa urutan basa dari ketiga sampel YI-4, YI-6 dan YI-7 memiliki kemiripan yang tinggi dengan spesies *Saccharomyces cerevisiae* (lampiran 11). Pada sampel YI-4 presentase kemiripan identifikasi

forward adalah 99%. Sampel YI-6 presentase kemiripan identifikasi forward adalah 98%. Sampel YI-7 presentase kemiripan identifikasi forward adalah 99%. *Saccharomyces cerevisiae* isolate B-WHX-12-48 merupakan isolate khamir osmotoleran yang diisolasi dari kebun apel dan pabrik pengolahan jus apel di provinsi Shaanxi, Cina. Hasil dari analisis diatas dapat dikatakan baik karena presentase kemiripan sangat tinggi dan ditunjukkan pula dengan nilai e-valuenya adalah 0. Nilai e-value dapat dilihat pada hasil blast yang terdapat pada lampiran 11. Nilai e-value merupakan nilai dugaan yang memberikan ukuran statistik yang signifikan terhadap kedua sekuen. Nilai e-value yang semakin tinggi menunjukkan tingkat homologi antara kedua sekuen semakin rendah, dan jika nilai e-value semakin rendah maka tingkat homologi kedua sekuen semakin tinggi. Apabila nilai e-value 0 (nol) hal ini menunjukkan bahwa kedua sekuen tersebut identik (Claverie & Notredame 2003).



Gambar 4.17 Rekonstruksi Pohon Filogenetik Isolat Khamir YI-6, dan YI-7

Hasil BLAST sekuens kemudian dilakukan analisis kekerabatan dengan software Mega6 (lampiran 12). Analisis kekerabatan dilakukan pada sekuens YI-6 dan YI-7, akan tetapi tidak dilakukan pada sekuens YI-4. Hal ini dilakukan karena pasang basa pada sekuens YI-4 tidak sesuai dengan pita rDNA tidak sesuai dengan hasil PCR, sehingga perlu dilakukan pengulangan *sequencing* pada isolat YI-4. Berdasarkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik terlihat bahwa sekuens YI-6 dan YI-7 terdapat dalam grup yang klad yang berbeda, akan tetapi tetap dalam satu grup antar kedua sekuens (YI-6 dan YI-7) dan *Saccharomyces* lainnya. Sekuens *Pichia kudriavzevii* digunakan sebagai *outgroup* yang menandakan adanya perbedaan kelas, namun tetap dalam satu filum yang sama. Allah SWT menjelaskan dalam surat ar-Ra'd (13):4

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٌ وَجَنَّتْ مِنْ أَعْتَبٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَغَيْرُ صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ
وَاحِدٍ وَنُفْضِلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٣﴾

Artinya: “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir”. (QS. ar-Ra’d (13):4)

Kata **قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٌ** dalam ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT telah menciptakan “bagian-bagian yang berdampingan”, menurut pendapat yang diriwayatkan oleh Ibnu Abbas, Mujahid dan Sa’id bin Jubair kata “berdampingan” yang dimaksud adalah tanah-tanah yang berdekatan antara satu dengan yang lain. Tanah-tanah yang berdekatan tersebut memiliki karakteristik masing-masing dan memiliki kemampuan yang berbeda dalam menumbuhkan tanaman yang bermanfaat bagi manusia (Katsir, 2004).

Beragamnya jenis tumbuhan mempengaruhi keragaman jenis mikroorganisme yang ada di bumi, mikroorganisme yang hidup dapat pula memiliki kesamaan satu sama lain dan dapat pula memiliki karakter yang berbeda. Hal tersebut yang mendukung hasil penelitian bahwa identifikasi khamir pada bunga pisang mengelompok menjadi satu grup dengan *filum* yang sama.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berdasarkan karakter morfologi didapatkan 7 isolat khamir yang berhasil diisolasi dari bunga pisang, dimana semua jenis isolate (YI-1, YI-2, YI-3, YI-4, YI-5, YI-6 dan YI-7) mempunyai kemiripan dengan anggota kelas *Ascomycetes*.
2. Berdasarkan uji fermentasi karbohidrat (fruktosa, glukosa, dan galaktosa) semua isolat khamir yang dapat memfermentasi ketiga jenis gula. Dari ketujuh isolat terdapat 3 isolat yang terbaik yaitu isolat YI-4, YI-6, dan YI-7
3. Berdasarkan analisa genetika diketahui bahwa isolat YI-4 mempunyai kemiripan dengan *Saccharomyces cerevisiae* strain HBUM07151 (99%), isolat YI-6 dengan *Saccharomyces cerevisiae* isolate E1 (98%), dan isolat YI-7 dengan *Saccharomyces cerevisiae* isolate B-WHX-12-48 (99%).

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Uji fermentasi karbohidrat dapat dikembangkan dengan jenis gula, seperti sukrosa, maltose dan laktosa.
2. Uji fermentasi karbohidrat untuk penggunaan tabung durham dapat diganti dengan gas trap chipset agar hasil lebih efektif, karena penggunaan tabung durham kurang efektif dalam penangkapan gas CO₂ yang dihasilkan oleh khamir.
3. Semua isolat khamir yang ditemukan dilakukan identifikasi secara molekuler agar dapat diketahui spesies khamir yang ditemukan.
4. Isolat YI-4 membutuhkan pengulangan *sequencing* agar data yang didapat lebih bagus.
5. Perlunya penelitian lanjutan agar isolat yang telah ditemukan dapat dijadikan ragi kering instan sehingga dapat bermanfaat untuk manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abliz, P. Fukushima, K. Takizawa, K. & Nishimura, K. 2004. Identification of pathogenic dematiaceous fungi and related taxa based on large subunit ribosomal DNA D1/D2 domain sequence analysis. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 40(1): 41-49.
- Asyikeen, Z. N. Ma'aruf, A. G. Sahilah, A. M. Khan, A. M. & Aida, W. W. 2013. A new source of *Saccharomyces cerevisiae* as a leavening agent in bread making. *International Food Research Journal*. 20(2).
- Atlas, R. M. 2005. **Media For Environmental Microbiology Second Edition**. CRC Press. Boca Ranton.
- Australian Department of Health and Aging. 2008. The Biology of *Musa L.* (Banana). [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/banana-3/\\$FILE/biologybanana08.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/banana-3/$FILE/biologybanana08.pdf). Diakses pada 14 April 2014.
- Barnett, J. A., Payne, R. W., & Yarrow, D. 1983. **Yeasts: Characteristics and identification**. University Press. Cambridge.
- Barr, M. E. 2001. Ascomycota. **In Systematics and Evolution**. Springer. Berlin. Heidelberg.
- Basso, L. C. De Amorim, H. V. De Oliveira, A. J. & Lopes, M. L. 2008. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. *FEMS yeast research*. 8(7):1155-1163.
- Belisle, M. Peay, K. G. & Fukami, T. 2012. Flowers as islands: spatial distribution of nectar-inhabiting microfungi among plants of *Mimulus aurantiacus*, a hummingbird-pollinated shrub. *Microbial Ecology*. 63(4):711-718.
- Bintari, S. H. & Mubarak, I. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Secara Morfologi Di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Biosaintifika: Journal Of Biology & Biology Education*. 4(1).
- Birtchnell, M. J. & Gibson, M. 2008. **Flowering ecology of honey-producing flora in south-east Australia**. Rural Industries Research and Development Corporation. Australia.
- Boekhout, T. 1998. **Diagnostic descriptions and key to presently accepted heterobasidiomycetous genera** In *The Yeasts*. Fourth Edition.
- Boekhout, T. & Kurtzman, C. P. 1996. Principles and methods used in yeast classification, and an overview of currently accepted yeast genera.

In Nonconventional Yeasts in Biotechnology . Springer. Berlin. Heidelberg.

- Boekhout, T., & Phaff, H. J. 2003. **Yeast biodiversity**. Dalam: Boekhout, T., & V. Robert (eds.). 2003. In *Yeasts in Food: Beneficial and detrimental aspects*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge
- Boekhout, T., & Robert, V. (Eds.). 2003. **Yeasts in food**. Woodhead Publishing Limited. Cambridge
- Brysch-Herzberg, M. 2004. Ecology of yeasts in plant–bumblebee mutualism in Central Europe. *FEMS Microbiology Ecology*. 50(2): 87-100.
- Buijs, N. A. Zhou, Y. J. Siewers, V. & Nielsen, J. 2015. Long-chain alkane production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and bioengineering*. 112(6): 1275-1279.
- Choudhary, D. K. & Johri, B. N. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants–with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological research*. 164(5): 493-513.
- Ciardo, D. E. Schär, G. Böttger, E. C. Altwegg, M. & Bosshard, P. P. 2006. Internal transcribed spacer sequencing versus biochemical profiling for identification of medically important yeasts. *Journal of clinical microbiology*. 44(1): 77-84.
- Claverie, J. M. & Notredame, C. 2007. **Bioinformatics For Dummies** (2nd).
- Daniel, H. M. & Meyer, W. 2003. Evaluation of ribosomal RNA and actin gene sequences for the identification of ascomycetous yeasts. *International journal of food microbiology*. 86(1): 61-78.
- De Becze, G. I. 1956. Yeasts: I. Morphology. *Applied microbiology*. 4(1): 1.
- De Oca Montes, R. Pérez, L.S. Salem, A.Z.M. Kholif, A.E. Monroy, H., Zamora, J.L. and, Gutiérrez, A. 2016. Yeast: Description And Structure. *ResearchGate*.
- Dewi, A. D. R. & Susanto, W. H. 2013. Pembuatan Lempok Pisang (Kajian Jenis Pisang Dan Konsentrasi Madu). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 1(1): 101-114.
- Fell, J. W., Boekhout, T., Fonseca, A., & Sampaio, J. P. 2001. **Basidiomycetous yeasts**. In *Systematics and Evolution* (pp. 3-35). Springer. Berlin. Heidelberg.
- Fleury, C. Pampin, M. Tarze, A. & Mignotte, B. 2002. Yeast as a model to study apoptosis. *Bioscience reports*. 22(1): 59-79.

- Geiser, D. M. 2004. **Practical molecular taxonomy of fungi**. In Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture, and Medicine (pp. 3-14). Springer. Boston. MA.
- Gusrini, Temmy. 2016. **Variasi Penambahan Air Dan Waktu Hidrolisis Untuk Fermentasi Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca L.*) Menjadi Etil Asetat**. Politeknik Negeri Sriwijaya. Thesis.
- Hamamoto, M. & Nakase T. 2000. Phylogenetic analysis of the ballistoconidium-forming yeast genus *Sporobolomyces* based on 18S rDNA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50(3): 1373-1380.
- Hapsari, L. dan A. Masrum. 2011. Keragaman dan karakteristik pisang (*Musa acuminata*) kultivar diploid AA koleksi Kebun Raya Purwodadi. dalam **Prosiding Seminar Nasional HUT Kebun Raya Cibodas ke-159**. 7 April 2011. Kebun Raya Cibodas – LIPI. hal 225-229.
- Harley, J. P. and L. M. Prescott. 2002. **Laboratory Exercise in Microbiology**. 5th edition. McGraw-Hill Education. New York
- Herrera, C. M. de Vega, C. Canto, A. & Pozo, M. I. 2009. Yeasts in floral nectar: a quantitative survey. *Annals of botany*. 103(9): 1415-1423.
- James, P. Halladay, J. & Craig, E. A. 1996. Genomic libraries and a host strain designed for highly efficient two-hybrid selection in yeast. *Genetics*. 144(4): 1425-1436.
- James, S. A., & Stratford, M. 2003. Spoilage yeasts with emphasis on the genus *Zygosaccharomyces*. In **Yeasts in food** (pp. 171-191).
- Janisiewicz, W. J., Kurtzman, C. P., & Buyer, J. S. 2010. Yeasts associated with nectarines and their potential for biological control of brown rot. *Yeast*, 27(7),389-398.
- JCM Catalogue. 1983. *Saccharomyces cerevisiae*. Diakses dari :[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number? JCM =1817](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=1817)
- JCM Catalogue. 1983. *Saccharomyces cerevisiae*. Diakses dari :
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number? JCM=2330](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=2330)
- JCM Catalogue. 1983. *Saccharomyces cerevisiae*. Diakses dari :
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number? JCM=2222](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=2222)
- JCM Catalogue. 1983. *Saccharomyces cerevisiae*. Diakses dari :
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number? JCM=2219](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=2219)
- JCM Catalogue. 1984. *Millerozyma farinosa*. Diakses dari :
http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=3578

- JCM Catalogue. 1985. *Kazachstania servazzii*. Diakses dari : http://www.jcm.riken.go.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=5200
- JCM Catalogue. 1986. *Saccharomyces cerevisiae*. Diakses dari : http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=5918
- Kanti, A. 2005. **Keragaman khamir tanah asal Taman Nasional Kalimutu dan Taman Wisata Alam Ruteng Nusa Tenggara Timur**. Laporan Penelitian Bidang Zoologi. Pusat Penelitian Biologi-LIPI. Bogor.
- Karsinah, S. Setyobudi, L. & Aswidinnoor, H. 2002. Keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. *J. Bioteknol. Pert.* 7(1): 8-16.
- Katsu, T. Ujike, H. Nakano, T. Tanaka, Y. Nomura, A. Nakata, K. & Kuroda, S. 2003. The human frizzled-3 (FZD3) gene on chromosome 8p21, a receptor gene for Wnt ligands, is associated with the susceptibility to schizophrenia. *Neuroscience letters*. 353(1): 53-56.
- Kunze, G. & Satyanarayana, T. 2007. Yeast phytases: present scenario and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*. 27(2): 93-109.
- Kurtzman, C. P. 1998. *Pichia* EC Hansen emend. **The Yeasts**. Fourth Edition. (pp. 273-352).
- Kurtzman, C. P. & Fell, J. W. 1998. Definition, classification and nomenclature of the yeasts. **The Yeasts**. Fourth Edition. (pp. 3-5).
- Kurtzman, C. P. & Fell, J. W. 2006. Yeast systematics and phylogeny—implications of molecular identification methods for studies in ecology. **Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts** (pp. 11-30). Springer. Berlin. Heidelberg.
- Kurtzman, C. P. & Sugiyama, J. 2001. Ascomycetous yeasts and yeastlike taxa. **Systematics and Evolution** (pp. 179-200). Springer. Berlin. Heidelberg.
- Kuswardhani, N. & Lindriati, T. 2015. **Analisis Kelayakan Pengembangan Agroindustri Abon Jantung Pisang (*Musa balbisiana* Colla.) Dengan Penambahan Keluwih (*Artocarpus camansi*)**.
- Lachance, M. A. Daniel, H. M. Meyer, W. Prasad, G. S. Gautam, S. P. & Boundy-Mills, K. 2003. The D1/D2 domain of the large-subunit rDNA of the yeast species *Clavispora lusitanae* is unusually polymorphic. *FEMS yeast research*. 4(3): 253-258.
- Lodder, J. 1970. **The Yeast : A Taxonomic Study Second Revised And Enlarged Edition**. The Netherland, Northolland Publishing Co. Amsterdam.

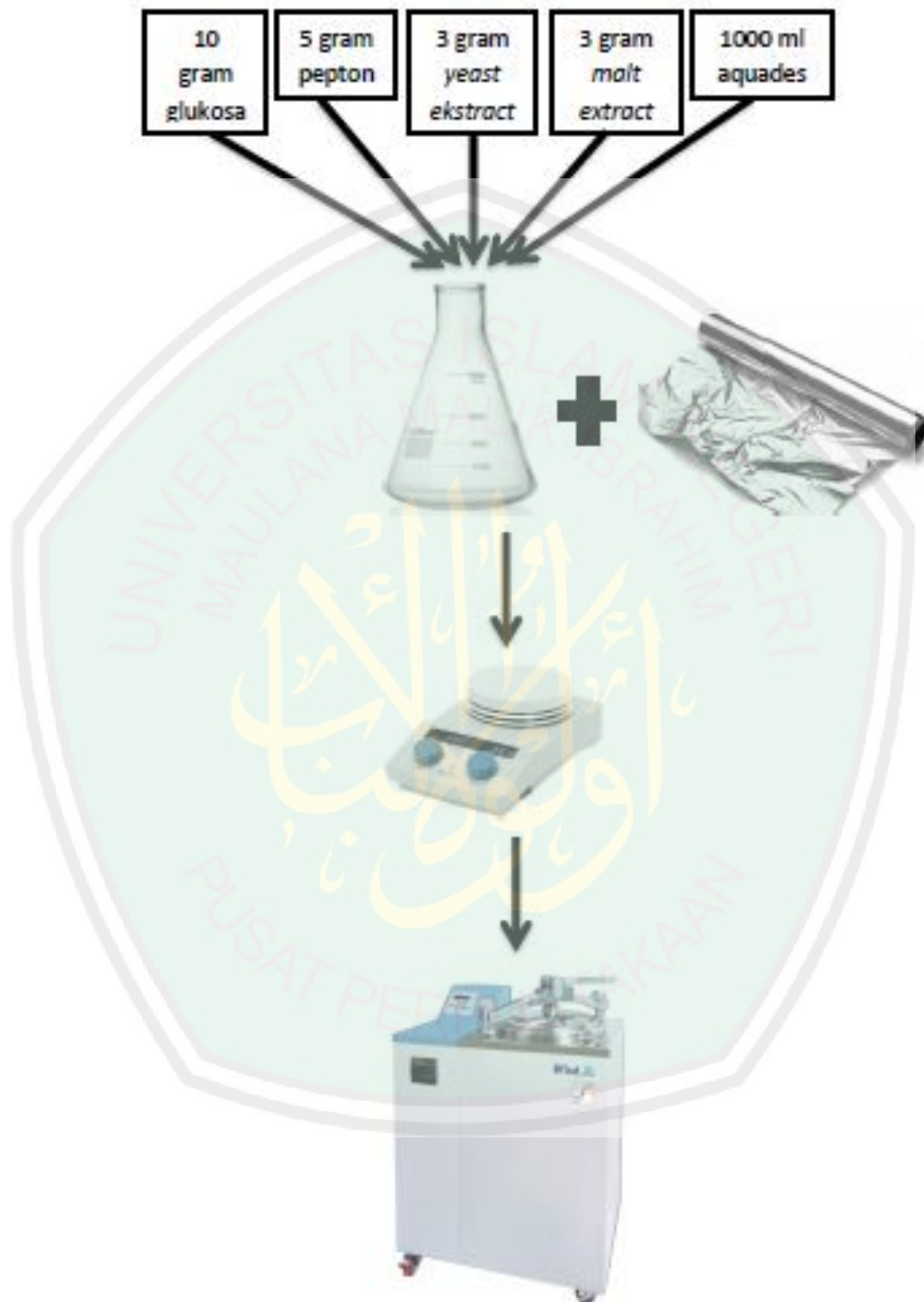
- Mandzur, Asy-Syekh Abil Fadl Jamaluddin Muhammad bin Mukrom. 1993. **Lisanul 'Arob**. Darul Khutub. Bereut Lebanon.
- Martiningsih, E. 2007. **Pemanfaatan Kulit Pisang Raja (Musa Paradisiaca L. Var Sapientum) Sebagai Substrat Fermentasi Etanol Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae**. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Dissertation
- Martins, L. F. Montero-Lomeli, M. Masuda, C. A. Fortes, F. S. Previato, J. O. & Mendonça-Previato, L. 2008. Lithium-mediated suppression of morphogenesis and growth in *Candida albicans*. *FEMS yeast research*. 8(4): 615-621.
- Mirhendi, H. Diba, K. Rezaei, A. Jalalizand, N. Hosseinpour, L. & Khodadadi, H. 2007. Colony PCR is a rapid and sensitive method for DNA amplification in yeasts. *Iranian Journal of Public Health*. 36(1): 40-44.
- Moat, A. G. Foster, J. W. & Spector, M. P. (Eds.). 2003. **Microbial physiology**. John Wiley & Sons
- Muchtadi, D.M.S. 2009. **Karbohidrat Pangan Dan Kesehatan**. Alfabeta. Bandung.
- Muhammad, Jalaluddin dan Jalaluddin Abdirrahman. 2010. **Tafsir Jalalain edisi Indonesia**. Diterjemahkan oleh: Najib Junaidi, Lc. Fithrah. Surabaya.
- Nejedlik, L. Pierfelice, T. & Geiser, J. R. 2004. Actin distribution is disrupted upon expression of Yersinia YopO/YpkA in yeast. *Yeast*. 21(9): 759-768.
- Nielsen, J. Larsson, C. van Maris, A. & Pronk, J. 2013. Metabolic engineering of yeast for production of fuels and chemicals. *Current opinion in biotechnology*. 24(3):398-404.
- Purwitasari, E. Pangastuti, A. & Setyaningsih, R. 2004. Pengaruh media tumbuh terhadap kadar protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan protein sel tunggal. *Bioteknologi*. 1(2): 37-42.
- Pusey, P. L. Stockwell, V. O. & Mazzola, M. 2009. Epiphytic bacteria and yeasts on apple blossoms and their potential as antagonists of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*. 99(5): 571-581.
- Putri, A. R. (2016). **Karakteristik Dendeng Jantung Pisang Kepok (Musa Paradisiaca) Dengan Penambahan Ikan Patin (Pangasius Sp) Dan Ampas Tahu**. Fakultas Teknik Unpas. Doctoral dissertation.

- Rahmawati, F. C. Kusdiyantini, E., & Budiharjo, A. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Khamir Dari Molase Serta Kemampuannya Dalam Produksi Etanol. *Jurnal Biologi*. 6(4): 89-98
- Sambrook, J. R. & Russel, D. W. 2001. DW 2001. **Molecular Cloning**. A Laboratory Manual.
- Sastrohamidjojo, H. 2005. **Kimia Organik: Stereokimia, Karbohidrat, Lemak dan Protein**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shihab, M. Q. 2002. **Tafsir al-misbah**. Lentera Hati. Jakarta
- Sjamzuridzal W, A Oetari, A Kanti, R Saraswati, C Nakashima, Y Widyastuti and A Katsuhiko. 2010. Ecological and Taxonomical Perspective of Yeast in Indonesia. *Mikrobiologi Indonesia*. 4(2): 60-68.
- Starr, C. Taggart, R. Evers, C. & Starr, L. 2015. **Biology: The unity and diversity of life**. Nelson Education.
- Steensels, J. Snoek, T. Meersman, E. Nicolino, M. P. Voordeckers, K. & Verstrepen, K. J. 2014. Improving industrial yeast strains: exploiting natural and artificial diversity. *FEMS microbiology reviews*. 38(5): 947-995.
- Sugiawan, W. 2006. **Peningkatan efektifitas media isolasi khamir contoh kecap dengan penambahan kecap**. Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian.
- Sugita, T. Nishikawa, A. Ikeda, R. & Shinoda, T. 1999. Identification of medically relevant *Trichosporon* species based on sequences of internal transcribed spacer regions and construction of a database for *Trichosporon* identification. *Journal of clinical microbiology*. 37(6): 1985-1993.
- Suhartini. 2009. **Peran Konservasi Keanekaragaman Hayati Dalam Menunjang Pembangunan Yang Berkelanjutan**. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. Fakultas MIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sulaiman bin Umar al-Ajily. 2009. **Tafsir al-Futuhatul Ilahiyah**. Darul Fikr. Beirut.
- Sumerta, I. N. & Kanti, A. 2016. Keanekaragaman Khamir Yang Diisolasi Dari Sumber Daya Alam Pulau Enggano, Bengkulu Dan Potensinya Sebagai Pendegradasi Selulosa [Diversity of Yeasts Isolated From Natural Resources of Enggano Island, Bengkulu and Its Cellulolytic Potency]. *Berita Biologi*. 15(3).
- Surtiyani, Mei. 2015. *Analisis Kadar Asam Cuka Dari Fermentasi Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae Dan Acetobacter Aceti Pada Bonggol*

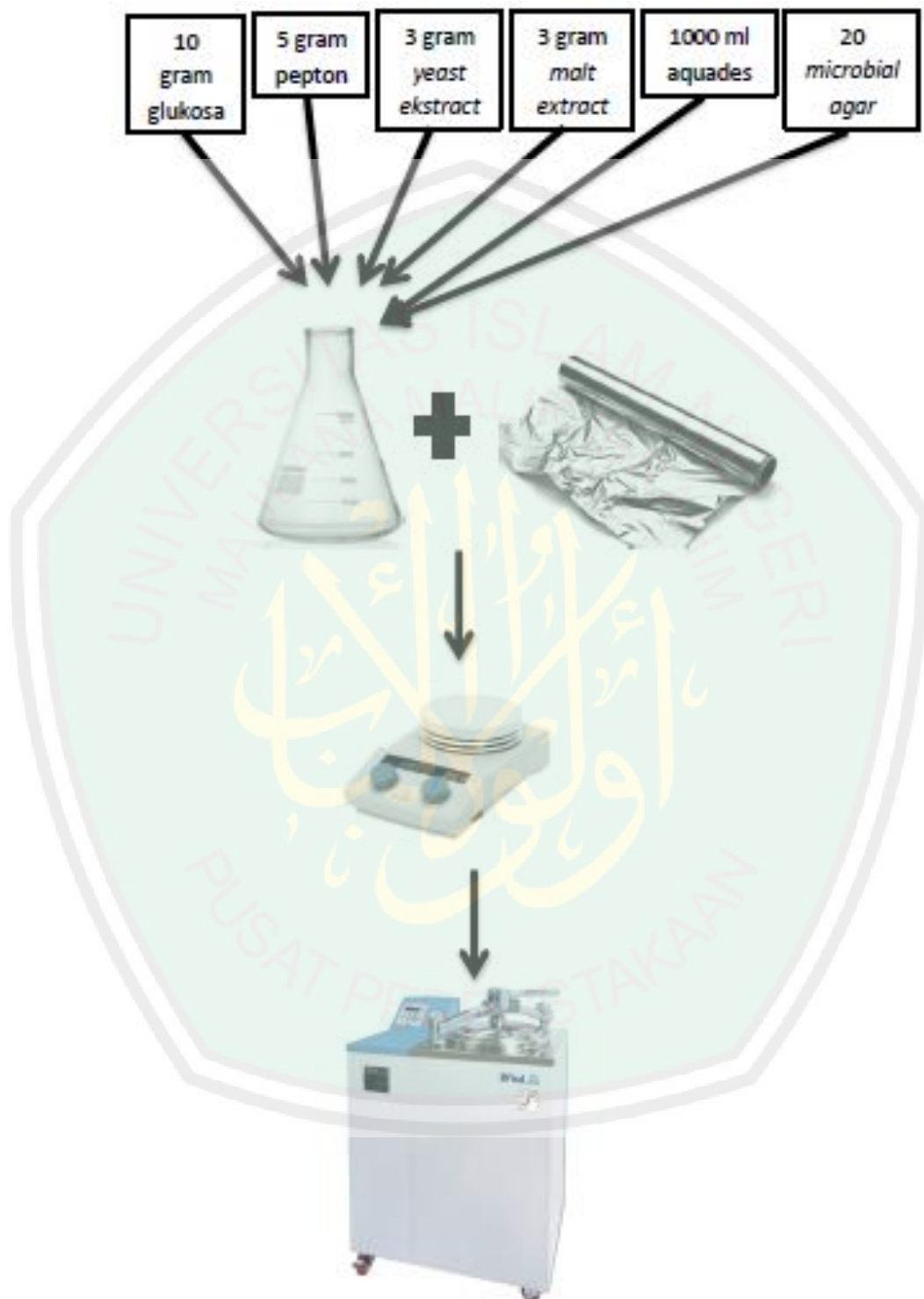
Pisang (Musa Paradisiaca L.) Varietas Ambon Nangka, Ambon Bawen Dan Ambon Wulung Yang Hidup Di Jalur Pantai Selatan Desa Tegal Kamulyan Cilacap. Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Bachelor Thesis.

- Suryaningsih, V. Ferniah, R. S., & Kusdiyantini, E. 2018. Karakteristik Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler Isolat Khamir Ik-2 Hasil Isolasi Dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata L.*). *Jurnal Biologi*. 7(1). 18-25.
- Sutoyo, S. 2010. Keanekaragaman Hayati Indonesia Suatu Tinjauan: Masalah dan Pemecahannya. *BUANA SAINS*. 10(2): 101-106.
- Takahashi, H. Tsuchiya, T. Takahashi, M. Nakazawa, M., Watanabe, T., Takeuchi, A., ... & Kimura, B. 2016. Viability of murine norovirus in salads and dressings and its inactivation using heat-denatured lysozyme. *International journal of food microbiology*. 233: 29-33.
- Thanthawi Jauhari. 1932. **Al-Jawāhir fī Tafsīr Al-Qur'an Al-Karīm**. Jilid II. Juz IV. Dar al-Fikr. Beirut.
- Thompson, J.D. Gibson, T.J. Plewniak, F. Jeanmougin, F. Higgins, D.G. 1997. *The Clustal X Windows Interface: Flexible Strategies For Multiple Sequence Alignment Aided By Quality Analyse Tools*. *Nucleic Acids Res*. 25: 4876-4882.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2000. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- TriIntan, R. M. Cholil, A. & Sulistyowati, L. 2015. Potensi Antagonis Jamur Endofit dan Khamir Pada Tanaman Pisang (*Musa accumunata*) Terhadap Jamur *Mycosphaerella musicola* Penyebab Penyakit Bercak Kuning Sigatoka. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 2(4): 110.
- Triyono, K. 2013. Keanekaragaman Hayati Dalam Menunjang Ketahanan Pangan. *Jurnal Inovasi Pertanian*. 11(1):12-22.
- van Dijken, J. P. & Scheffers, W. A. 1986. Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts. *FEMS Microbiology reviews*. 1(3-4): 199-224.
- Walker, G. M. 1998. **Yeast physiology and biotechnology**. John Wiley & Sons.
- Watanabe, M. Uchida, N. Fujita, K. Yoshino, T. & Sakaguchi, T. 2016. Breadand Effervescent Beverage Productions with Local Microbes for the Local Revitalization. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*. 6(3):381-384.

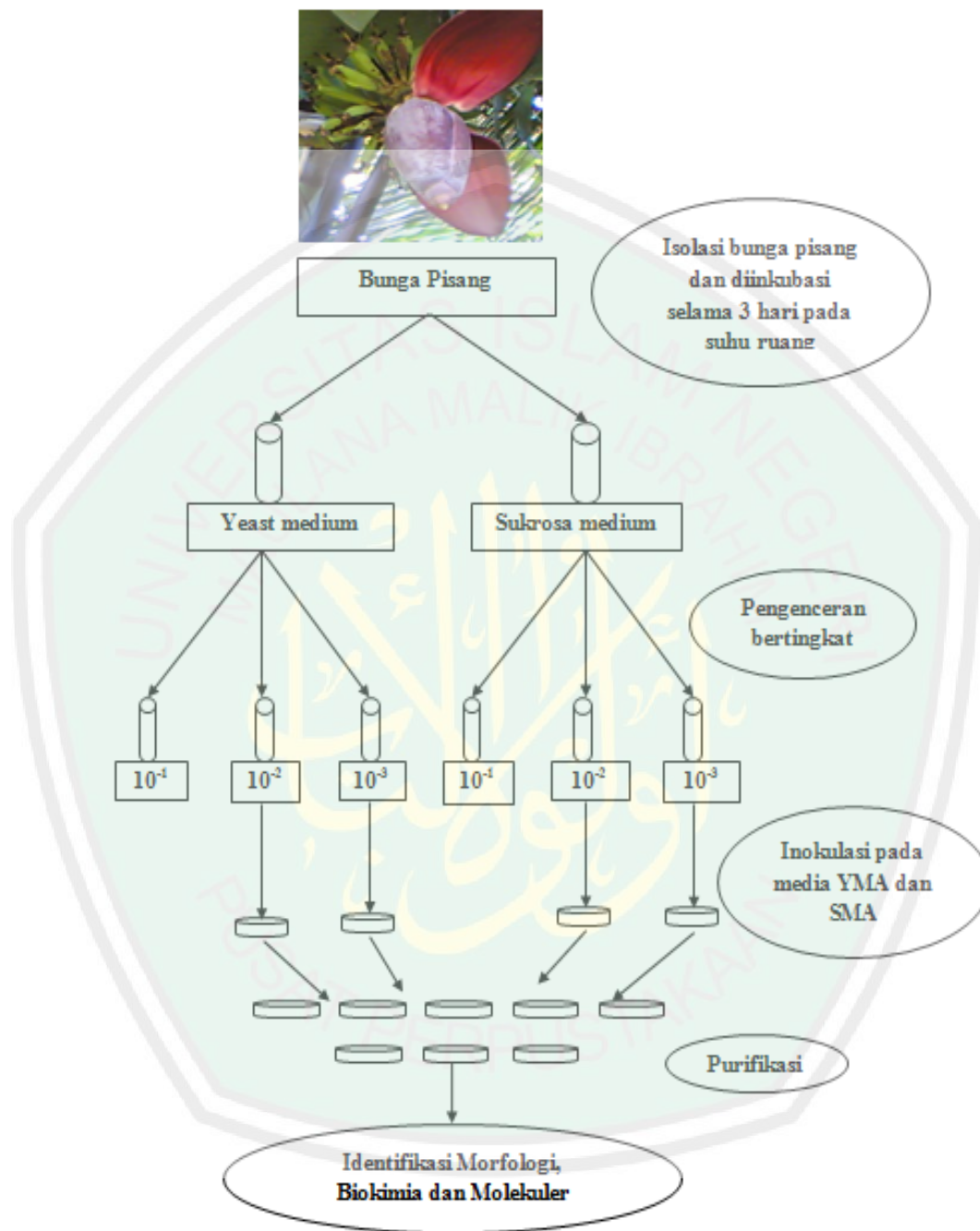
Lampiran 1. Pembuatan YMB



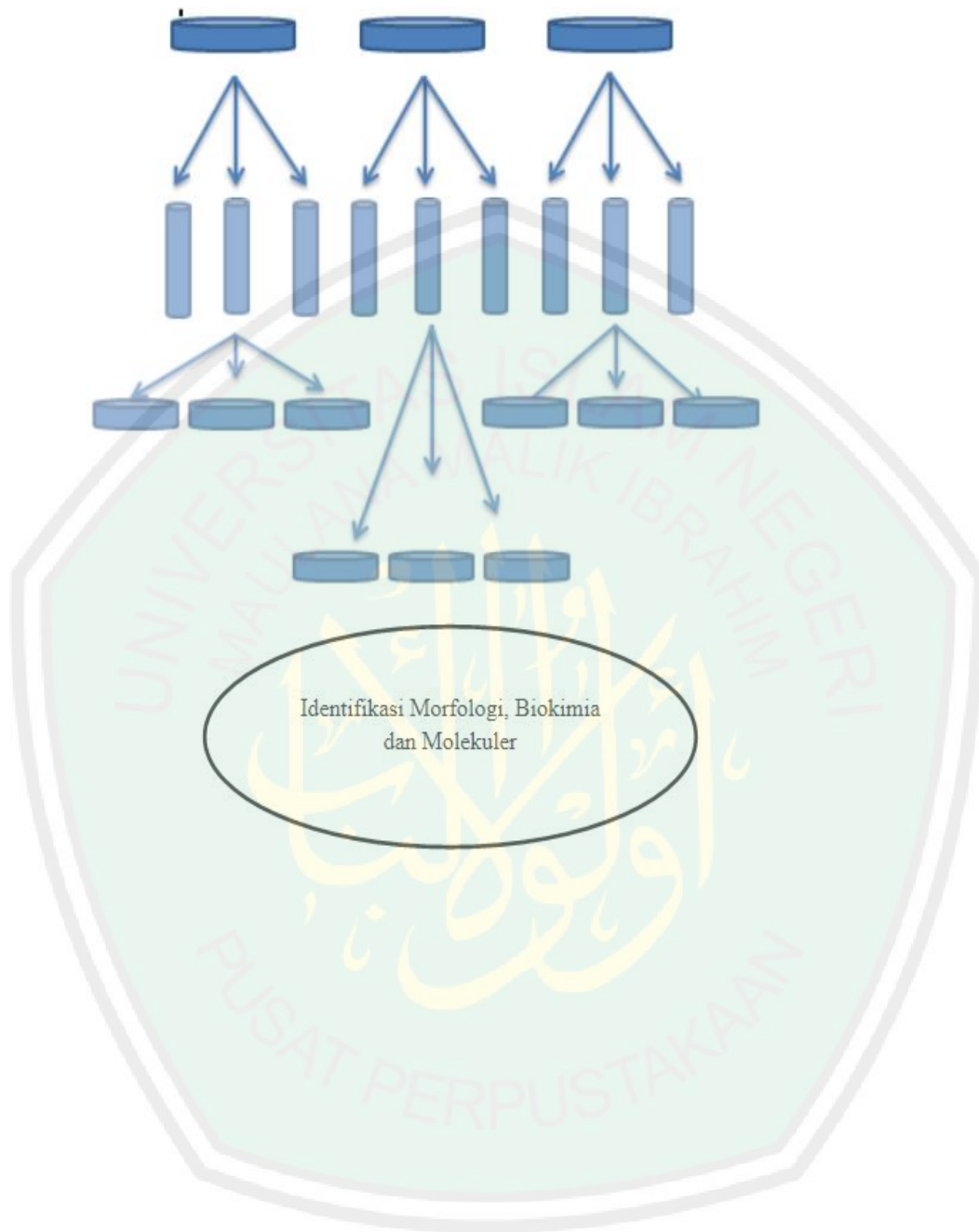
Lampiran 2. Pembuatan YMEA



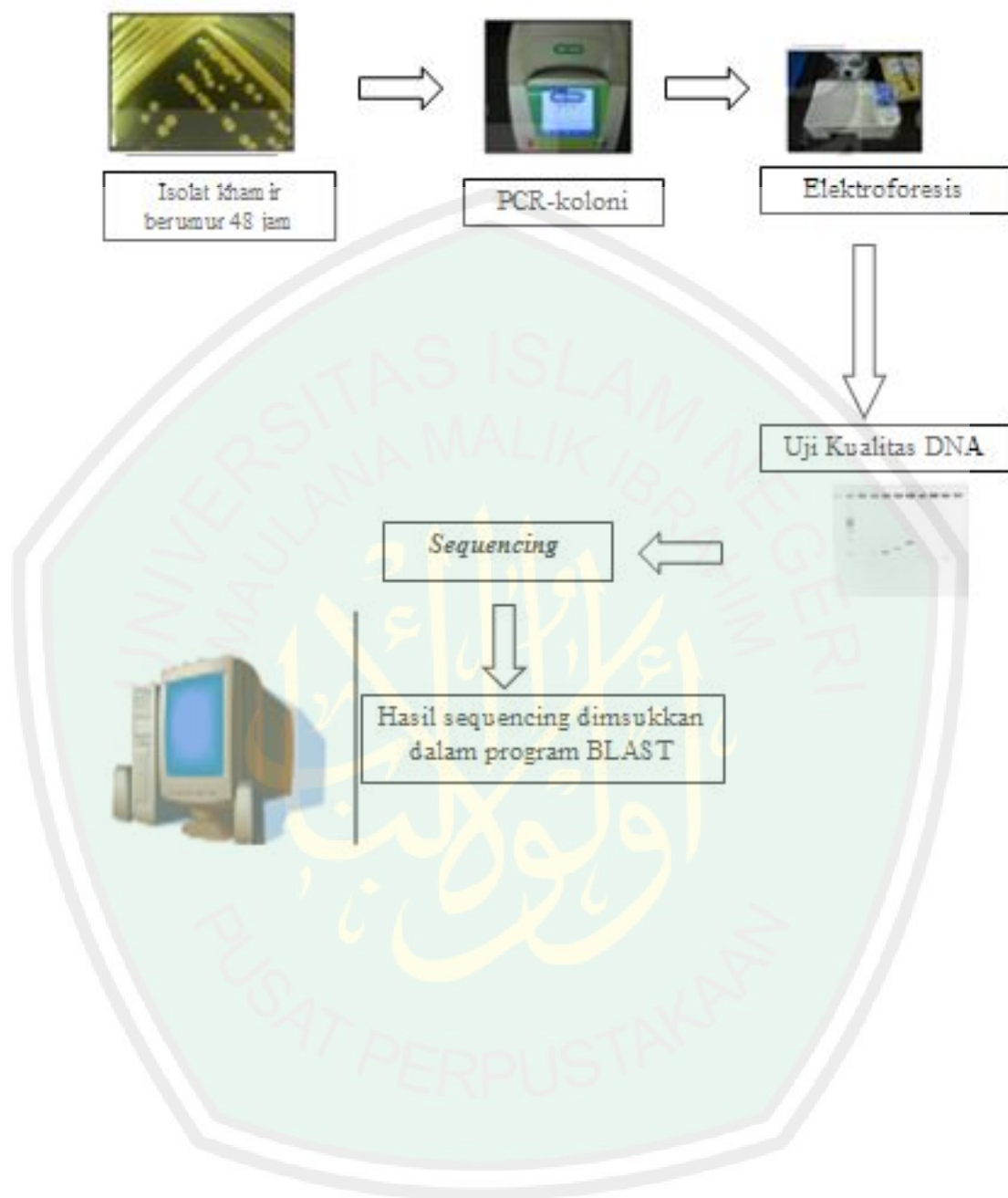
Lampiran 3. Proses isolasi khamir pada pisang



Lampiran 4. Proses purifikasi



Lampiran 5. Identifikasi molekuler

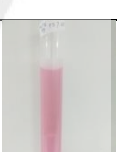


Lampiran 6. Hasil Fermentasi Karbohidrat

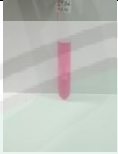
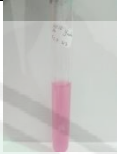
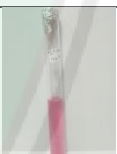
1. Fermentasi Glukosa

No	Kode isolat	Gambar		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1	YI-1			
2	YI-2			
3	YI-3			
4	YI-4			
5	YI-5			
6	YI-6			
7	YI-7			

Lampiran 7. Fermentasi Fruktosa

No	Kode isolat	Gambar		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1	YI-1			
2	YI-2			
3	YI-3			
4	YI-4			
5	YI-5			
6	YI-6			
7	YI-7			

Lampiran 8. Fermentasi Galaktosa

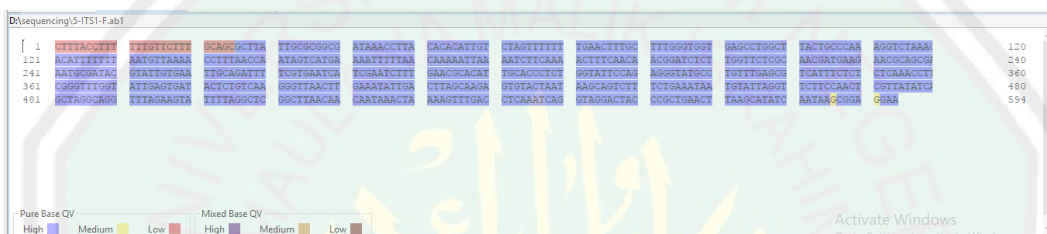
No	Kode isoat	Gambar		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1	YI-1			
2	YI-2			
3	YI-3			
4	YI-4			
5	YI-5			
6	YI-6			
7	YI-7			

Lampiran 9. Urutan gen ITS khamir hasil *sequencing*

1. Isolat khamir YI-4



2. Isolat khamir YI-6

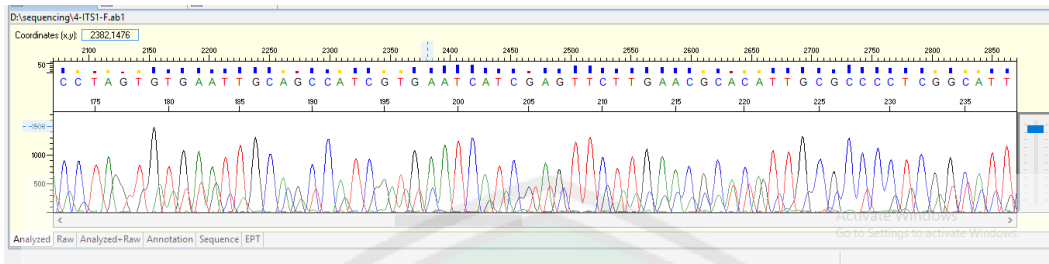


3. Isolat khamir YI-4

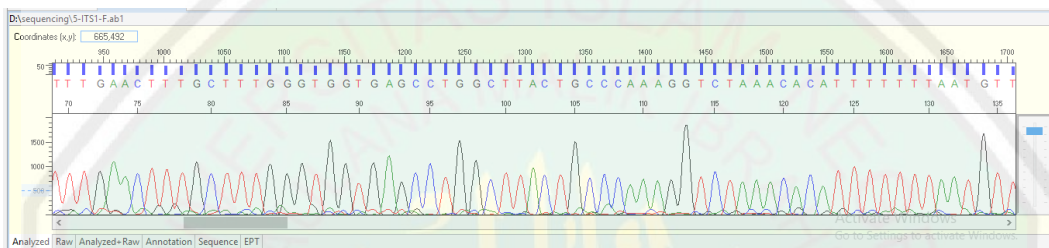


Lampiran 10. Gambar peak DNA hasil SeqScanner

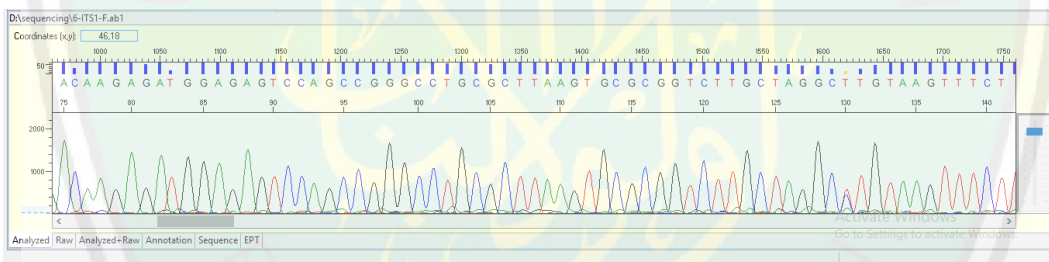
1. Isolat khamir YI-4



2. Isolat khamir YI-6

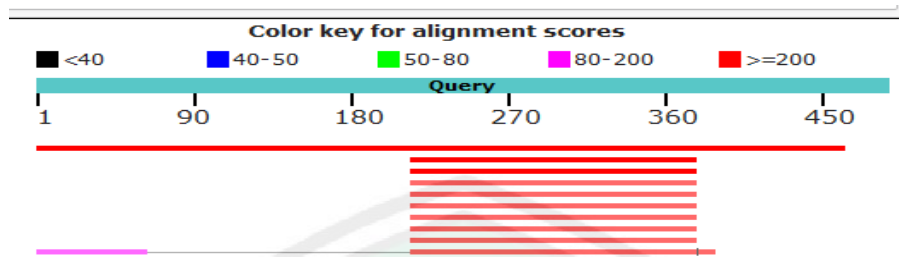


3. Isolat khamir YI-7

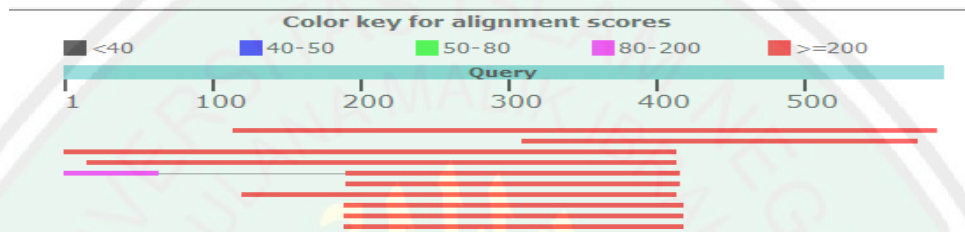


Lampiran 11. Nilai alignment pada proses Blast NCBI

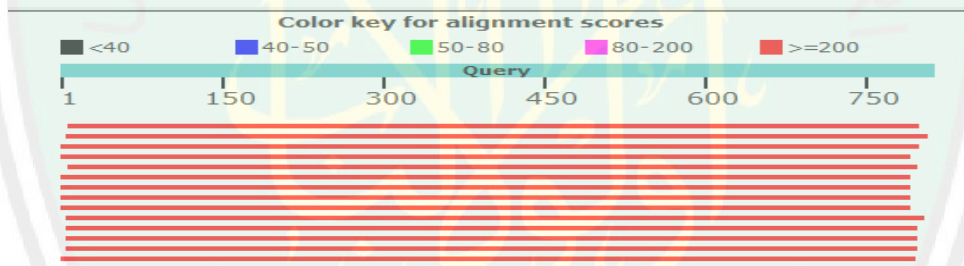
1. Isolat khamir YI-4



2. Isolat khamir YI-6



3. Isolat khamir YI-7



Lampiran 12. Hasil Blast NCBI

1. Isolat khamir YI-4

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Saccharomyces cerevisiae strain HBU07151 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete s	822	822	94%	0.0	99%	MF662380.1
☐	Saccharomyces cerevisiae culture CBS 7840 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed	231	231	33%	1e-58	92%	KY105049.1
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate IT517-004 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	226	226	33%	7e-57	91%	MG734860.1
☐	Saccharomyces cerevisiae strain YCT1b internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spac	226	226	33%	7e-57	92%	MG775707.1
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate WBS3A internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed sp	226	226	33%	7e-57	92%	MG101830.1
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate RNS4C internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed sp	226	226	33%	7e-57	92%	MG101827.1

2. Isolat khamir YI-6

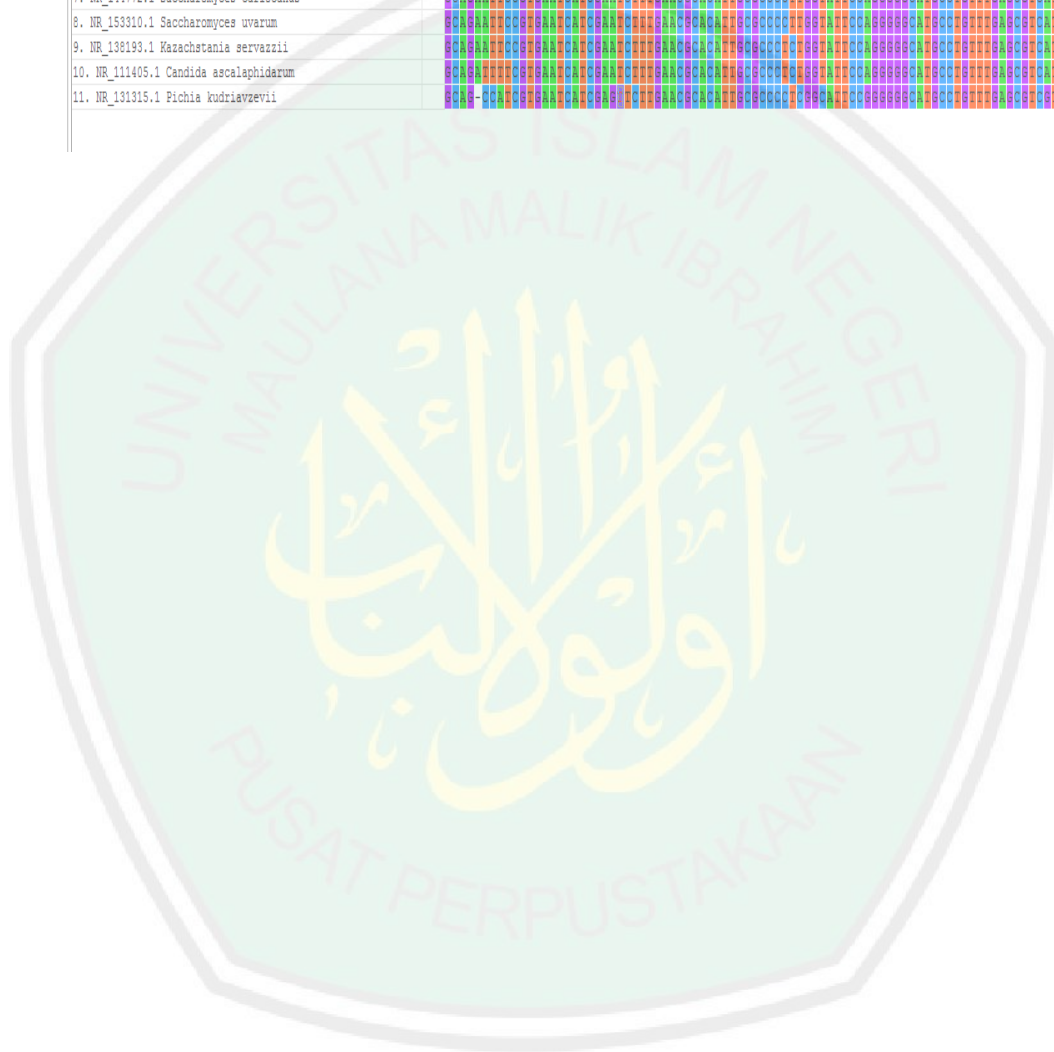
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate E1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spac	817	817	79%	0.0	Sort by ident	J03.1
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate E7 internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	449	449	44%	5e-124	97%	KM003607.1
☐	Saccharomyces cerevisiae strain JYC2599 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete s	409	409	69%	8e-112	85%	MK044078.1
☐	Saccharomyces sp. strain CM-CNRG 593 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	385	385	67%	1e-104	84%	MK271337.1
☐	Saccharomyces paradoxus strain ASU4 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequ	327	441	48%	2e-87	93%	KP060515.1
☐	Saccharomyces paradoxus strain LI 12_027 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	327	327	38%	2e-87	93%	KF057711.1
☐	Saccharomyces cerevisiae strain A02 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spac	309	309	49%	8e-82	86%	MG547774.1
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate URFM233 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribe	303	303	38%	4e-80	91%	KX859535.1
☐	Saccharomyces cerevisiae culture CBS 5155 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	303	303	38%	4e-80	91%	KY105015.1

3. Isolat khamir YI-7

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate B-WHX-12-48 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, co	1441	1441	97%	0.0	99%	KC544501.1
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate B-NC-12-OM12 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, c	1439	1439	98%	0.0	99%	KF728774.1
☐	Saccharomyces cerevisiae isolate B-WHX-12-43 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, co	1437	1437	98%	0.0	99%	KC544486.1
☐	Saccharomyces cerevisiae strain KSD-Yc chromosome 12	1434	9940	97%	0.0	99%	CP024006.1
☐	Saccharomyces cerevisiae strain LY183 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete s	1434	1434	97%	0.0	99%	KY711301.1

Lampiran 13. Hasil alignment pada Mega6

DNA Sequences		Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv	Gro	****	*****
1. 5-ITS1-F			
2. 6-ITS1-F			
3. FM603603.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> isolate E1			
4. NR_153296.1 <i>Saccharomyces arboricola</i>			
5. NR_138274.1 <i>Saccharomyces bayanus</i>			
6. KC544501.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> isolate B-WEX-12-48			
7. NR_144772.1 <i>Saccharomyces cariocanus</i>			
8. NR_153310.1 <i>Saccharomyces uvarum</i>			
9. NR_138193.1 <i>Kazachstania servazzii</i>			
10. NR_111405.1 <i>Candida ascalaphidarum</i>			
11. NR_131315.1 <i>Pichia kudriavzevii</i>			





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

Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Yoda Ikke Fitria Citra
NIM : 14620002
Program : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2018/2019
Pembimbing : Romaidi, M. Si., D, Sc
Judul Skripsi : Isolasi Dan Identifikasi Khamir Pada Bunga Pisang Klutuk (*Musa Balbisiana*) Serta Kemampuannya Dalam Fermentasi Karbohidrat

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	16 Maret 2018	Konsultasi Bab I-II	
2	29 Maret 2018	Konsultasi Bab I-III	
3	11 Juli 2018	Revisi Bab I-III	
4	17 Juli 2018	Revisi Bab I-III	
5	24 Desember 2018	Konsultasi Bab IV	
6	26 Desember 2018	Revisi Bab I-V	
7	13 Februari 2019	Revisi Bab I-V + Abstrak	

Pembimbing Skripsi

Romaidi, M. Si. D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

Malang, 27 Februari 2019
Ketua Jurusan



Romaidi, M. Si. D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019



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

Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : Yoda Ikke Fitria Citra
NIM : 14620002
Program : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2018/2019
Pembimbing : M. Muhklis Fahrudin M. S.I
Judul Skripsi : Isolasi Dan Identifikasi Khamir Pada Bunga Pisang Klutuk (*Musa Balbisiana*) Serta Kemampuannya Dalam Fermentasi Karbohidrat

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	17 April 2018	Manfaat tumbuhan pisang	
2	27 April 2018	Bab I-III	
3	10 Mei 2018	Revisi I-III	
4	24 Desember 2018	Bab IV	
5	26 Desember 2018	Revisi Bab IV	
6	25 Februari 2019	Analisis Integrasi	

Pembimbing Skripsi

M. Muhklis Fahrudin M. S.I
NIPT. 201402011409

Malang, 27 Februari 2019
Ketua Jurusan



Romaidi M. Si. D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019