

**ISOLASI DAN UJI POTENSI FERMENTASI KARBOHIDRAT KHAMIR
YANG DIISOLASI DARI BUAH *INDIGENOUS***

SKRIPSI

**OLEH:
NUR AZIZAH
NIM. 200602110160**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**ISOLASI DAN UJI POTENSI FERMENTASI KARBOHIDRAT KHAMIR
YANG DIISOLASI DARI BUAH *INDIGENOUS***

SKRIPSI

**OLEH:
NUR AZIZAH
NIM. 200602110160**

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

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**ISOLASI DAN UJI POTENSI FERMENTASI KARBOHIDRAT KHAMIR
YANG DIISOLASI DARI BUAH *INDIGENOUS***

SKRIPSI

Oleh:
NUR AZIZAH
NIM. 200602110160

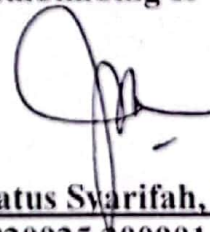
Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal:

Pembimbing I



Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002

Pembimbing II



Umaivatus Swarifah, MA
NIP. 19820925 200901 2 005



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi


Dr. F. Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI DAN UJI POTENSI FERMENTASI KARBOHIDRAT KHAMIR
YANG DIISOLASI DARI BUAH *INDIGENOUS***

SKRIPSI

**OLEH:
NUR AZIZAH
200602110160**

**telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan menyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 30 Juli 2024**

**Ketua Penguji : Ir. Liliek Hariani, AR. M.P
NIP. 19626901 199803 2 001**
**Anggota Penguji 1 : Prilva Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 19900428 202321 2 037**
**Anggota Penguji 2 : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19731005 200212 003**
**Anggota Penguji 3 : Umaiyatus Syarifah, MA
NIP. 19820925 200901 2 005**

(.....*Hing*.....)
(.....*Prilva*.....)
(.....*Ulfah*.....)
(.....*Umaiyatus*.....)



**Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi**

**Dr. Erika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002**

HALAMAN MOTTO

“Orang lain tidak akan bisa paham dengan struggle dan masa sulitnya kita yang mereka ingin tahu hanya bagaian success storiesnya. Berjuanglah untuk diri sendiri walaupun nanti tidak ada orang yang tepuk tangan. Kelak diri kita di masa depan akan sangat bangga dengan apa yang kita perjuangkan hari ini.”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Azizah
NIM : 200602110160
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Isolasi Dan Uji Potensi Fermentasi Karbohidrat
Khamir Yang Diisolasi Dari Buah *Indigenous*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil 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 menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 28 Juli 2024

Yang membuat pernyataan,



Nur Azizah

NIM.200602110160

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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini didedikasikan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam Menyusun skripsi ini, khususnya:

1. Alm Ibuku, Siti Latifah. Terima kasih sudah melahirkan, merawat, mendidik, dan mendoakan penulis selama hidup. Terima kasih, karena beliau adalah satu-satunya harapan dan semangat penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. *“Ibu, anakmu akan S.Si”*

2. Ayahku, Pujiono. Terima kasih karena sudah selalu mendoakan dan menemani penulis dalam menyelesaikan perkuliahan ini.

3. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Umayyatus Syarifah, MA. selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.

4. Kakakku tersayang, Uswatun Hasanah. Terimakasih karena sudah selalu ada disaat penulis membutuhkan bantuan.

5. Teman seperjuangan, Rizka Zahrotul Ilmiyah dan Dina Nur Rohmatul Azizah. Teman dari awal masuk bangku perkuliahan hingga nanti kita sukses bareng. Terima kasih, karena sudah menjadi tempat untuk berbagi suka duka, menjadi bagian dari proses skripsi penulis, dan berkembang bersama selama mengenyam perkuliahan.

6. Sahabat “Ruwet Club”, Erlina, Isma, Endhit. Terima kasih, karena sudah selalu ada di saat aku butuh tempat untuk pulang dan berbagi cerita.

7. Teruntuk “GESREK” Vida, Rafidah, Dinda, Nova, dan Cindy. Sahabat dari masa putih abu-abu yang sedang berjuang dan berproses bersama, semangat ya kalian. Terima kasih karena sudah saling mendoakan, saling menguatkan, dan saling mengulurkan tangan disaat aku dalam titik yang terendah. *“Yok bisaa yokk wisuda bareng”*

8. Teruntuk Yokevin Febrian Van Meyer. Kamu memang baru hadir, tapi terima kasih karena sudah tidak membiarkan penulis merasa sendiri, selalu memberikan dukungan moril maupun finansial selama penulis menyelesaikan skripsi ini. Semangat untuk kita yang sedang sama-sama berproses. Semoga Allah SWT memberikan kebaikan kepada kamu. Semoga segala niat baikmu dipermudah Allah SWT.

9. *Last but not least*, terima kasih teruntuk diri sendiri Nur Azizah, karena telah mampu berusaha keras dan berjuang sejauh ini. Mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan diluar keadaan dan tidak pernah menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dengan menyelesaikan sebaik dan semaksimal mungkin, terima kasih sudah hebat dan berhasil mencapai titik ini. *“Aku bangga padamu Caa”*

ISOLASI DAN UJI POTENSI FERMENTASI KARBOHIDRAT KHAMIR YANG DIISOLASI DARI BUAH *INDIGENOUS*

Nur Azizah, Ulfah Utami, Umaiyyatus Syarifah
Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Khamir merupakan fungi yang bersel satu dan dilapisi oleh membran sel. Khamir bereproduksi secara aseksual dengan pembentukan tunas (budding) dan memiliki fase secara seksual yang tidak tertutup dalam badan buah. Kandungan karbohidrat yang tinggi dapat dijadikan sebagai sumber karbon utama dalam proses fermentasi. Penelitian ini mengisolasi dan mengidentifikasi khamir dari buah sirsak (*Annona muricata* L.), buah semangka (*Citrullus lanatus*), dan buah pepaya (*Carica pepaya*) yang dilanjutkan dengan uji *screening* biokimia dan identifikasi molekuler. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik khamir yang ditemukan pada buah sirsak (*Annona muricata* L.), buah semangka (*Citrullus lanatus*), dan buah pepaya (*Carica papaya*), serta mengetahui spesies khamir yang diidentifikasi secara molekuler yang memiliki potensi terbaik dalam fermentasi karbohidrat. Proses awal yang dilakukan adalah dengan mengisolasi ketiga buah kemudian dipurifikasi sehingga didapat 9 isolat khamir dengan kode isolat YS-1, YS-2, YS-3, YK-1, YK-2, YK-3, YP-1, YP-2, dan YP-3. Kesembilan isolat khamir yang ditemukan berasal dari filum *Ascomycota*. Khamir yang telah didapat dilakukan uji *screening* biokimia meliputi uji fermentasi karbohidrat dan uji pertumbuhan pada media glukosa konsentrasi 50%. Isolat YP-3 memiliki potensi terbaik untuk dilanjutkan pada tahap molekuler. Hasil identifikasi molekuler dari isolat YP-3 memiliki kemiripan (99,73%) dengan spesies *Kodamaea ohmeri*.

Kata kunci: fermentasi, isolasi, karbohidrat, khamir

ISOLATION AND TESTING OF CARBOHYDRATE FERMENTATION POTENTIAL YEAST ISOLATED FROM INDIGENOUS FRUIT

Nur Azizah, Ulfah Utami, Umaiyyatus Syarifah
Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik
Ibrahim State Islamic University Malang

ABSTRACT

Yeast is a single-celled fungus covered by a cell membrane. Yeasts reproduce asexually by forming buds (*budding*) and have a sexual phase that is not enclosed in the fruiting body. The high carbohydrate content can be used as the main carbon source in the fermentation process. This research isolated and identified yeast from soursop (*Annona muricata* L.), watermelon (*Citrullus lanatus*), and pepaya (*Carica papaya*) fruit, followed by biochemical screening tests and molecular identification. The aim of this research is to determine the characteristics of the yeasts found in soursop fruit (*Annona muricata* L.), watermelon fruit (*Citrullus lanatus*), and pepaya fruit (*Carica papaya*), as well as to determine the molecularly identified yeast species that have the best potential in carbohydrate fermentation. The initial process carried out was to isolate the three fruits and then purify them to obtain 9 yeast isolates with isolate codes YS-1, YS-2, YS-3, YK-1, YK-2, YK-3, YP-1, YP-2, and YP-3. The nine yeast isolates found came from the *Ascomycota* phylum. The yeast that was obtained was subjected to biochemical screening tests including carbohydrate fermentation tests and growth tests on 50% concentration glucose media. The YP-3 isolate has the best potential to be continued at the molecular stage. The molecular identification results of the YP-3 isolate were similar (99.73%) to the *Kodamaea ohmeri* species.

Keywords: carbohydrate, fermentation, isolation, yeast

عزل واختبار الخميرة القادرة على تخمير الكربوهيدرات المعزولة من الفواكه المحلية

نور عزيزة، ألفة أوتامي، أمياتوس سياريفا
برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

ملخص البحث

الخميرة هي فطريات وحيدة الخلية مغطاة بغشاء الخلية. تتكاثر الخمائر لا جنسيًا عن طريق تكوين براعم (تبرعم) ولها مرحلة جنسية غير محصورة في الجسم الثمري. يمكن استخدام المحتوى العالي من الكربوهيدرات كمصدر رئيسي للكربون في عملية التخمير. قام هذا البحث بعزل وتحديد الخميرة من قشوة شائكة (*Annona muricata* L.)، والبطيخ (*Citrullus lanatus*)، وفاكهة البابايا (*Carica pepaya*)، تليها اختبارات الفحص الكيميائي الحيوي وتحديد الجزيئات. الهدف من هذا البحث هو تحديد خصائص الخمائر الموجودة في فاكهة القشوة الشائكة (*Annona muricata* L.)، وفاكهة البطيخ (*Citrullus lanatus*)، وفاكهة البابايا (*Carica pepaya*)، وكذلك تحديد أنواع الخميرة المحددة جزيئيًا والتي يمكن لديها أفضل إمكانات في تخمير الكربوهيدرات. كانت العملية الأولية التي تم تنفيذها هي عزل الثمار الثلاثة ومن ثم تنقيتها للحصول على 9 عزلات خميرة برمز العزل YS-1، YS-2، YS-3، YK-1، YK-2، YK-3، YP-1 و YP-2 و YP-3. جاءت عزلات الخميرة التسعة التي تم العثور عليها من شعبة Ascomycota. تم إخضاع الخميرة التي تم الحصول عليها إلى اختبارات الفحص البيوكيميائية بما في ذلك اختبارات تخمير الكربوهيدرات واختبارات النمو على أوساط الجلوكوز بتركيز 50٪. تتمتع عزلة YP-3 بأفضل الإمكانات للاستمرار في المرحلة الجزيئية. وكانت نتائج التحديد الجزيئي لعزلة YP-3 مماثلة (99.73٪) لأنواع *Kodamea ohmeri*.

الكلمات المفتاحية: الكربوهيدرات، التخمير، العزل، الخميرة

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmaanirrohiim, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi ini yang berjudul “Isolasi Dan Uji Potensi Fermentasi Karbohidrat Khamir Yang Diisolasi Dari Buah *Indigenous*”. Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan *diinul Islam* yang terpatri hingga akhirul zaman. Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Prof. Dr. Hj. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M. Si. dan Ibu Umaiatus Syarifah, MA selaku pembimbing I dan II serta dosen wali, Ibu Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
5. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
6. Ibu Siti Latifah (Alm) dan Bapak Pujiono, orang tua tersayang beserta saudara dan seluruh keluarga besar yang senantiasa mendoakan dan memberikan segala dukungan baik moral maupun materi. Tanpa bantuan mereka, penulis tidak akan mampu menjalani dan menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan Biologi UIN Malang ‘Ligase’, serta teman-teman Biologi Angkatan 2020 ‘BioGenC’ yang telah berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan skripsi.
8. Serta seluruh pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis menyadari betul bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan oleh penulis untuk kepenulisan yang lebih baik. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Malang, 2 Juli 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
ملخص البحث	xi
KATA PENGANTAR.....	xii
DAFTAR ISI	xiii
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.5 Batasan Masalah.....	7
BAB II	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Khamir	7
2.1.1 Ciri Umum Khamir	7
2.1.2 Taksonomi Khamir.....	8
2.1.3 Habitat Khamir	11
2.1.4 Manfaat Khamir Dalam Fermentasi Karbohidrat	11
2.2 Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	14
2.2.1 Klasifikasi Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	14
2.2.2 Deskripsi Dan Morfologi Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	15
2.3 Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>).....	15
2.3.2 Deskripsi dan Morfologi Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	16
2.4 Pepaya (<i>Carica papaya</i>).....	17
2.4.1 Klasifikasi pepaya (<i>Carica papaya</i>)	18
2.4.2 Deskripsi dan Morfologi Pepaya (<i>Carica papaya</i>).....	18
2.5 Perbandingan Kandungan Gizi Pada Buah Sirsak, Buah Semangka, Dan Buah Pepaya	18
2.6 Identifikasi Khamir.....	19
2.6.1 Identifikasi Konvensional	19

2.6.2 Identifikasi Molekuler	20
2.7 Fermentasi Karbohidrat	21
BAB III.....	23
METODE PENELITIAN	23
3.1 Rancangan Penelitian	23
3.2 Waktu dan Tempat	23
3.3 Alat dan Bahan	23
3.3.1 Alat.....	23
3.4.3 Media Fermentasi Karbohidrat	25
3.5 Isolasi Khamir.....	27
3.7 Identifikasi Morfologi Khamir	29
3.7.1 Pengamatan Makroskopis	29
3.8 Identifikasi Biokimia	30
3.8.1 Uji Fermentasi Karbohidrat	30
3.9.1 Isolasi DNA Khamir	31
3.9.3 PCR.....	32
3.9.4 <i>Sequencing</i> dan Identifikasi Molekuler	32
BAB IV	34
HASIL PENELITIAN.....	34
4.1 Jenis Khamir Yang Terdapat Dalam Buah Sirsak, Buah Semangka, Dan Buah Pepaya Berdasarkan Karakteristik Morfologi.....	34
4.2 Hasil Uji Biokimia Pada Khamir.....	45
4.5 Identifikasi Molekuler	51
BAB V	61
KESIMPULAN DAN SARAN	61
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Bentuk koloni sel khamir	7
Gambar 2.2 Pohon Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	14
Gambar 2.3 Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	15
Gambar 2.4 Pohon Pepaya (<i>Carica papaya</i>).....	17
Gambar 2.5 Bagan desain primer ITS 1 dan ITS 4 pada daerah gen ribosomal ...	21
Gambar 2.6 Perubahan Warna Dan Gelembung Gas Pada Media Fermentasi	22
Gambar 4.1 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YS-1	36
Gambar 4.2 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YS-2	37
Gambar 4.3 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YS-3	38
Gambar 4.4 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YP-1	39
Gambar 4.5 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YP-2	40
Gambar 4.6 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YP-3	41
Gambar 4.7 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YK-1	43
Gambar 4.8 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YK-2.....	44
Gambar 4.9 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YK-3.....	45
Gambar 4.10 Diagram Batang Kerapatan Sel Khamir Selama 48 Jam.....	50
Gambar 4.11 Hasil Pohon filogenetik menggunakan Neighbor-joining.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan gizi dalam 100 gram buah sirsak (<i>Annona muricata</i> L)	18
Tabel 2.2 Kandungan gizi pada 100 gram buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	19
Tabel 2.3 Kandungan gizi pada 100 gram buah pepaya (<i>Carica papaya</i>)	19
Tabel 4.1 Morfologi makroskopis koloni khamir.....	34
Tabel 4.2 Morfologi mikroskopis sel khamir	35
Tabel 4.3 Hasil uji fermentasi karbohidrat pada isolat khamir dari buah sirsak ...	46
Tabel 4.4 Uji Wilcoxon Signed-rank Non-parametrik.	49
Tabel 4.5 Identifikasi <i>sequence</i> gen ITS 4 menggunakan blast NCBI.....	53

LAMPIRAN

1. Hasil Fermentasi Karbohidrat Isolat Khamir Dari Buah Sirsak, Semangka, Dan Pepaya	67
2. Hasil Nilai <i>Optical Density</i> Pada Spektrofotometer 600 nm	70
3. Hasil Uji Normalitas Dan Uji Non Parametrik Nilai <i>Optical Density</i> Isolat Khamir Dari Buah Sirsak (<i>Annona muricata</i>), Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>), Dan Buah Pepaya (<i>Carica papaya</i>).....	72
4. Hasil <i>Sequence</i> Isolat Khamir YP-3	73

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berbagai macam tumbuhan, hewan, dan mikroba dapat ditemukan di Indonesia. Mikroorganisme dapat diklasifikasikan sebagai bakteri, virus, jamur, atau protozoa. Ada tiga jenis jamur: khamir, jamur berbentuk benang, dan jamur dengan tubuh buah besar (Anggraini *et al.*, 2019).

Khamir adalah jamur bersel tunggal dengan membran sel yang menutupinya. Khamir tidak memiliki fase seksual dan bereproduksi secara aseksual melalui tunas. Habitat khamir di udara, di darat, dan di air. Selain itu, khamir hadir dalam buah-buahan, daun, dan nektar bunga (Prihartini & Ilmi, 2018).

Selain itu, khamir dapat ditemukan di substrat buah. Ditemukan 38 spesies berbeda, seperti *Hypopichia burtoni*, *Candida wangnamkhiaoensis*, *Debaryomyces nepalensis*, *Pichia anomala*, *Pseudozyma prolifica*, dan *Kodamaea ohmeri*. Tan *et al.* (2014) mampu memisahkan khamir dari pisang dan mengekstrak amiloid darinya. Selanjutnya, sejumlah khamir amilolitik, seperti *Candida parapsilosis*, *C. glabrata*, dan *Rhodotorula mucilaginosa*, diidentifikasi dari buah oleh Oliveira *et al.* (2015).

Buah sirsak (*Annona muricata* L.) adalah jenis buah yang dapat tumbuh dan berbuah sepanjang tahun. Tanaman sirsak dapat hidup di berbagai lokasi, namun pertumbuhannya paling optimal di daerah yang memiliki pasokan air yang cukup, baik itu di dataran rendah atau di ketinggian hingga 500 meter di atas permukaan laut (Sugiyanto, 2017). Data BPS Jawa Timur mencatat produksi buah sirsak (*Annona muricata*) pada tahun 2020 sebesar 408.190 kwintal, sedangkan tahun

2021 sebesar 264.163 kwintal. Produksi buah sirsak khususnya di Kota Malang tercatat sebesar 44.676 kwintal pada tahun 2020 dan 57.883 pada tahun 2021 (BPS Jawa Timur, 2023).

Buah sirsak (*Annona muricata*) memiliki kandungan karbohidrat yang terdiri atas glukosa, 0,41 g, fruktosa 0,46 g, dan sukrosa sebesar 1,86 g (Afzaal et al., 2021). Penelitian Suryaningsih *et al.* (2018) menyatakan bahwa kandungan karbohidrat yang tinggi dapat menjadi sumber karbon utama dalam proses fermentasi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa isolat khamir (IK2) dari jus buah sirsak (*Annona muricata*) dapat tumbuh dengan baik pada media *Glukosa Yeast Peptone* yang mengandung 50% konsentrasi gula.

Sebaliknya, buah semangka (*Citrullus lanatus*) adalah salah satu komoditas hortikultura dengan produksi signifikan di Indonesia, berkontribusi sebesar 576.178 ton atau 2,86% dari total produksi buah. Nadeem *et al.* (2021) menyatakan bahwa semangka mengandung fruktosa sebesar 0,174 g, glukosa sebesar 0,2433 g, dan sukrosa sebesar 0,1863 g.

Kandungan air dalam buah semangka memiliki kadar yang sangat tinggi, mencapai sekitar 91-92%. Ini memberikan keuntungan dalam menjaga kelembapan selama fermentasi dan menyediakan media yang optimal untuk pertumbuhan mikroorganisme (Wang *et al.*, 2021). Kandungan air dalam semangka ini diketahui lebih tinggi daripada kandungan air pada buah apel sekitar 9-12%, pisang sekitar 15-20%, dan nanas 8-10%.

Pepaya (*Carica papaya*) adalah tanaman buah musiman yang memiliki sistem akar tunggang dengan akar cabang yang tumbuh mendatar hingga kedalaman 1 meter. Batangnya bulat, berongga, dan tidak berkayu, sedangkan daunnya berwarna hijau tua di bagian atas dan hijau muda di bagian bawah (Aditya,

2015). Pepaya memiliki kandungan gula organik yaitu 48,3 g glukosa, 29,8 g fruktosa, dan 21,9 g sukrosa (Utami *et al.*, 2022)

Kandungan gula pada pepaya diketahui lebih tinggi 5-8% dibandingkan dengan pisang 4-7%, dan nanas 6-8% (J.E Santos *et al.*, 2015). Pepaya juga diketahui mengandung enzim papain yang dapat membantu dalam pemecahan protein, meningkatkan ketersediaan karbohidrat dan mempercepat proses fermentasi. Kandungan enzim papain dalam buah pepaya yaitu sekitar 0,1-0,2% dari berat segar buah (Lee *et al.*, 2015). Enzim papain dalam buah pepaya ini lebih tinggi daripada buah kiwi yang berjumlah 0,03%-0,07% dan pada buah nanas sekitar 0,02-0,05 % (Garcia *et al.*, 2017).

Penelitian Muhammad *et al.* (2020) mengatakan bahwa isolat khamir yang dihasilkan dari buah pepaya (*Carica pepaya*) berasal dari genus *Saccharomyces* sp. Khamir ini menunjukkan potensi dalam fermentasi etanol dengan konsentrasi 3.07% (b/v), yang lebih tinggi dibandingkan dengan kenitu (2.41% b/v), pisang (2.54% b/v), dan cokelat (2.63% b/v). Yunita *et al.* (2021) juga mencatat bahwa sari buah pepaya dapat difermentasi oleh mikroba *Saccharomyces* sp., mengubah gula atau karbohidrat menjadi alkohol.

Allah berfirman dalam QS As-Saba' [33]: 22

قُلْ ادْعُوا الَّذِينَ زَعَمْتُمْ مِّنْ دُونِ اللَّهِ لَا يَمْلِكُونَ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ فِي السَّمُوتِ
وَلَا فِي الْأَرْضِ وَمَا هُمْ فِيهِمَا مِنْ شَرِكٍ وَمَا لَهُ مِنْهُمْ مِّنْ ظَهِيرٍ

“Katakanlah (Nabi Muhammad) “Selain Allah, panggillah orang-orang yang kamu sembah sebagai tuhan! Mereka tidak mempunyai kekuatan yang lebih besar daripada satu partikel pun di bumi dan langit. Selain itu, tidak ada satu pun dari mereka yang membantu-Nya dalam penciptaan dunia dan langit, dan mereka tidak terlibat apa pun.”

Dalam ayat ini, istilah "*Zarrah*" mengacu pada entitas yang sangat kecil seperti molekul atom atau bakteri. Ayat ini mengajarkan bahwa Allah lah yang mengatur seluruh kehidupan di alam semesta yang luas ini, termasuk kehidupan yang tidak terlihat oleh mata manusia, seperti mikroba. Mikroorganisme sangatlah kecil, khamir, misalnya, lebarnya hanya 1 hingga 10 μm dan panjang 5 hingga 20 μm (Puspita, 2020).

Khamir memiliki potensi yang besar dalam mendekomposisi senyawa organik dan digunakan dalam industri untuk memproduksi bioenergi seperti bioetanol. Contoh khamir yang dikenal efektif dalam proses ini antara lain *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Candida utilis*, *Torulaspora delbrueckii*, *Torulaspora globosa*, *Kodamaea ohmeri*, *Pichia kudriavzevii*, dan *Saccharomyces anamensis* (Simbolon et al., 2018).

Selain itu, khamir juga memainkan peran penting dalam bidang kesehatan, seperti *Candida* yang menghasilkan xylitol sebagai pengganti gula bagi penderita diabetes (Anggraini, 2019). Di bidang pangan, *Saccharomyces cerevisiae* terkenal karena kemampuannya dalam fermentasi gula dengan efisien, menghasilkan karbondioksida yang membuat adonan roti mengembang (Azizah, 2012).

Studi tentang peran khamir dalam fermentasi karbohidrat telah banyak dilakukan. Yoda (2019) melakukan isolasi khamir dari buah pisang klutuk dan mengidentifikasi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai khamir yang memiliki potensi baik dalam fermentasi karbohidrat. Ahmad (2018) menemukan bahwa khamir yang diisolasi dari buah apel, termasuk *Saccharomyces cerevisiae*, *Clavispora lusitaniae*, dan *Pichia kudriavzevii*, memiliki kemampuan fermentasi karbohidrat yang optimal.

Penelitian Musa *et al.* (2023) berhasil mengisolasi khamir dari buah mangga, nanas, dan kurma yang mampu fermentasi glukosa, sukrosa, dan fruktosa serta menghasilkan karbondioksida. Yesti *et al.* (2019) juga menemukan bahwa khamir dapat tumbuh pada buah tomat, dengan khamir dari genus *Debaryomyces* sp. mampu menghasilkan gas karena proses fermentasi gula menjadi etanol dan CO₂.

Identifikasi khamir dapat dilakukan melalui dua metode utama: konvensional dan molekuler. Metode konvensional melibatkan identifikasi berdasarkan sifat fisiologi dan biokimia, yang sering kali membutuhkan waktu lama, subjektif dalam interpretasi, dan memiliki potensi kesalahan karena karakteristik yang mirip pada khamir yang berkerabat dekat (Sri *et al.*, 2021).

Di sisi lain, identifikasi molekuler memungkinkan identifikasi khamir hingga tingkat spesies dengan menggunakan data urutan DNA. Ahmad (2018) menjelaskan bahwa metode ini memberikan hasil yang lebih akurat dibandingkan dengan metode konvensional. Salah satu penanda molekuler umum yang digunakan adalah urutan D1/D2 dan *Internal Transcribed Spacer* (ITS). ITS khususnya berguna dalam identifikasi khamir karena daerah ini memiliki laju mutasi yang tinggi dan mudah diamplifikasi karena keberadaan banyak salinan gen (Maryati *et al.*, 2020).

Untuk melakukan identifikasi molekuler khamir, primer yang umum digunakan adalah ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') sebagai *forward primer* dan ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') sebagai *reverse primer* (Mirendi *et al.*, 2007). Metode ini membantu memastikan identifikasi yang akurat dan lebih efisien dalam penentuan spesies khamir.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis khamir dari isolasi buah *Annona muricata* L., *Citrullus lanatus*, dan *Carica pepaya*?
2. Bagaimana kemampuan isolat-isolat khamir dari buah *Annona muricata* L., *Citrullus lanatus*, dan *Carica pepaya* dalam uji fermentasi karbohidrat?
3. Bagaimana identifikasi secara molekuler jenis isolat khamir dengan kemampuan uji fermentasi karbohidrat yang terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis khamir dari isolasi buah *Annona muricata* L., *Citrullus lanatus*, dan *Carica pepaya*
2. Untuk mengetahui kemampuan isolat-isolat khamir dari buah *Annona muricata* L., *Citrullus lanatus*, dan *Carica pepaya* dalam uji fermentasi karbohidrat.
3. Untuk mengetahui identifikasi secara molekuler jenis isolat khamir dengan kemampuan uji fermentasi karbohidrat yang terbaik.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini dapat memberikan informasi khamir yang ditemukan pada buah *Annona muricata* L., *Citrullus lanatus*, dan *Carica pepaya*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait khamir yang terbaik dalam fermentasi karbohidrat.

3. Mengetahui sifat biokimia khamir yang terdapat pada buah *Annona muricata* L., *Citrullus lanatus*, dan *Carica pepaya*.
4. Penelitian ini diharapkan dapat diaplikasikan dalam bidang mikrobiologi terutama dalam pembuatan bioethanol.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Buah yang dipakai dalam penelitian ini adalah buah *Annona muricata* L., *Citrullus lanatus*, dan *Carica pepaya*.
2. Media isolasi khamir yaitu *Yeast Media*.
3. Khamir diremajakan pada *Yeast Media Extract Agar* (YMEA).
4. Metode identifikasi dengan karakterisasi morfologi secara makroskopis (bentuk koloni, warna, elevasi, permukaan, dan tepi koloni) dan secara mikroskopis (bentuk sel, ukuran sel, reproduksi vegetative).
5. Jenis karbohidrat yang digunakan untuk menguji kemampuan isolat khamir dalam fermentasi karbohidrat meliputi glukosa, fruktosa, dan sukrosa, dan laktosa.
6. Uji biokimia yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji fermentasi karbohidrat dan uji konsentrasi gula 50%.
7. Identifikasi molekuler menggunakan ITS 1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') sebagai *forward primer* dan ITS 4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai *reverse primer*.

BAB II

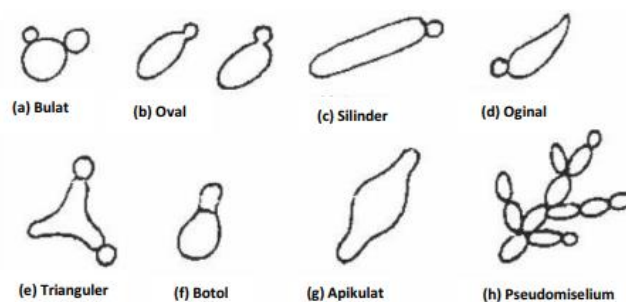
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Khamir

2.1.1 Ciri Umum Khamir

Salah satu jenis jamur uniseluler yang dikelilingi membran sel adalah khamir. Dimensinya berkisar antara lebar 1 hingga 10 μm dan panjang 5 hingga 20 μm (Puspita, 2020). Sel khamir dapat memiliki morfologi bulat, setengah bulat, oval, elips, atau silinder. Banyak spesies khamir yang mampu menghasilkan hifa yang dapat berkembang menjadi miselium palsu, antara lain *Candida spp.*, *Kluyveromyces spp.*, dan *Pichia spp.* (Dhiani, 2012).

Koloni khamir berbeda secara makroskopis dalam hal warna permukaan, tepi, bentuk, dan tepi. *Ascomycota* seringkali mempunyai koloni berwarna putih; Namun khamir golongan *Basidiomycetes* mempunyai pigmen warna yang dapat menyebabkan koloni berubah warna menjadi oranye, merah muda, atau merah (Yoda, 2019).



Gambar 2.1 Bentuk koloni sel khamir (Rini, 2017)

Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik yang tersebar luas di berbagai lingkungan ekologi, termasuk udara, air, dan tanah. Mereka dapat ditemukan sebagai parasit, saprofit, atau endofit pada berbagai substrat seperti

daun, bunga, buah matang, dan biji-bijian (Festus et al., 2020). Karena potensi adaptasinya yang luas ini, khamir telah dimanfaatkan dalam berbagai industri untuk proses pembuatan produk seperti makanan, minuman, pengolahan limbah, dan bahan kimia (Nasir *et al.*, 2017).

2.1.2 Taksonomi Khamir

Khamir dikelompokkan ke dalam dua filum utama dalam taksonomi fungi, yaitu filum *Ascomycota* dan filum *Basidiomycota*. Khamir yang termasuk dalam filum *Ascomycota* umumnya termasuk dalam kelompok yang memproduksi askospora, dikenal sebagai *asporogenous yeast*, dan tidak membentuk struktur reproduktif askokarp. Mayoritas khamir dalam kelompok ini adalah anggota dari ordo *Saccharomycetales*.

2.1.2.1 Filum *Ascomycota*

Anggota famili *Saccharomyces* dapat ditemukan di berbagai substrat yang mengandung gula, seperti buah-buahan, madu, dan bahkan dalam air susu. Spesies-spesies dalam filum ini memiliki struktur talus vegetatif yang tidak terdiri dari hifa yang bersatu membentuk *pseudomiselium* (Achmad, 2018).

2.1.2.1.1 *Archiascomycota*

Subkelas khamir ini ditandai dengan tidak adanya *ascocarp* (tubuh buah) yang menutupi ascus, dinding sel dua lapis, dan reproduksi aseksual melalui perkembangan tunas enteroblastik atau pembelahan sel (Hamamoto & Nakase, 2000; Kurtzman & Sugiyama, 2001). Contohnya seperti *Lalaria*, yang berkembang biak secara vegetatif dengan mengeluarkan tunas dari atau dekat kutub selnya, termasuk dalam kelas *Archiascomycota*. Di antara banyak ciri mereka adalah adanya perkembangan askogen sepanjang tahap seksual, bahkan tanpa adanya hifa

askogen, seperti yang diamati pada anggota *Archiascomycota*. Reproduksi aseksual terjadi melalui pembelahan fisi dan tunas. *Schizosaccharomyces* dan *Protomyces* merupakan dua *yeast* yang termasuk dalam kategori *Archiascomycota* (Noordiyah, 2019).

2.1.2.1.2 *Hemiascomycota*

Karakteristik khamir dalam subkelas ini meliputi adanya askus yang tidak dilapisi oleh askokarp (tubuh buah). Dalam klasifikasi filogenetiknya, *Hemiascomycota* terdiri dari khamir yang melakukan reproduksi dengan cara *budding*. Ordo yang termasuk dalam subkelas *Hemiascomycota* hanya *Saccharomycetales*. *Hemiascomycota* tidak menghasilkan ascogonium atau ascomata. Contoh khamir yang termasuk dalam subkelas *Hemiascomycota* adalah genus *Saccharomyces*, *Pichia*, *Debaromyces*, *Candida*, dan *Trignopsis* (Gandjar *et al.*, 2006).

2.1.2.1.3 *Euascomyetes*

Karakteristik khamir dalam subkelas *Euascomycota* meliputi keberadaan dinding sel yang terdiri dari kitin dan glukan, serta adanya struktur Woronin bodies yang juga dikenal sebagai lubang septum. Fungi dalam subkelas ini memiliki kemampuan untuk membentuk filamen dan hifa. *Euascomycota* juga dapat ditemukan pada beberapa jenis khamir hitam (*black yeast*) (Gandjar *et al.*, 2006). Salah satu contoh khamir yang termasuk dalam subkelas *Euascomycota* adalah *Oosporodinium margaritiferum*.

2.1.2.2 Filum *Basidiomycota*

Basidiomycota memiliki ciri-ciri seperti memiliki tubuh buah yang berukuran makroskopis, dengan bentuk bisa berupa panjang, berlipat-lipat

(lamellate), atau bulat. Filum *Basidiomycota* mencakup anggota yang bisa berukuran mikro atau makro (Aulia *et al.*, 2023). Beberapa contoh genus dalam filum *Basidiomycota* meliputi *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, dan *Trichosporon*. Filum *Basidiomycota* dibagi menjadi dua kelas berdasarkan struktur basidiumnya, yaitu *Homobasidiomycetes* yang memiliki satu sel basidium, dan *Heterobasidiomycetes* yang memiliki basidium yang terdiri dari empat sel (Achmad, 2018).

2.1.2.2.1 *Urediniomycetes*

Khamir dalam subkelas *Urediniomycetes* memiliki septa dengan pori-pori sederhana yang menyerupai diafragma. Dinding sel khamir ini kaya akan mannose dalam jumlah yang signifikan, glukosa dalam kadar tertentu, serta fruktosa dan ramnosa dalam jumlah yang lebih sedikit (Gandjar *et al.*, 2006). Salah satu contoh khamir dalam kelas *Urediniomycetes* adalah genus *Cystofilobasidium*, dengan spesies *Cystofilobasidium infirmominiatum*.

2.1.2.2.2 *Hymenomycetes*

Ciri khamir dalam subkelas ini termasuk memiliki septa tipe dolipore. Khamir kelas *Hymenomycetes* memiliki dinding sel yang terdiri dari komposisi gula, seperti glukosa, mannosa, dan xylosa (Sjamsulridzal, 2006). Sebagai contoh, khamir yang termasuk dalam kelas *Hymenomycetes* adalah *Pseudozyma antarctica*, sebagaimana yang dijelaskan oleh Kurtzman dan Fell (2006).

2.1.2.2.3 *Ustilaginomycetes*

Kelas *Ustilaginomycetes* memiliki dinding sel yang terdiri dari campuran gula-gula, dengan komposisi dominan terdiri dari galaktosa, glukosa, dan mannososa (Sjamsulridzal, 2006). Salah satu contoh dari kelas *Ustilaginomycetes* adalah genus *Pseudozyma*, yang mencakup spesies *Pseudozyma aphidis*

2.1.3 Habitat Khamir

Khamir dapat ditemukan di perairan, daratan, dan udara. Khamir khususnya serangga dan yang bersifat pathogen pada manusia dapat ditemukan pada saluran pencernaan manusia. Khamir juga dapat ditemukan pada lingkungan yang memiliki kandungan gula atau garam yang tinggi, temperature yang rendah, dan lingkungan dengan oksigen yang rendah. Khamir juga dapat ditemukan pada biji, buah, dan bunga yang banyak mengandung gula (Wulandari, 2018).

2.1.4 Manfaat Khamir Dalam Fermentasi Karbohidrat

Manfaat khamir dijelaskan dalam QS. al-Baqarah [2]: 164, yaitu:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۖ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Allah SWT telah menciptakan langit dan bumi dengan sempurna, serta menetapkan pergantian antara malam dan siang. Dia menciptakan kapal-kapal yang berlayar di lautan membawa muatan yang berguna bagi manusia. Allah SWT menurunkan air dari langit yang membasahi bumi, lalu dihidupkan-Nya kembali bumi yang telah mati dengan menyuburkannya dan menyebar berbagai macam makhluk hidup di dalamnya. Allah SWT juga mengatur gerakan angin dan membentuk awan yang mengapung di antara langit dan bumi. Semua ini adalah tanda-tanda kebesaran Allah bagi orang-orang yang memiliki pengetahuan dan kefahaman. (al-Baqarah/2: 164)

Dalam ayat ini, kata "*dabbah*" mengacu pada hal-hal yang menyeramkan, seperti hewan, manusia, dan mikroba seperti khamir. *Dābbah* menurut asy-Sya'rawiy (tth.: 2, 8008), adalah segala sesuatu yang bergerak di bumi, bahkan organisme mikroskopis pun hanya terlihat di bawah kaca pembesar. Pada titik ini, umat manusia mulai mengungkap pentingnya mikroorganisme bagi keberadaan manusia dan planet itu sendiri (Tafsir Ilmi, 2015).

Hasil isolat khamir (IK2) sari buah sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan genus *Candida* mampu tumbuh pada media glukosa pepton khamir dengan konsentrasi gula 50%, menurut penelitian Suryaningsih *et al.* (2018). Hal ini menunjukkan bahwa khamir dapat tumbuh subur pada medium dengan kadar gula yang tinggi. Penelitian Ogodo *et al.*, (2015) menjelaskan bahwa hamir dari semangka memiliki potensi dalam fermentasi karbohidrat. Penelitian telah menunjukkan bahwa semangka dapat digunakan dalam produksi *wine* dengan menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang diisolasi dari anggur kelapa. Isolat khamir yang berhasil diidentifikasi dari buah semangka dengan spesies *Candida tropicalis* diketahui mampu menghasilkan etanol dengan konsentrasi tertinggi sebesar 6.58% (v/v) pada suhu 42°C apat ditemukan pada penelitian (Talukder *et al.*, 2016). Etanol (C₂H₅OH) sendiri adalah cairan biokimia yang berasal dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme (Yumas & Rosniati, 2014).

Peran khamir dalam fermentasi karbohidrat juga dapat ditemukan pada penelitian Muhammad *et al* (2020) menjelaskan bahwa diketahui hasil isolasi khamir dari buah pepaya (*Carica pepaya*) berupa genus *Saccharomyces sp.* Isolat khamir dari pepaya juga diketahui berpotensi pada fermentasi etanol 3.07% (b/v)

dibandingkan dengan kenitu sebesar 2.41% (b/v), pisang 2.54% (b/v), cokelat 2.63% (b/v). Yunita *et al.* (2021) juga menegaskan bahwa sari buah pepaya (*Carica pepaya*) dapat melakukan fermentasi dengan bantuan mikroba *Saccharomyces sp.* dengan mengubah gula atau karbohidrat menjadi alkohol. Sumber karbon bagi *Saccharomyces cereviceae* untuk dapat melakukan fermentasi yaitu sukrosa, glukosa, fruktosa, manosa dan maltose (Yumas & Rosniati, 2014).

Penelitian terkait peran khamir dalam fermentasi karbohidrat telah banyak dilakukan pada buah-buah yang lain. Yoda (2019) telah melakukan isolasi khamir dari buah pisang klutuk dan diidentifikasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang mempunyai potensi yang baik dalam fermentasi karbohidrat. Penelitian Ahmad (2018) telah berhasil mengidentifikasi khamir dari buah apel yang mempunyai fermentasi karbohidrat terbaik, diantaranya *Saccharomyces cerevisiae*, *Clavispora lusitanie*, dan *Pichia kudriavzevii*. Musa *et al.* (2023) juga berhasil mengisolasi khamir dari buah mangga, nanas, dan kurma yang memiliki kemampuan dalam fermentasi glukosa, sukrosa, dan fruktosa serta memproduksi karbondioksida. Khamir juga dapat tumbuh pada buah tomat, berdasarkan penelitian Yesti *et al.* (2019) diketahui bahwa khamir yang berhasil diidentifikasi berasal dari genus *Debaryomyces sp.* Khamir tersebut mampu melakukan fermentasi karbohidrat dengan ditandai munculnya gas terjadi karena adanya proses fermentasi gula menjadi etanol dan melepaskan CO₂ (Yesti *et al.*, 2019)

Roti sebagian dibuat dengan khamir, seperti *Saccharomyces cerevisiae*. Untuk menghasilkan karbon dioksida, yang diperlukan untuk mengembangkan adonan roti, khamir memfermentasi gula. Dengan menyediakan *reagen* sebagai hasil

pemecahan enzimatis khamir, enzim khamir secara tidak langsung berkontribusi pada reaksi *Maillard*, yang menghasilkan rasa roti (Rahmat Kusnedi, 2021).

2.2 Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sirsak adalah tanaman asal Amerika Selatan dan Amerika Tengah. Di Indonesia, Sirsak (*Annona muricata* L.) lebih dikenal dengan nama Nangka landa, Nangka sebrang, Nangka England (Madura), srikaya Jawa (Bali), dan sirsak (Sunda). Buah sirsak merupakan tumbuhan yang tidak mengenal musim dan selalu berbuah sepanjang tahun.



Gambar 2.2 Pohon Sirsak (*Annona muricata* L.) (a), Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) (b) (Rai Nyoman *et al.*, 2016)

2.2.1 Klasifikasi Sirsak (*Annona muricata* L.)

Klasifikasi Sirsak (*Annona muricata* L.) adalah sebagai berikut: (ITIS, 2015)

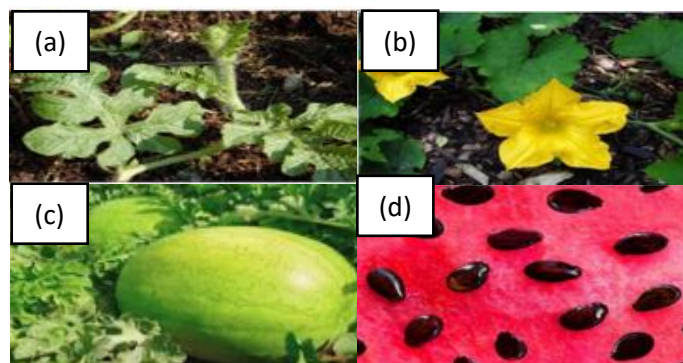
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.

2.2.2 Deskripsi Dan Morfologi Sirsak (*Annona muricata* L.)

Batang sirsak (*Annona muricata* L.) berwarna coklat dan bercabang, sedangkan daunnya lanset, hijau, dan memiliki tepian rata dan ujung runcing. Mekar di kayu gelondongan adalah yang kuning kehijauan. Buah sirsak berukuran sedang hingga besar dapat memiliki bentuk tidak beraturan seperti oval atau hati, dan berwarna hijau. Pulp, yang terdiri dari bagian serat juicy yang berwarna putih, dapat dimakan mentah dan memiliki biji keras yang berwarna hitam (Qomaliyah, 2022).

2.3 Semangka (*Citrullus lanatus*)

Buah-buahan tropis seperti semangka (*Citrullus lanatus*) tumbuh di hampir setiap wilayah Afrika dan Asia Tenggara (Ogodo *et al.*, 2015). Buah yang banyak mengandung air, semangka memiliki rasa yang renyah dan manis. Buah ini asli daerah tropis, seperti Indonesia. Orang-orang mengenali dan menyukai semangka karena dagingnya yang segar, sehingga menjadikannya buah yang populer. Tanaman semangka tergolong tanaman musiman hanya membutuhkan waktu enam bulan dari tanam hingga panen, (Maria & Retno, 2020)



Gambar 2.3 Semangka (*Citrullus lanatus*), Daun semangka (a), Bunga semangka (b), Buah semangka (c) Biji semangka (Ismael *et al.*, 2022)

2.3.1 Klasifikasi Semangka (*Citrullus lanatus*)

Klasifikasi Semangka (*Citrullus lanatus*) menurut ITIS (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Curcubitales
Famili	: Curcubitaceae
Genus	: <i>Citrullus</i>
Spesies	: <i>Citrullus lanatus</i>

2.3.2 Deskripsi dan Morfologi Semangka (*Citrullus lanatus*)

Morfologi buah semangka (*Citrullus lanatus*) terdapat dalam QS. as-Saffat [37]: 145-146, yaitu:

فَنَبَذْنَاهُ بِالْعَرَاءِ وَهُوَ سَقِيمٌ (١٤٥) وَأَنْبَتْنَا عَلَيْهِ شَجَرَةً مِنْ يَقْطِينٍ (١٤٦)

Kemudian, ketika dia sakit, kami menurunkannya ke tempat yang sepi. Selanjutnya, kami menanam pohon labu (aṣ-ṣaffāt/37: 145–146)

Istilah 'Yaqtin' dalam ayat ini adalah anggota keluarga labu kuning *Cucurbitaceae*. Menurut Tafsir Ilmi (2015), semua tanaman yang tidak bercabang, seperti mentimun dan semangka, disebut dengan “*yaqfīn*” dalam bahasa Arab. Tumbuhan dalam famili *Cucurbitaceae* pada dasarnya merupakan terna tahunan, atau tanaman merambat dengan sulur yang melilit. Bila sulur berfungsi sebagai beberapa cabang (Ana, 2021). Nabi Yunus dikisahkan sakit dan lapar ketika dikeluarkan dari perut ikan paus dan ditinggalkan begitu saja di tempat yang sunyi. Melalui keberlimpahan rahmat-Nya. Tuhan menanam pohon itu (Tafsir Ilmi, 2015).

Tanaman semangka adalah tanaman merambat musiman yang dapat tumbuh hingga 3-5 meter menggunakan sulur. Mereka termasuk dalam kelompok tanaman buah yang dikenal dengan kapasitas reproduksi tinggi, tergantung pada jenisnya. Panen semangka biasanya dilakukan sekitar 60-90 hari setelah penanaman benih atau 65-75 hari setelah dipindahkan, meskipun beberapa varietas memerlukan waktu 95-100 hari (Kinasih, 2020).

Batang tanaman semangka memiliki bentuk bersegi dan berambut, dengan panjang berkisar antara 1,5 hingga 5,0 meter. Sulur mereka bercabang, merayap di atas tanah atau memanjat langsung di tiang bambu. Setiap ruas pertumbuhan memiliki daun yang dilengkapi dengan bulu halus berwarna putih yang panjang dan tajam. Umumnya, setiap ruas memiliki sekitar 2-3 sulur (Kinasih, 2020).

2.4 Pepaya (*Carica papaya*)

Pepaya berasal dari Meksiko bagian selatan dan utara Amerika Selatan. Tanaman ini kemudian menyebar ke Benua Afrika, Asia, dan India. Dari India, pepaya menyebar ke berbagai negara tropis, termasuk Indonesia pada abad ke-17 (Aditya, 2015).



Gambar 2.4 Pohon pepaya (*Carica pepaya*) (a), Bunga pepaya (b), Buah pepaya (c) (Amalia, 2021)

2.4.1 Klasifikasi pepaya (*Carica papaya*)

Klasifikasi pepaya menurut Aditya (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Kelas	: Angiospermae
Ordo	: Caricales
Famili	: Caricaceae
Genus	: Carica
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L.

2.4.2 Deskripsi dan Morfologi Pepaya (*Carica pepaya*)

Tanaman pepaya (*Carica pepaya*) merupakan tanaman yang mempunyai system perakaran tunggang, terdiri dari akar bercabang yang menjulur mendatar hingga kedalaman satu meter. Tanaman ini mempunyai batang yang berongga, lurus, bulat, dan tidak berkayu. Daun tumbuhan ini berwarna hijau muda di bagian bawah dan hijau tua di permukaan atas (Aditya, 2015).

2.5 Perbandingan Kandungan Gizi Pada Buah Sirsak, Buah Semangka, Dan Buah Pepaya

Perbandingan Kandungan Gizi Pada Buah Sirsak, Buah Semangka, Dan Buah Pepaya disajikan dalam tabel berikut ini:

Tabel 2 1 Kandungan gizi dalam 100 gram buah sirsak (*Annona muricata* L)
(Afzaal *et al.*, 2021)

Kandungan	Jumlah	Kandungan	Jumlah
Karbohidrat	16,30 g	Sukrosa	1,86 g
Protein	3,59 g	Niacin	1,28 g
Lemak	0,8 g	Flavanoid	1,97 g
Glukosa	0,41 g	Lysine	60 g
Fruktosa	0,62 g	Tryptophan	11 g

Tabel 2 2 Kandungan gizi pada 100 gram buah semangka (*Citrullus lanatus*)
(Nadeem *et al.*, 2022)

Kandungan	Jumlah	Kandungan	Jumlah
Sucrose	0,1863g	Magnesium	0,154 g
Glucose	0,2433 g	Sodium	0,015 g
Fructose	0,174 g	Protein	0,9 g
Maltose	0,924 g		
Carbohydrate	11,6 g		
Vitamin C	0,0125g		
Calsium	0,108 g		

Tabel 2 3 Kandungan gizi pada 100 gram buah pepaya (*Carica pepaya*) (Utami *et al.*, 2022)

Kandungan	Jumlah	Kandungan	Jumlah
Air	81,39 g	Vitamin C	0,474 g
Protein	0,29 g	Vitamin A	0,109 g
Lemak	0,35 g	Vitamin E	0,073 g
Karbohidrat	9,65g		
Sukrosa	48,3 g		
Glukosa	29,8 g		
Fruktosa	21,9 g		

2.6 Identifikasi Khamir

Identifikasi adalah melakukan perbandingan isolat khamir yang belum diketahui dengan isolat khamir yang sudah diketahui untuk menetapkan identitas dari khamir tersebut. Manfaat dari melakukan identifikasi khamir ini adalah mempelajari hubungan kekerabatan antara khamir, mengetahui peran khamir dalam industri makanan dan minuman, mendeteksi adanya kontaminan. Identifikasi bisa dilakukan dengan 2 cara, yaitu identifikasi konvensional dan identifikasi molekuler.

2.6.1 Identifikasi Konvensional

Identifikasi khamir dengan cara konvensional juga bisa dilakukan dengan mempertimbangkan sifat-sifat fisiologis dan biokimianya. Biasanya, metode ini melibatkan penilaian karakteristik fisiologi dan biokimia umum dari khamir.

Meskipun demikian, pendekatan identifikasi ini memiliki beberapa kelemahan seperti memakan waktu lama untuk pengujian, memerlukan interpretasi yang subjektif, dan karakteristik fisiologi serta biokimia khamir yang berkerabat dekat seringkali mirip sehingga bisa menyebabkan kesalahan dalam proses identifikasi (Hartati *et al.*, 2021).

2.6.2 Identifikasi Molekuler

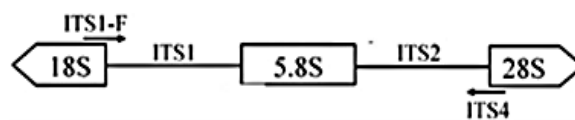
Identifikasi molekuler merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi khamir hingga tingkat spesies dengan menggunakan data urutan DNA. Fee *et al.* (2000) menunjukkan bahwa analisis urutan DNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi khamir-khamir dari kelompok Basidiomycota sampai ke tingkat spesies.

Teknik identifikasi molekuler khamir menggunakan berbagai pendekatan, termasuk penggunaan marker universal seperti urutan D1/D2 dan *Internal Transcribed Spacer* (ITS). ITS adalah wilayah non-coding pada DNA ribosom (rDNA) yang sering digunakan dalam identifikasi molekuler jamur karena tingkat mutasinya yang tinggi dan kemampuannya untuk diamplifikasi dengan mudah berkat jumlah salinan gen yang banyak (Maryati *et al.*, 2020).

Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) digunakan secara luas dalam identifikasi molekuler karena sensitivitasnya yang tinggi dan efisiensinya dalam melipatgandakan dan mengamplifikasi sekuens nukleotida tertentu secara eksponensial *in vitro* (Hartati *et al.*, 2021). Contoh teknik PCR yang umum digunakan untuk identifikasi khamir adalah dengan menggunakan primer universal seperti ITS1 (forward primer: 5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') dan ITS4 (reverse primer: 5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'), yang mengamplifikasi

sebagian dari gen 18S, ITS1, gen 5,8S, ITS2, dan sebagian dari gen 28S ribosomal DNA (Mirhendi *et al.*, 2007).

Dengan menggunakan pendekatan identifikasi molekuler ini, hasil yang diperoleh cenderung lebih akurat dibandingkan dengan metode konvensional yang berdasarkan sifat fisiologi dan biokimia, serta lebih cepat dan efisien dalam prosesnya.



Gambar 2.5 Bagan desain primer ITS 1 dan ITS 4 pada daerah gen ribosomal DNA (Hartati *et al.*, 2021)

2.7 Fermentasi Karbohidrat

Fermentasi adalah proses biologis di mana mikroorganisme (khamir) menguraikan karbohidrat dalam kondisi anaerob, menghasilkan karbon dioksida (CO_2) dan etanol. Etanol kemudian digunakan sebagai prekursor untuk senyawa organik seperti asam asetat. *Saccharomyces cerevisiae* adalah khamir utama yang digunakan untuk mengfermentasi gula-gula seperti glukosa, sukrosa, galaktosa, dan rafinosa. Berbagai faktor, termasuk durasi fermentasi dan zat tambahan seperti gula, memengaruhi hasil akhir produk fermentasi.

Ketika khamir mengfermentasi karbohidrat, mereka menghasilkan etanol dan CO_2 dalam lingkungan anaerob (Fika *et al.*, 2017). Kemampuan khamir untuk mengfermentasi karbohidrat sering kali ditunjukkan dengan perubahan warna pada medium uji, biasanya menjadi merah muda akibat pembentukan asam dan CO_2 . Senyawa-senyawa asam ini bertanggung jawab atas perubahan pH dan perubahan

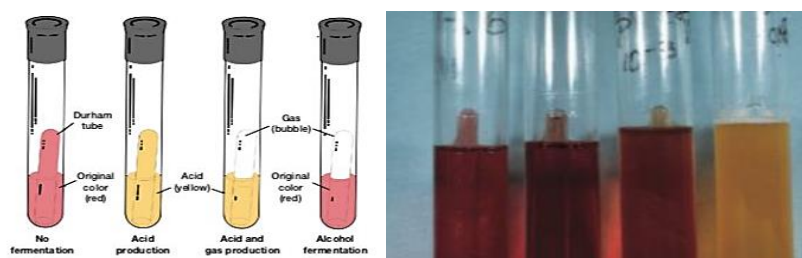
warna yang menyertainya (Karkie *et al.*, 2017). Produksi gas CO₂ sangat penting bagi khamir, sebagai ukuran untuk mengidentifikasi jenis khamir yang paling efisien dalam menghasilkan CO₂. Dari perspektif kimia, proses fermentasi karbohidrat dapat disimpulkan sebagai berikut:



Proses kimia fermentasi karbohidrat (Salsabilla *et al.*, 2013)

Setelah fermentasi karbohidrat, beberapa senyawa organik seperti gas, asam, atau alkohol dapat dihasilkan. Misalnya, ketika isolat mikrobiologi dikultur dalam media yang mengandung glukosa, asam organik dapat diproduksi oleh isolat tersebut sebagai produk sampingan dari aktivitas metabolismenya. PH medium diturunkan oleh pelepasan asam-asam ini. Warna medium akan berubah dari merah menjadi kuning ketika indikator pH, seperti merah fenol atau ungu bromokresol, ditambahkan (Gambar 2.7) (Harley & Prescott, 2002).

Gas yang dihasilkan selama fermentasi dapat dideteksi menggunakan tabung durham. Selama proses autoklaf, udara akan dikeluarkan melalui tabung durham, mengisi tabung dengan medium. Jika gas dihasilkan oleh isolat mikroba selama fermentasi, cairan dalam tabung durham akan tergantikan, membentuk gelembung udara. (Gambar 2.6) (Harley & Prescott, 2002).



Gambar 2.6 Perubahan warna dan gelembung gas pada media fermentasi karbohidrat (Harley & Prescott, 2002)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksplorasi dan deskripsi kualitatif. Penelitian eksplorasi dalam penelitian ini adalah dengan cara mengisolasi khamir dari buah sirsak (*Annona muricata* L.), buah semangka (*Citrullus lanatus*), dan buah pepaya (*Carica papaya*). Penelitian deskriptif kualitatif dilakukan dengan cara pengamatan morfologi *yeast* yang terbaik spada uji biokimia dan molekuler.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November sampai Mei 2024. Lokasi pengambilan sampel buah sirsak (*Annona muricata* L.) berada di Jl Laksmaana Martadinata III, sampel buah semangka (*Citrullus lanatus*) di Jl Gatot Subroto, Pasuruan, dan sampel buah pepaya (*Carica papaya*) berada di Jalan Pronoyudo, Batu. Isolasi khamir dari buah sirsak (*Annona muricata* L.), buah semangka (*Citrullus lanatus*), dan buah pepaya (*Carica papaya*) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Biokimia, dan Optik dan analisis molekuler bertempat di Laboratorium Genetika dan Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibarahim Malang. Proses *sequencing* menggunakan jasa 1stBASE Laboratories Sdn Bhd.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Tabung endofoft 50 ml, erlenmeyer, beakerglass, cawan petri, gelas objek, deck glass, pipet volume, bola isap, gelas ukur, labu takar, spatula, mikropipet, meteran analitik, inkubator, lemari es, kompor listrik, autoklaf, mikroskop, pinset

pengaduk kaca, tabung reaksi, pengaduk, lemari es, sendok, jarum penyebar, oven, kamera, tube eppendorf, Molecular Imager® Agar Doc D XR System BIO-RAD, MyCycler D BIO -RAD Thermal Cycler, rak tabung, mikropipet, ujung biru, ujung kuning, ujung putih, pusaran, spatula, timbangan analitik sartorius, gelas ukur, erlenmeyer, microwave, cetakan agar, alat elektroforesis, dan BIO-RAD adalah beberapa diantaranya item.

3.3.2 Bahan

Buah Semangka (*Citrullus lanatus*), pepaya (*Carica pepaya*), buah sirsak (*Annona muricata* L.), medium khamir (YM), khamir *ekstrak malt agar* (YMEA), media fermentasi karbohidrat, dan gula Glukosa 50%, Natrium DL-Laktat, alkohol 70%, air suling, etanol absolut, TE (Tris-EDTA), buffer pH 7,6, agarosa, loading dye, Ethidium Bromide (EtBr) SIGMA-ALDRICH, tisu, kertas minyak, kertas label, aluminium foil, methylene blue, dan Alkohol 70% merupakan kandungan dari *Yeast Peptone Medium* (GYP). ITS 4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') merupakan *reverse primer* sedangkan ITS 1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') merupakan *forward primer*.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Bahan dan Alat

Proses sterilisasi instrumen dan perlengkapan meliputi pembungkusan cawan petri dengan kertas, ditutup dengan plastik tahan panas, dan pembungkusan peralatan gelas lainnya dengan aluminium foil. Selanjutnya diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi.

3.4.2 Pembuatan media

3.4.2.1 *Yeast Malt Broth (YMB)*

Dengan penyesuaian tertentu, media YMB dikembangkan dengan menggunakan buku Kurtzman dan Fell tahun 1998 sebagai panduan. Dibutuhkan 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 3 gram ekstrak khamir, 3 gram ekstrak malt, dan 1000 mililiter air suling untuk membuat 1000 mililiter media YMB. Selanjutnya bahan disiapkan dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer.

3. perband Media *Yeast Malt Extract Agar (YMEA)*

Dengan penyesuaian tertentu, buku Kurtzman dan Fell tahun 1998 menjadi acuan pembuatan media YMEA. Dibutuhkan 20 agar mikrobiologi, 10 gram glukosa, 5 gram pepton, 3 gram ekstrak khamir, 3 gram ekstrak malt, dan 1000 ml air suling untuk membuat 1000 ml media YMEA. Selanjutnya bahan disiapkan dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Selanjutnya aluminium foil digunakan untuk menutup tabung erlenmeyer. Setelah itu media dihomogenisasi tanpa dipanaskan di atas hot plate. Setelah itu, media yang telah dihomogenisasi disterilkan pada suhu 121°C dalam autoklaf. 120 µl antibiotik sodium DL-laktat ditambahkan ke media YMEA steril pada suhu sekitar 50°C (Biomedical, 2015).

3.4.3 Media Fermentasi Karbohidrat

3.4.3.1 Pembuatan Media *Carbohydrate Solution*

Pembuatan media *carbohydrate solution* dilakukan dengan melarutkan 10 gram jenis gula (glukosa, sukrosa, fruktosa, laktosa) ke dalam 100 ml aquades. Masing-masing gula (glukosa, sukrosa, fruktosa, laktosa) ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml yang berbeda sesuai dengan jenis gula dan masing-masing erlenmeyer ditambahkan 100 ml aquades,

sehingga diperoleh masing-masing stok jenis gula sebanyak 100 ml. Kemudian *carbohidrat solution* disterilisasi dengan *autoklaf*.

3.4.3.2 Pembuatan Media *Andrede's Indicator*.

Pembuatan media indikator *Andrede's* dilakukan dengan mencampur 0,1 gram Acid Fuchsin dan 16 ml larutan NaOH (1 N) ke dalam 100 ml aquades steril. Semua bahan diaduk secara merata dan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf. Media indikator *Andrede's* digunakan untuk memantau perubahan pH, yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari merah ke merah muda pada media fermentasi. (Girly& Kindo, 2015).

3.4.3.3 Media Uji Fermentasi Karbohidrat.

Media fermentasi karbohidrat dibuat dengan acuan buku Atlas tahun 2005 dan dimodifikasi dengan penelitian Suryaningsih *et al.*, (2018). Komposisi pembuatan media fermentasi karbohidrat meliputi 10 gram peptone, 5 gram NaCl, 3 gram meat extract, 50 ml *carbohidrat solution* (glukosa, fruktosa, laktosa, dan sukrosa) dan 10 ml *Andrade's indicator* dengan keadaan pH 7 dalam 990 ml aquades. Kemudian seluruh bahan selain *Carbohydrate solution* dihomogenkan dalam erlenmeyer dan dimasak di atas hotplate sampai mendidih. Setelah mendidih media sebanyak 10 ml dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah diisi tabung durham. Tabung reaksi dikocok secara perlahan dan dipastikan media juga memasuki tabung durham. Tabung reaksi disterilisasi menggunakan autoklaf. Setelah media dingin ditambahkan 0,5 ml *Carbohydrate solution* pada setiap tabung reaksi.

Uji fermentasi karbohidrat menggunakan isolate khamir yang berumur 48 jam. Isolat khamir sebanyak 100µl dimasukkan masing-masing ke dalam tabung

reaksi yang berisi 10 ml media fermentasi karbohidrat. Isolat khamir diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang dan diamati perubahannya. Uji fermentasi akan menunjukkan hasil yang positif apabila warna merah pada media fermentasi berubah menjadi warna kuning dan disertai adanya gelembung pada tabung durham. Uji dilakukan dengan 2 kali ulangan (duplo) (Suryaningsih *et al.*, 2018).

3.4.4 Glucose Yeast Peptone Medium (GYP) Konsentrasi Glukosa 50%

Media yang digunakan pada uji toleransi glukosa yaitu YPGB dengan konsentrasi 50%. Pembuatan media YPGB 50% menggunakan acuan Ali dan Mohammed (2014) untuk pembuatan YPGB 50% diencerkan 500 glukosa, 5 gram peptone, dan 5 gram yeast extract dalam 1000 ml aquadest. Media tersebut dipanaskan hingga mendidih menggunakan hotplate dengan kecepatan 200 rpm. Kemudian media disterilisasi menggunakan autoklaf sterilisasi dengan suhu 121⁰C selama 15 menit.

Media yang telah steril didiamkan hingga suhu mencapai 50⁰C dan dapat ditambahkan *Sodium DL Lactate* sebagai Antibakteri sebanyak 120 µl. Uji toleransi glukosa menggunakan acuan Suryaningsih *et al.*, (2018) dilakukan dengan cara menginokulasikan khamir yang tumbuh pada media YMEA sebanyak 1 ose kedalam tabung reaksi berisi 10 ml media YPGB dengan konsentrasi 50%. Kemudian diinkubasi pada suhu pada suhu 30⁰C selama 2 hari dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali.

Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai kerapatan khamir yang dihitung menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600nm pada 24 jam dan 48 jam serta media pertumbuhan sebagai blanko (Nasir *et al.*, 2017). Data yang didapatkan yaitu berupa nilai *optical density*. Semakin besar nilai *optical*

density maka semakin keruh suspensi dan semakin banyak biakan yang tumbuh pada suspensi tersebut. Ini artinya nilai OD berbanding lurus dengan laju pertumbuhan biakan. Tujuan dilakukannya perhitungan nilai *optical density* pada 24 jam yaitu untuk mengetahui perbandingan nilai kerapatan khamir pada mas inkubasi yang berbeda setelah ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi kadar glukosa yang berbeda.

3.5 Isolasi Khamir

Isolasi khamir dari buah sirsak, semangka, dan pepaya dimulai dengan mencuci ketiga buah tersebut secara bersih. Proses isolasi dilakukan dalam kondisi aseptis di dalam aliran laminar (*Laminar Air Flow/LAF*). Buah-buah sirsak, semangka, dan pepaya dipotong menjadi ukuran 3x3 cm dan dipisahkan dari kulitnya. Potongan buah direndam dalam tabung eppendorf 50 ml yang diisi penuh dengan sampel buah dan media cair YMB, kemudian diinkubasi selama kurang lebih 3 hari pada suhu ruangan atau sampai terbentuk gelembung udara. Gelembung-gelembung tersebut menandakan terjadinya fermentasi dalam media (Kusmiyati *et al.*, 2023).

Khamir yang telah tumbuh di media YMB kemudian dilakukan pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades dilakukan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Rashid (2013) menjelaskan bahwa pengenceran dilakukan 10^{-3} dan kemudian ituangkan 200 ml ke dalam cawan petri berisi YMEA dengan teknik *spread plate* dan diinkubasi 48 jam.

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. Isolat 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.

3.7 Identifikasi Morfologi Khamir

3.7.1 Pengamatan Makroskopis

Buku Studi Taksonomi Khamir digunakan untuk mengidentifikasi khamir secara makroskopis yang akurat (Kurtzman dan Fell, 1998). Identifikasi menggunakan makroskopi dilakukan pada sampel yang telah dimurnikan berumur 24 hingga 72 jam. Ciri-ciri yang diamati secara makroskopis didasarkan pada ciri-ciri atau morfologi koloni yang tumbuh pada media sedimen. Hal ini mencakup tekstur, warna, margin, elevasi, dan morfologi koloni (Suryaningsih *et al.*, 2018).

3.7.2 Pengamatan Mikroskopis

Observasi mikroskop adalah jenis observasi yang menggunakan mikroskop dan benda yang direduksi zat warna dengan menggunakan zat warna metilen biru untuk melihat bentuk, ukuran, dan tunas sampel (Suryaningsih *et al.*, 2018). Isolat

hasil purifikasi yang berumur 24-72 jam dibuat secara khamir. Setelah benda disterilkan, letakkan jarum ose di atas api bunsen. Setelah disterilkan, jarum ose digunakan untuk membuat isolat khamir dan kemudian dikukus.

3.8 Identifikasi Biokimia

3.8.1 Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat adalah metode yang menggunakan berbagai jenis gula seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, dan laktosa untuk mengevaluasi kemampuan isolat khamir dalam mengubah gula-gula ini menjadi produk fermentasi. Uji ini merupakan langkah awal penting dalam menilai isolat yang layak untuk identifikasi lebih lanjut dan aplikasi dalam fermentasi karbohidrat. Isolat khamir sebanyak 100 µl yang berumur 48 jam dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml larutan fermentasi karbohidrat. Tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang dengan mengamati perubahan warna media setiap harinya. Indikator Andrede's pada media fermentasi karbohidrat digunakan untuk memantau perubahan pH. Perubahan warna dari merah menjadi kuning menunjukkan hasil positif, menandakan bahwa khamir telah menghasilkan asam yang mengubah pH media menjadi asam. Tetapnya warna merah dengan adanya gelembung menunjukkan terjadi fermentasi karbohidrat menjadi etanol. Penggunaan tabung Durham untuk menangkap gelembung udara digunakan untuk memeriksa hasil dari proses fermentasi. Observasi pada uji fermentasi karbohidrat dilakukan selama 7 hari (Harley & Prescott, 2002).

3.9 Identifikasi Molekuler

3.9.1 Isolasi DNA Khamir

Isolasi DNA dari khamir dilakukan menggunakan prosedur menggunakan Kit Tiangen dengan langkah-langkah berikut: Fungi atau khamir sebanyak 50 mg diambil dari media dan ditempatkan dalam tabung 1,5 ml. Ditambahkan 400 μ l Buffer LP1 dan 6 μ l RNase ke dalam tabung, kemudian dicampur menggunakan vortex dan diinkubasi selama 10 menit. Selanjutnya, ditambahkan 130 μ l Buffer LP2 dan diaduk kembali dengan vortex. Campuran kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit, supernatan dipipetkan ke dalam tabung baru 1,5 ml.

Untuk tahap selanjutnya, ditambahkan 750 μ l Buffer LP3 yang sudah diberi ethanol ke dalam supernatan, diaduk menggunakan vortex. Semua larutan dipindahkan ke dalam kolom spin CB3, lalu disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik. *Flow-through* dibuang, dan kolom spin CB3 dipasang kembali pada tabung penampung. Buffer PW (yang sudah diberi ethanol) sebanyak 600 μ l ditambahkan ke dalam kolom spin CB3, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik. *Flow-through* dibuang lagi, dan kolom spin CB3 dipasang kembali pada tabung penampung.

Jika terdapat warna gelap, hijau, atau kuning pada membran kolom spin, tambahkan 500 μ l etanol P.A., lalu disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik dan flow-through dibuang. Langkah ini diulangi jika perlu. Selanjutnya, kolom spin CB3 disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, kemudian inkubasi kolom spin CB3 dengan tutup terbuka untuk mengeringkan membran. Kolom spin CB3 dipasang pada tabung baru 1,5 ml,

ditambahkan buffer TE sebanyak 50-100 μ l, dan diinkubasi selama 2-3 menit. Kemudian, disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit. Kolom spin CB3 dibuang, dan DNA yang telah dipurifikasi siap untuk langkah selanjutnya. DNA dapat disimpan pada -20°C untuk beberapa hari atau pada -70°C untuk penyimpanan jangka panjang.

3.9.2 Uji Kualitas DNA

Hasil isolasi kemudian diamplifikasi menggunakan mesin Biorad PCR dalam 30 μ l larutan yang meliputi 10 pmol masing-masing primer *forward* dan *reverse*, 2,5 μ l PCR Master Mix Nexpro, 2,5 μ l sampel DNA Template (100 ng/ μ l), 7,5 μ l air, dan 2,5 μ l primer. ITS1 5' 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' dan ITS 4 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3' merupakan primer yang digunakan.

3.9.3 PCR

Menurut Nurhayati *et al.* (2022), deteksi hasil isolasi menggunakan elektroforesis horizontal atau disebut juga elektroforesis agarosa. Selama 60 menit, elektroforesis gel agarosa (1%) digunakan untuk memeriksa hasil PCR. Setelah itu digunakan alat *Gel Documentation System* (BIO-RAD) untuk melihat hasil elektroforesis dan program Gel Doc XR untuk mendokumentasikannya.

3.9.4 Sequencing dan Identifikasi Molekuler

Hasil amplifikasi yang diperoleh kemudian dilakukan proses *sequencing* di 1stBASE Laboratories Sdn Bhd, Malaysia. Hasil *sequencing* DNA disusun dengan program Bioedit kemudian dilakukan analisis dengan menggunakan BLAST-N pada NCBI dan ditentukan outgroup dari *family* yang berbeda. Setelah itu dilakukan konstruksi pohon filogenetik menggunakan software MEGA-XI. Data yang disejajarkan sebelumnya dibuka dengan aplikasi MEGA-XI dan dikonfirmasi

pembuatan pohon filogenetik dengan menggunakan metode statistic Maximum Likelihood. Digunakan tes filogeni berupa metode bootstrap (jumlah replikasi sebanyak 1000 kali) dan model substitusi Neighbor joining. Tingkat kemiripan yang paling tinggi ditunjukkan dengan jarak terdekat dari sekuen sampel terhadap sekuen pembanding (Haubracken & Samson., 2017)

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1 Jenis Khamir Yang Terdapat Dalam Buah Sirsak, Buah Semangka, Dan Buah Pepaya Berdasarkan Karakteristik Morfologi

4.1.1 Jenis Khamir Yang Terdapat Dalam Buah Sirsak (*Annona muricata*), Buah semangka (*Citrullus lanatus*), dan Buah Pepaya (*Carica papaya*)

Penelitian ini menghasilkan beberapa isolat khamir yang berhasil diisolasi dari buah sirsak (*Annona muricata*), buah semangka (*Citrullus lanatus*), dan buah pepaya (*Carica papaya*). Terdapat sembilan jenis khamir yang berhasil diisolasi. Isolat khamir dari buah sirsak, buah semangka, dan buah pepaya diberikan kode sebagai berikut, yaitu: YS, YK, dan YP.

Identifikasi karakter morfologi baik secara makroskopis dan mikroskopis mengacu pada buku *The Yeast: Taxonomy Study* (Kurtzman & Fell, 1998). Pengamatan secara makroskopis bentuk, tekstur, warna, elevasi, dan tepi pada koloni khamir, sedangkan mikroskopis berdasarkan bentuk sel, ukuran sel, dan reproduksi aseksual. Hasil identifikasi morfologi secara makroskopis pada tabel 4.1 dan mikroskopis pada tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Morfologi makroskopis koloni khamir

No	Kode Isolat	Bentuk	Tekstur	Warna	Elevasi	Tepi
1	YS-1	Bulat	<i>Smooth</i>	Putih	Datar	Rata
2	YS-2	Bulat	<i>Smooth</i>	Putih	Datar	Tidak rata
3	YS-3	Bulat	<i>Smooth</i>	Putih	Datar	Tidak rata
4	YK-1	Oval	<i>Butyrous</i>	Putih	Datar	Rata
5	YK-2	Bulat	<i>Butyrous</i>	Putih	Datar	Rata
6	YK-3	Bulat	<i>Butyrous</i>	Putih	Datar	Rata
7	YP-1	Bulat	<i>Smooth</i>	Putih	Datar	Rata
8	YP-2	Bulat	<i>Smooth</i>	Krem	Datar	Rata
9	YP-3	Oval	<i>Butyrous</i>	Putih	Timbul	Tidak Rata

Tabel 4.2 Morfologi mikroskopis sel khamir

No	Kode Isolat	Bentuk Sel	Reproduksi	Ukuran
1	YS-1	Oval	Pertunasan Multilateral	17 x 23 μm
2	YS-2	Oval	Pertunasan Monopolar	14 x 24 μm
3	YS-3	Oval	Pertunasan Monopolar	17 x 25 μm
4	YK-1	Bulat	Pertunasan Monopolar	10 x 20 μm
5	YK-2	Bulat	Pertunasan Multilateral	15 x 16 μm
6	YK-3	Bulat	Pertunasan Multilateral	6,71 μm
7	YP-1	Oval	Pertunasan Monopolar	18 x 18 μm
8	YP-2	Oval	Pertunasan Multilateral	10 x 13 μm
9	YP-3	Oval	Pertunasan Monopolar	17 x 25 μm

Keterangan:

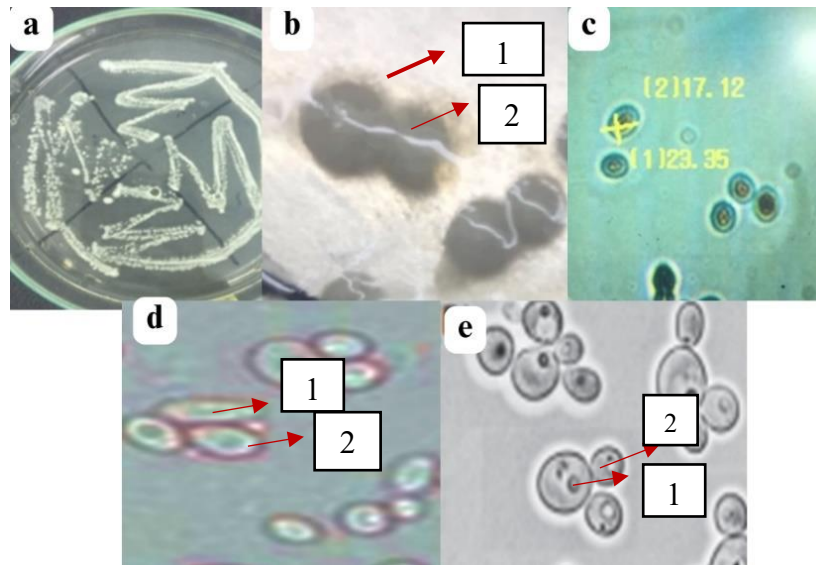
YS= Isolat Khamir Dari Sirsak

YK= Isolat Khamir Dari Semangka

YP= Isolat Khamir Dari Pepaya

4.1.2 Isolasi Khamir YS-1

Khamir YS-1 menunjukkan ciri-ciri morfologis berikut berdasarkan pengamatan makroskopis seperti yang terlihat pada Gambar 4.1 a dan b: bentuk koloni bulat, warna koloni putih, tekstur koloni halus, elevasi timbul, dan pinggiran koloni yang rata. Ciri-ciri fisik ini menunjukkan bahwa khamir YS-1 kemungkinan berasal dari filum *Ascomycota*. Filum *Ascomycota* umumnya tidak memiliki pigmen warna yang mencolok, sehingga koloninya berwarna putih atau krim, sesuai dengan deskripsi warna koloni putih pada YS-1 (Webster dan Weber 2007).



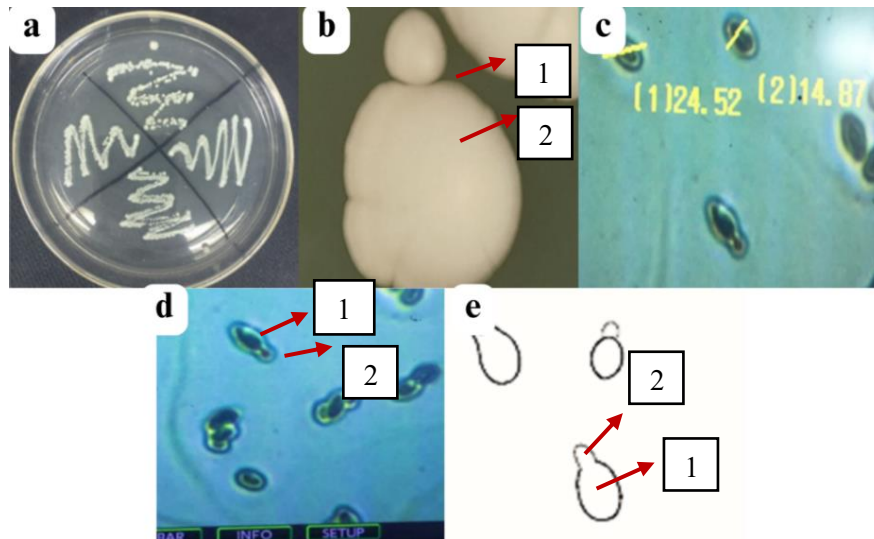
Gambar 4.1 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YS-1 (a) bentuk koloni isolat YS-1 pada media YMEA, (b) koloni khamir YS-1, 1)tepi koloni, 2)elevasi, (c)ukuran khamir, (c)sel YS-1 pada perbesaran 40x10, 1)sel Induk; 2)sel Anak. d)multilateral *budding* 1)sel induk; 2)sel anak. (Kurtzman and Fell, 2011)

Isolat khamir YS-1 menunjukkan sel berbentuk oval dengan ukuran berkisar dari 17 μm hingga 23 μm . Khamir ini bereproduksi secara aseksual melalui tunas multilateral. Berdasarkan karakteristik tunasannya, disimpulkan bahwa khamir ini termasuk dalam kelas *Hemiascomycota*. Hal ini sesuai dengan pengamatan Periadnadi (2018) bahwa tunas multilateral adalah ciri khas dari kelas *Hemiascomycota*. Selain itu, sel vegetatifnya berbentuk seperti lemon. Menurut Wyk *et al.* (2024), sel khamir dalam kelas *Hemiascomycota* umumnya menunjukkan variasi bentuk yang terbatas, termasuk berbentuk seperti bulat, lemon, oval, memanjang, atau membentuk *pseudohifa*.

4.1.2 Isolasi Khamir YS-2

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni isolat YS-2 seperti yang terlihat pada Gambar 4.2 a dan b, koloninya memiliki bentuk bulat dengan tekstur yang

mirip mentega (*butyrous*). Warna koloninya adalah krem dengan permukaan yang halus, serta elevasi yang datar. Pinggiran koloninya tidak rata.

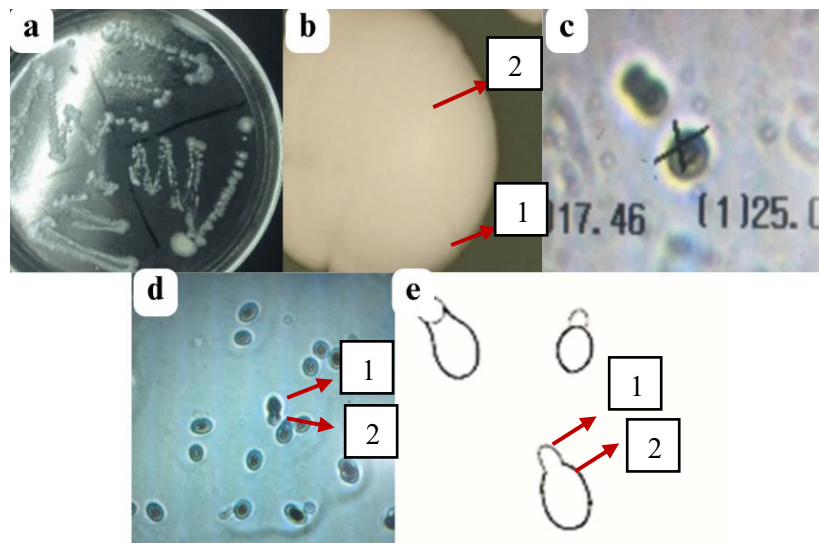


Gambar 4.2 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YS-2 (a) bentuk koloni isolat YS-2 pada media YMEA, (b) koloni isolat YS-2, 1)tepi koloni; 2)elevasi, (c)ukuran khamir, (d)sel isolat YS-2 pada mikroskop perbesaran 40x10,1) sel induk ;2)sel anak, e)monopolar *budding*, 1) sel induk ; 2) sel anak (Kurtzman and Fell, 1998)

Isolasi khamir YS-2 berbentuk bulat seperti lemon dengan ukuran khamir yaitu $14\ \mu\text{m} \times 24\ \mu\text{m}$, khamir ini bereproduksi aseksual dengan cara *budding*. Tipe *budding* yang teridentifikasi pada isolat ini adalah pertunasan monopolar. Menurut Kurtzman and Fell (1998) monopolar *budding* adalah pertunasan (*Budding*) yang hanya ada pada satu kutub sel induk. Dari ciri buddingnya diduga khamir ini dari kelas *Hemiascomycota*. Selain itu sel vegetatifnya berbentuk bulat seperti lemon. Wyk *et al* (2024) juga menjelaskan bahwa bentuk sel khamir kelas *Hemiascomycota* cenderung tidak beragam. Sel bisa berbentuk lemon, bulat telur, bulat telur panjang, memanjang, atau *pseudohifa*

4.1.3 Isolasi Khamir YS-3

Berdasarkan kajian morfologi koloni, isolat YS-3 (gambar 4.3a) mempunyai bentuk bulat dan tekstur seperti mentega (*butyrous*). Koloni berwarna krem, dengan ketinggian tidak beraturan dan bentuk permukaan datar. Tepian YS-3 tidak rata.

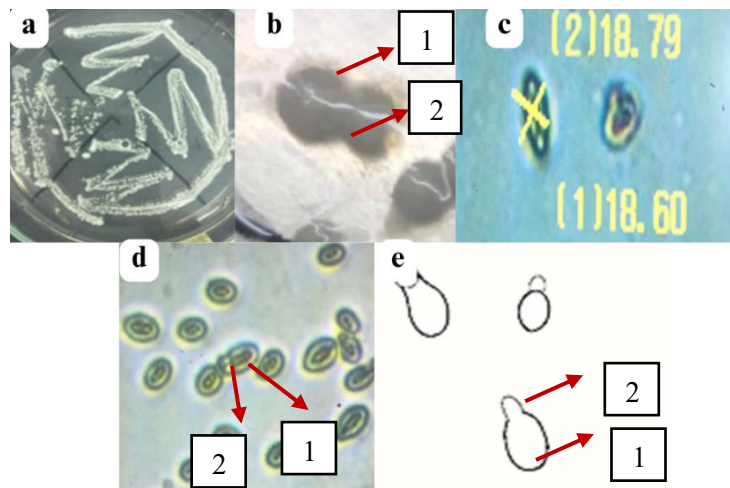


Gambar 4.3 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YS-3 (a) bentuk koloni isolat YS-3 pada media YMEA, (b) koloni YS-3, 1)tepi koloni, 2)elevasi (c)ukuran khamir, (d)sel khamir YS-3 pada mikroskop perbesaran 40x10, 1)sel Induk; 2) sel anak. (e) monopolar *budding*, 1) sel induk; 2) sel anak (Kurtzman and Fell, 1998)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.3c) dari isolat YS-3 adalah memiliki bentuk sel oval dengan ukuran sel khamir 17 μm x 25 μm . Isolat YS-3 melakukan reproduksi aseksual secara monopolar *budding* (gambar 4.3d). Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YS-3 ini termasuk dalam sub kelas *Hemiascomycota* dalam filum *Ascomycota*, Menurut Kurtzman and Fell (1998) monopolar *budding* adalah pertunasan (*Budding*) yang hanya ada pada satu kutub sel induk.

4.1.4 Isolasi Khamir YP-1

Berdasarkan karakteristik makroskopis, temuan morfologi isolasi khamir YP-1 ditunjukkan pada Gambar 4.3. Ciri-ciri tersebut antara lain bentuk koloni bulat, tekstur koloni halus, warna koloni putih, elevasi datar, dan tepi koloni rata. Ciri-ciri fisik ini meningkatkan kemungkinan bahwa khamir YP-1 merupakan anggota filum *Ascomycota*. Berdasarkan temuan Webster dan Weber (2007), khamir yang termasuk dalam filum *Ascomycota* biasanya kekurangan pigmen warna, sehingga menghasilkan koloni khamir berwarna putih dan krem.



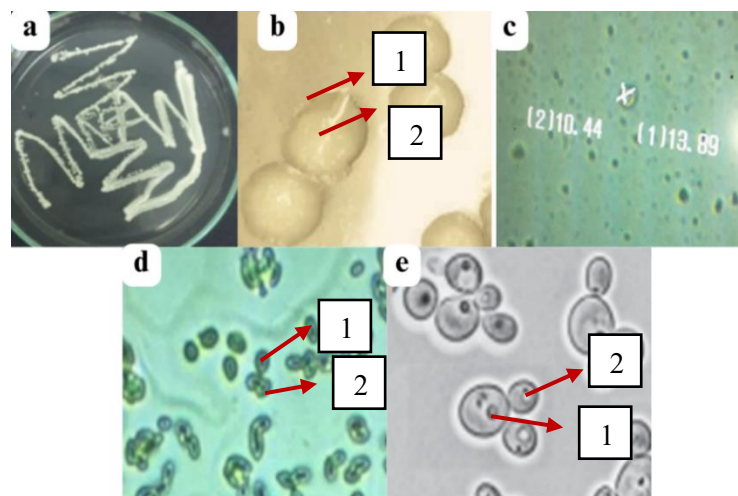
Gambar 4.4 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YP-1 (a) bentuk koloni khamir isolat YP-1 (b) koloni Khamir YP-1, 1)tepi koloni;2)elevasi (c) ukuran khamir (d)sel khamir YP-1 pada perbesaran 40x10, 1) sel induk;2) sel anak. e) monopolar *budding*, 1)sel induk;2) sel anak (Kurtzman and Fell, 2011)

Morfologi sel dari isolat YP-1 (gambar 4.4.c) adalah memiliki bentuk sel oval dengan ukuran 18 x 18 μm . Isolat YP-1 ini melakukan reproduksi secara vegetatif dengan cara pertunasan (*budding cell*) (gambar 4.4.d). Menurut Kurtzman dan Fell (1998) filum *Ascomycota* memiliki tipe reproduksi vegetatif pertunasan

(gambar 4.4.d). Tipe sel tunas (gambar 4.4.e) dari spesies ini adalah pertunasan monopolar (monopolar *budding*). Menurut Kurtzman dan Fell (1998) pertunasan yang terbatas pada satu kutub sel induk disebut monopolar. Berdasarkan kemiripan bentuk diduga isolat YP-1 ini termasuk dalam filum *Ascomycota*.

4.1.5 Isolat Khamir YP-2

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni dari isolat YP-2 seperti yang terlihat pada gambar 4.5, koloni tersebut berbentuk bulat dengan tekstur yang seperti mentega (*butyrous*). Koloninya berwarna krem, memiliki permukaan yang halus, dan elevasi yang datar. Tepi koloni dari isolat YP-2 adalah rata. Berdasarkan ciri-ciri morfologi ini, isolat YP-2 filum *Ascomycota*.



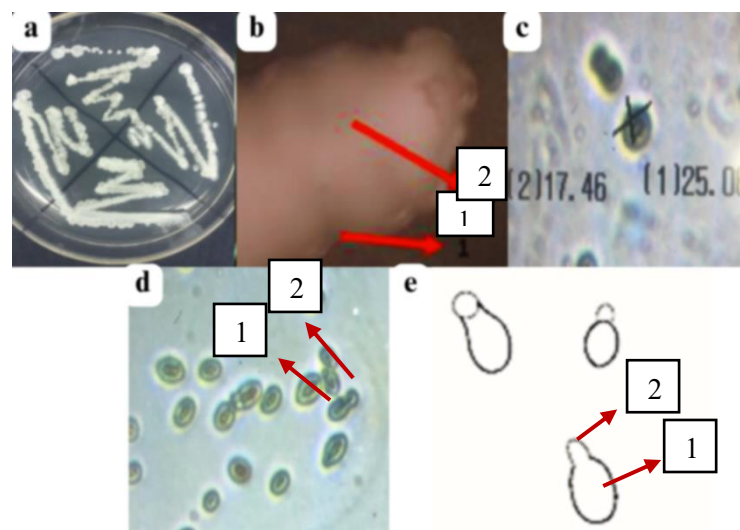
Gambar 4.5 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YP-2 (a) bentuk koloni khamir isolat YP-1 (b) koloni Khamir YP-1, 1)tepi koloni;2)elevasi (c) ukuran khamir (d)sel khamir YP-1 pada perbesaran 40x10, 1) sel induk;2) sel anak. e) multilateral budding, 1)sel induk;2) sel anak (Kurtzman and Fell, 2011)

Morfologi sel dari isolat YP-2 (gambar 4.5) menunjukkan bahwa sel tersebut berbentuk oval dengan ukuran sekitar 10 x 13 μm . Isolat YP-2 memiliki tipe pertunasan multilateral. Menurut Widastutik (2014), khamir yang termasuk

dalam kelas *Hemiascomycota* memiliki sel berbentuk oval, elips, atau silindris, mungkin membentuk pseudohifa tetapi tidak dapat membentuk hifa sejati. Selain itu, umumnya kelas *Hemiascomycota* melakukan reproduksi seksual dengan tipe pertunasan multilateral. Menurut Kurtzman dan Fell (1998), tunas multilateral adalah tunas yang dapat tumbuh di beberapa permukaan kutub sel induk.

4.1.6 Isolasi Khamir YP-3

Hasil pengamatan morfologi isolasi khamir YP-3 berdasarkan karakter makroskopis disajikan pada gambar 4.6 a dan b, yaitu sebagai berikut: bentuk koloni bulat, teksturnya *butyrous*, memiliki warna putih, memiliki elevasi timbul dan tepi yang tidak rata. Isolat khamir YP-3 diduga khamir berasal dari filum *Ascomycota* (gambar 4.6)

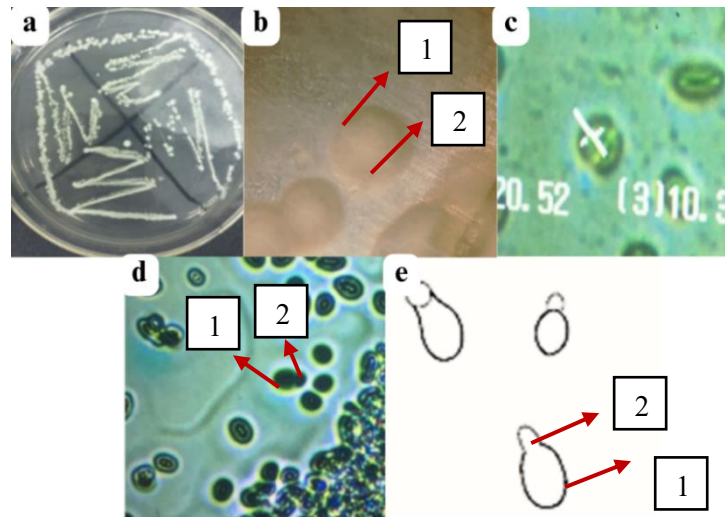


Gambar 4.6 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YP-3 (a) morfologi koloni khamir isolat YP-3. (b) koloni khamir YP-3, 1)tepi koloni ; 2)elevasi, (c) ukuran khamir, (d)sel YP-3 perbesaran 40x10, 1)sel induk;2)sel anak, (e)monopolar *budding* , 1)sel Induk , 2)sel anak (Kurtzman and Fell, 1998)

Pengamatan mikroskopik dengan mengamati preparat isolat khamir dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x10 didapatkan sel khamir yang memiliki ciri berbentuk oval bereproduksi secara aseksual dengan tipe pertunasan monopolar *budding* dan memiliki ukuran sel 25 x 17 μm . Berdasarkan karakteristik tersebut maka diduga isolat YP-3 ini merupakan kelas *Hemiascomycota*. Ashila dan Hidayatul (2014) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa kelas *Hemiascomycota* berproduksi aseksual dengan cara membentuk tunas. Tipe pertunasaan yang dimiliki kelas ini yaitu monopolar *budding*.

4.1.5 Isolasi Khamir YK-1

Hasil pengamatan bentuk morfologi sel dari isolat YK-1 (gambar 4.7) menunjukkan bahwa koloni khamirnya tidak beraturan dengan tepi yang rata (*entire*), tekstur koloninya mirip mentega (*butyrous*), dan berwarna putih. Berdasarkan ciri-ciri ini, dugaan bahwa khamir dari isolat YK-1 termasuk dalam filum *Ascomycota* karena koloninya berbentuk bulat (*globose*), berwarna putih hingga krem cerah, dan elevasinya datar (Webster dan Weber 2007).

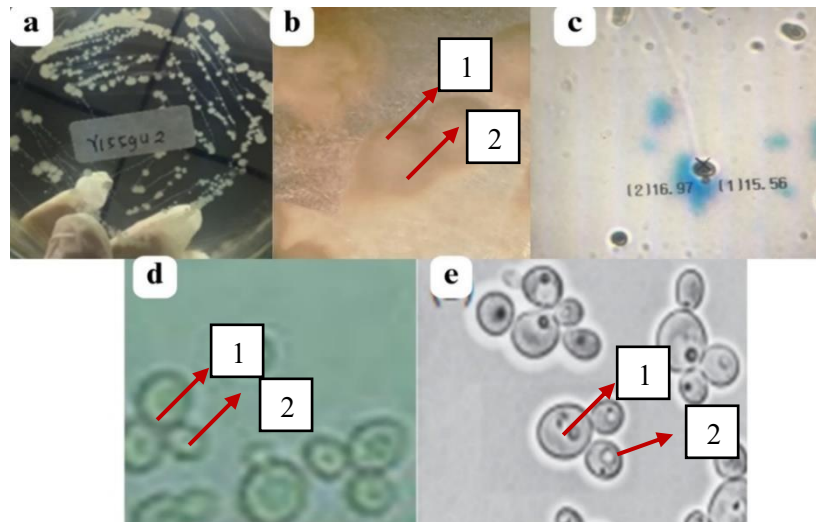


Gambar 4.7 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YK-1 (a) bentuk koloni khamir isolat YK-1 (b) koloni khamir YK-1, 1)tepi koloni;2)elevasi (c) ukuran khamir (d)sel khamir YK-1 pada perbesaran 40x10, 1) sel induk;2) sel anak. e) monopolar budding, 1)sel induk;2) sel anak (Kurtzman and Fell, 1998)

Morfologi mikroskopis (gambar 4.7 c) dari isolat YK-1 adalah memiliki bentuk sel bulat dengan ukuran sel khamir $10 \times 20 \mu\text{m}$. Isolat YK-1 melakukan reproduksi aseksual secara *monopolar budding* (gambar 4.7 d). Berdasarkan karakteristik tersebut diduga isolat YK-1 ini termasuk dalam kelas *Hemiascomycota* dalam filum *Ascomycota*. Menurut Kurtzman and Fell (1998) *monopolar budding* adalah pertunasan (*budding*) yang hanya ada pada satu kutub sel induk.

4.1.6 Isolasi Khamir YK-2

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni dari isolat YK-2 seperti yang terlihat pada gambar 4.8.a, koloninya berbentuk bulat dengan tekstur yang mirip mentega (*butyrous*). Koloninya berwarna krem dengan permukaan yang halus, serta elevasi yang datar. Tepi koloninya rata.



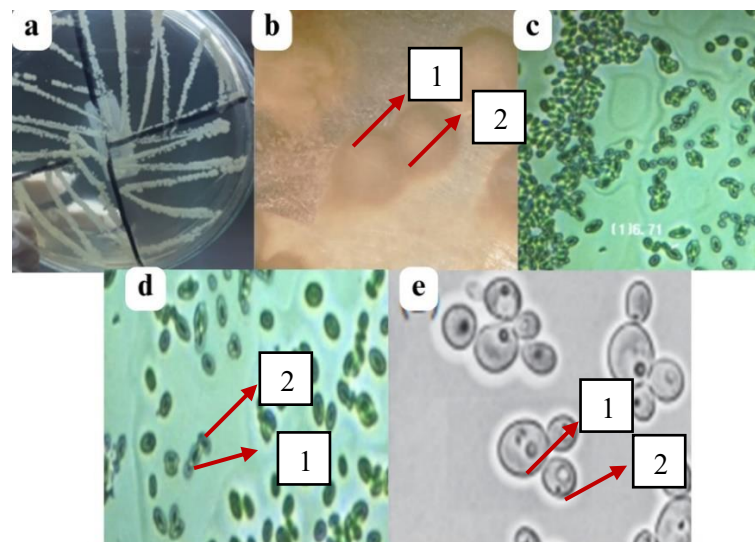
Gambar 4.8 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YK-2 (a) bentuk koloni khamir isolat YK-2 (b) koloni Khamir YK-2, 1)tepi koloni;2)elevasi (c) ukuran khamir (d)sel khamir YK-2 pada perbesaran 40x10, 1) sel induk;2) sel anak. e) multilateral *budding*, 1)sel induk;2) sel anak (Kurtzman and Fell, 2011)

Morfologi sel dari isolat YK-2 menunjukkan bahwa sel tersebut berbentuk bulat dengan ukuran antara 15 x16 μm . Isolat YK-2 ini melakukan reproduksi vegetatif melalui pertunasan (*budding cell*). Menurut Kurtzman dan Fell (1998), filum *Ascomycota* secara umum memiliki reproduksi vegetatif yang melibatkan pertunasan. Tipe pertunasan dari spesies ini diketahui sebagai pertunasan multilateral (*multilateral budding*). Menurut Kurtzman dan Fell (1998), pertunasan multilateral adalah tunas yang dapat tumbuh di beberapa permukaan kutub sel induk.

4.1.7 Isolat Khamir YK-3

Pengamatan makroskopis isolat khamir YK-3 (gambar 4.9) menunjukkan bahwa koloni khamir tidak beraturan berwarna putih, teksturnya mirip mentega (*butyrous*), dan umumnya tepinya rata. Filum *Ascomycota* dianggap sebagai rumah bagi isolat khamir YK-3 karena adanya koloni khamir berwarna putih susu. Webster

dan Weber (2007) menyatakan bahwa koloni khamir yang berasal dari filum *Ascomycota* tidak mengalami pigmentasi warna sehingga berkembang warna putih hingga krem.



Gambar 4.9 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis YK-3 (a) bentuk koloni khamir isolat YK-3 (b) koloni Khamir YK-3, 1)tepi koloni;2)elevasi (c) ukuran khamir (d)sel khamir YK-3 pada perbesaran 40x10, 1) sel induk;2) sel anak. e) multilateral *budding*, 1)sel induk;2) sel anak (Kurtzman and Fell, 2011)

Sel khamir mempunyai bentuk bulat dan berukuran sekitar 6,71 μm , hal ini terlihat dari hasil pengukuran yang dilakukan pada perbesaran 40x10. Isolat YK-3 bereproduksi secara aseksual dengan cara multilateral *budding*. Tunas multilateral, atau tunas yang dapat berkembang pada banyak permukaan kutub sel induk (Kurtzman dan Fell, 1998)

4.2 Hasil Uji Biokimia Pada Khamir

4.2.1 Kemampuan Khamir Dalam Fermentasi Karbohidrat

Dalam penelitian ini, dilakukan uji fermentasi karbohidrat menggunakan sembilan isolat khamir yang diisolasi dari daging buah sirsak, semangka, dan

pepaya. Uji fermentasi dilakukan dengan menggunakan 4 sumber karbon yang berbeda, yaitu glukosa, fruktosa, laktosa, dan sukrosa. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kemampuan khamir endofit yang diisolasi dalam memfermentasi berbagai jenis karbohidrat yang berasal dari daging buah tersebut. Hasil uji fermentasi karbohidrat dari isolat-isolat khamir tersebut disajikan dalam Tabel 4.3 berikut ini:

Tabel 4 3 Kemampuan Khamir dalam Fermentasi Karbohidrat

No	Kode Isolat	Uji Fermentasi Karbohidrat							
		Glukosa		Fruktosa		Sukrosa		Laktosa	
		Gas	Warna	Gas	Warna	Ga s	Warna	Gas	Warna
1	YS-1	+	Merah muda	+	Merah muda	+	Merah muda	+	Merah muda
2	YS-2	+	Merah muda	+	Merah muda	+	Merah muda	+	Merah muda
3	YS-3	+	Merah muda	+	Merah muda	+	Merah muda	+	Merah muda
4	YK-1	+	Merah muda	++	Kuning	-	Kuning	-	Kuning
5	YK-2	+	Merah muda	+	Kuning	+	Merah muda	++	Kuning
6	YK-3	+	Merah muda	+	Merah muda	-	Merah muda	+	Kuning
7	YP-1	+	Merah muda	++	Merah muda	+	Merah muda	-	Kuning
8	YP-2	+	Merah muda	+	Merah muda	+	Merah muda	++	Kuning
9	YP-3	+	Merah muda	+	Kuning	+	Merah muda	+	Merah muda

Keterangan: + = terdapat gelembung ,
 ++ = volume gelembung $\frac{1}{2}$ dari volume tabung (Kurtzman and Fell, 1998)
 - = tidak terdapat gelembung

Berdasarkan tabel, isolat-isolat khamir yang mampu mengfermentasi keempat jenis gula adalah YS-1, YS-2, YS-3, YK-1, YK-3, YP-2, dan YP-3. Hal ini 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 pada khamir yang dapat memfermentasi karbohidrat dengan hasil metabolisme alkohol adalah merah. Menurut Harley & Prescott (2002) suatu isolat mikroba yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung karbohidrat, mikroba tersebut dapat menghasilkan alkohol serta CO₂ 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).

Isolat YS-1, YS-2, dan YS-3 menunjukkan warna merah muda pada media dengan gelembung gas di tabung Durham, menandakan fermentasi karbohidrat menjadi etanol (Harley & Prescott, 2002). Di sisi lain, isolat YK-2 dan YK-3 menunjukkan perubahan warna menjadi kuning dengan gelembung gas setelah 7 hari inkubasi dengan fruktosa dan laktosa. Hal ini mengindikasikan produksi asam dan karbon dioksida yang menurunkan pH medium (Anggraeni *et al.*, 2019). Menurut Bhowmik (2011), beberapa karbohidrat seperti glukosa dan sukrosa, saat difermentasi oleh khamir, menghasilkan asam sehingga indikator fenol merah berubah dari merah menjadi kuning.

Isolat YS-1 dan YP-1 tidak mampu mengfermentasi laktosa, sedangkan YK-1 dan YK-3 tidak dapat mengfermentasi sukrosa, yang ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung gas di tabung Durham. Kemunculan gelembung gas di tabung Durham setelah 7 hari inkubasi menunjukkan reaksi yang sangat positif; jika gelembung muncul setelah lebih dari 7 hari, itu menunjukkan reaksi yang positif lemah (Kurtzman and Fell, 1998)

4.4 Uji Toleransi Gula (Konsentrasi Gula 50%)

Uji biokimia juga dilakukan pada media *Yeast Glucose Peptone* (YGP) dengan kandungan glukosa 50%. Tujuannya adalah untuk mengetahui seberapa baik khamir dapat bertahan hidup dan tumbuh dalam kondisi tingkat gula yang tinggi. Laju pertumbuhan khamir selama 48 jam diukur menggunakan spektrofotometer pada absorbansi 600 nm. Menurut Akbar (2019), pertumbuhan sel khamir dikuantifikasi dengan mengukur kepadatan optik (OD) menggunakan *UV-Vis Spectrophotometer* pada panjang gelombang 600 nm.

Pengukuran pertumbuhan mikroba melalui kepadatan optik (OD) merupakan teknik fundamental yang banyak digunakan dalam mikrobiologi. Menggunakan spektroskopi UV-Vis memungkinkan pengukuran OD yang cepat dan rutin untuk memperkirakan kepadatan sel dalam kultur dan memantau dinamika pertumbuhan mereka. Panjang gelombang 600 nm dipilih karena sifat optiknya dalam media kultur mikroba, yang memfasilitasi minimalnya gangguan pada sel selama eksperimen (Fukuda, 2023).

Nilai *optical density* yang diperoleh dari sembilan isolat khamir yang berasal dari sirsak, semangka, dan pepaya kemudian diuji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Uji ini dilakukan untuk memastikan apakah data sampel mengikuti distribusi normal atau tidak.

Berdasarkan hasil uji normalitas, nilai *optical density* pada 24 jam dan 48 jam ditemukan tidak mengikuti distribusi normal, dengan nilai signifikansi kurang dari 0,05 (lampiran 3). Jazuli *et al.* (2019) menjelaskan bahwa jika nilai signifikansi kurang dari 0,05, maka data dianggap tidak mengikuti distribusi normal.

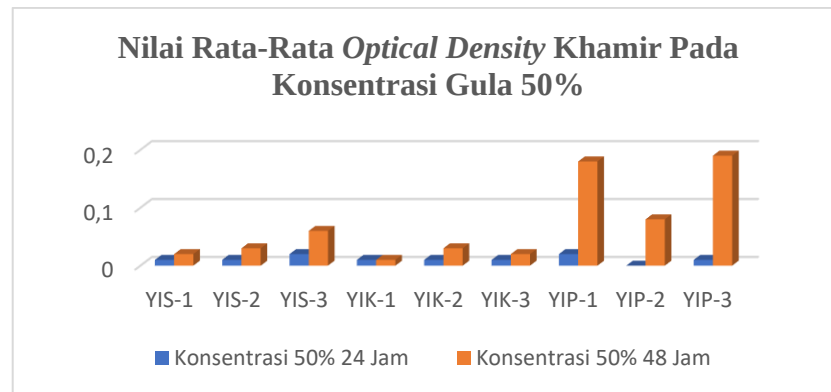
Selanjutnya, nilai-nilai *optical density* ini dilakukan uji hipotesis menggunakan uji Wilcoxon signed-rank non-parametrik.

Tabel 4.4 Uji Wilcoxon Signed-rank Non-parametrik.

	48-24 Jam
Z	-4.391 ^b
Asymp.Sig.(2-tailed)	.000

Uji Wilcoxon signed-rank digunakan untuk mengevaluasi perbedaan antara data berpasangan yang berskala ordinal atau interval tetapi tidak mengikuti asumsi distribusi normal (Filzah *et al.*, 2024). Filzah *et al.* (2024) menyatakan bahwa apabila nilai Asymp.Sig.(2-tailed) kurang dari 0,05 menunjukkan perbedaan signifikan dalam rata-rata, jika nilai Asymp.Sig.(2-tailed) lebih besar dari 0,05 menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dalam rata-rata.

Berdasarkan hasil pengujian dengan menggunakan Wilcoxon test, diketahui bahwa nilai Sig. = 0.00 < 0.05 , sehingga H_0 ditolak, dan H_1 diterima. Hal ini berarti bahwa pada perlakuan 24 jam tidak beda nyata terhadap toleransi glukosa konsentrasi 50%, sedangkan pada perlakuan 48 jam menunjukan beda nyata terhadap toleransi glukosa konsentrasi 50%. Nilai laju pertumbuhan khamir selama 48 jam juga disajikan dalam gambar diagram batang 4.10 berikut ini:



Gambar 4.10 Diagram Batang Kerapatan Sel Khamir Selama 48 Jam

Hasil kerapatan sel yang ditunjukkan dalam Gambar 4.10 menunjukkan bahwa antara 24 jam hingga 48 jam, isolat khamir YS-3, YP-1, YP-2, dan YP-3 menunjukkan peningkatan nilai *optical density*, sementara YS-1, YS-2, YK-1, YK-2, dan YK-3 mempertahankan nilai *optical density* yang stabil. Menurut Hardianto (2018), waktu inkubasi 24-48 jam pada semua media umumnya menghasilkan jumlah sel puncak karena fase pertumbuhan eksponensial dari isolat. Sel khamir membelah dengan cepat dan konsisten selama fase ini, dengan waktu penggandaan sekitar 90 menit, menggunakan *nutrient* dalam medium fermentasi dan mengalami berbagai proses fisiologis (Ivanesthi *et al.*, 2016). Fase pertumbuhan logaritmik berlangsung dari hari pertama hingga hari ketiga, ditandai dengan proliferasi sel yang cepat dan konsumsi nutrisi yang meningkat.

Seperti yang terlihat dari data dalam Gambar 4.10 bahwa isolat khamir YP-1, YP-2, YP-3, YS-1, YS-2, YS-3, YK-1, YK-2, dan YK-3 mampu bertahan hidup dalam konsentrasi glukosa tinggi hingga 50%. Gambar 4.10 menggambarkan bahwa isolat khamir YP-3 menunjukkan nilai kerapatan sel dengan rata-rata 0,19. Menurut Struyf (2017), khamir yang berkembang dengan baik dalam konsentrasi glukosa antara 20-50% diklasifikasikan sebagai khamir osmotoleran. Khamir

osmotoleran memiliki kemampuan untuk bertahan hidup di lingkungan yang memiliki tekanan osmotik tinggi (Anggraini *et al.*, 2019)

Nilai *optical density* yang tinggi pada isolat YP-3 dari buah pepaya (*Carica pepaya*) dibandingkan dengan isolat pada buah sirsak (*Annona muricata*) dan semangka (*Citrullus lanatus*) didukung dengan pernyataan Muliarta *et al.*, (2023) bahwa kandungan dalam pepaya yang berperan dalam fermentasi karbohidrat adalah gula alami, terutama glukosa dan fruktosa, yang dapat dimanfaatkan oleh khamir sebagai sumber energi. Selain itu, pepaya juga mengandung enzim seperti papain yang tidak ditemukan pada buah sirsak ataupun buah semangka, enzim ini dapat membantu dalam proses hidrolisis karbohidrat menjadi gula yang lebih sederhana, sehingga meningkatkan efisiensi fermentasi. Kadar gula organik, seperti fruktosa, glukosa, sukrosa pada pepaya mencapai 10-14% lebih tinggi daripada buah semangka dan sirsak (Sari *et al.*, 2020). Pada buah sirsak mengandung gula total sekitar 8-12% (Lestari *et al.*, 2019) dan pada buah semangka memiliki kandungan gula yang lebih rendah sekitar 6-10% (Wulandari *et al.*, 2021).

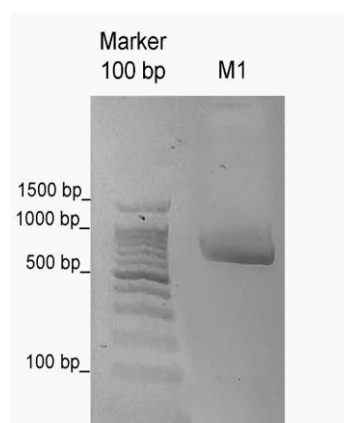
4.5 Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan pada isolat yang menunjukkan hasil yang paling baik dalam uji biokimia, khususnya dalam uji fermentasi karbohidrat dan uji toleransi terhadap konsentrasi glukosa 50%. Pada uji fermentasi karbohidrat, YP-3 menunjukkan kemampuan dalam memfermentasi keempat jenis gula: glukosa, fruktosa, laktosa, dan sukrosa. Aktivitas fermentasi khamir mengakibatkan perubahan warna dari merah menjadi kuning karena produksi asam yang mengubah warna media (Suryaningsih *et al.*, 2018). YP-3 juga menunjukkan pertumbuhan pada konsentrasi glukosa 50%, menandakan bahwa khamir ini *osmotholeran*,

dengan nilai *optical density* rata-rata yaitu 0,19 (Lampiran 2). Berdasarkan hal ini, YP-3 dipilih untuk identifikasi molekuler.

Berdasarkan karakteristik morfologis, YP-3 diidentifikasi sebagai anggota genus khamir *Kodamea* sp. Oleh karena itu, untuk menentukan spesies secara tepat, identifikasi molekuler melalui sekuensing DNA diperlukan. Asam deoksiribonukleat (DNA) merupakan senyawa kimia fundamental yang membawa informasi genetik dari satu generasi ke generasi berikutnya (Sabrina *et al.*, 2022).

Keberhasilan isolasi DNA dikonfirmasi melalui elektroforesis gel agarosa, di mana keberadaan pita-pita DNA di bawah sinar UV menunjukkan isolasi yang berhasil. Pita DNA yang teramati dalam gel muncul menunjukkan bahwa polisakarida yang dihasilkan oleh jamur juga terekstraksi selama isolasi DNA (Baharuddin *et al.*, 2022). Pada gambar 11, pita DNA dari isolat khamir YP-3 memiliki rentang ukuran antara 500-1000 bp. Rentang ukuran ini mengkonfirmasi bahwa isolat ini adalah khamir, karena fragmen DNA khamir umumnya memiliki rentang >300 bp, seperti yang disebutkan oleh Nurhayati *et al.* (2022)



Gambar 4.11 Hasil elektroforesis menggunakan gel *agarose*

Keterangan: M1 = Isolat YP-3

Urutan nukleotida dari isolat YP-3 telah diketahui dan kemudian dianalisis menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Analisis BLAST dilakukan untuk menentukan tingkat kesamaan atau homologi spesies isolat ini berdasarkan urutan asam nukleat gen 18S rDNA. Berdasarkan studi oleh Anggaraini *et al.* (2019), urutan ini dibandingkan dengan database GenBank untuk mencari sekuens yang terkait. Hasil dari analisis BLAST menunjukkan tingkat kemiripan atau kesamaan urutan dengan sekuens-sekuens yang ada, dan hasil detailnya disajikan dalam tabel 4.5 berikut ini.

Tabel 4.5 Identifikasi *sequence* gen ITS 4 menggunakan blast NCBI

No	Sampel	Identifikasi	%	Seq ID
L1	YP-3	<i>Kodamaea ohmeri</i>	99.73	MT443892.1

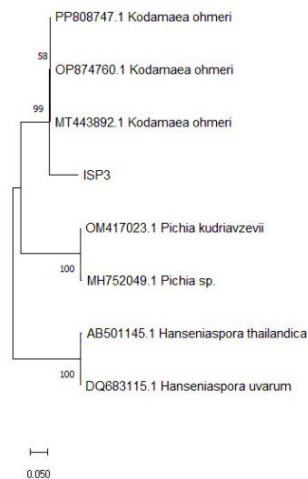
Berdasarkan data *Percent Identity* yang telah didapatkan dari hasil analisis penyejajaran BLAST dari NCBI, isolate YISP-3 memiliki tingkat kemiripan 99,73% dengan spesies *Kodamea ohmeri* atau dikenal juga *Pichia ohmeri*. Menurut Sogandi (2018) nilai max identity adalah nilai tertinggi dari presentase identitas atau kecocokan antar *sekuen query* dengan database yang disejajarkan. Nilai max identity diatas 97% menandakan bahwa isolat memiliki tingkat homologi yang tinggi dan merupakan spesies yang sama (Sogandi, 2018). Hasil blast menandakan bahwa ITS dapat mengidentifikasi *similarities* suatu spesies dengan spesies yang lain, hal tersebut sesuai dengan pendapat Perwitasari *et al.*, (2020). Selain melihat besaran *percent identity*, perlu untuk dilakukannya pengecekan nilai dugaan (E-value). Nilai dugaan yang bagus bernilai nol (0) atau dalam tabel BLAST bernilai

0.0, nilai dugaan bernilai nol menunjukkan persejajaran sekuen yang sangat signifikan.

Hasil BLAST *sequence* kemudian dilakukan rekonstruksi pohon filogenetik (gambar 4.12). Menurut Nurhayati *et al.*, (2022) tujuan dari rekonstruksi pohon filogenetik yaitu untuk mengkonstruksi dengan tepat hubungan antar organisme dan mengestimasi perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya. Sebelum dilakukan rekonstruksi filogenetik maka dilakukan persejajaran *alligment* menggunakan software mega 11.0. Rekonstruksi pohon filogenetik ini menggunakan metode algoritma *Neighbour Joining* (NJ) dengan 1000 Bootstrap.

Menurut Devi *et al.*, (2021) rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *neighbor joining tree sekuen* yang digabungkan akan memberikan estimasi terbaik dari panjang cabang yang paling dekat merefleksikan jarak nyata antar sekuens. Pohon filogenetik diuji secara statistik menggunakan bootstrap 1000 ulangan. Devi *et al.*, (2021) menambahkan nilai bootstrap sebanyak 100 sampai 1000 ulangan digunakan untuk memperkirakan tingkat kepercayaan suatu pohon filogenetik. Selain itu semakin besar nilai bootstrap yang digunakan semakin tinggi kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi yang didasarkan atas distribusi karakter dalam data sangat dipengaruhi oleh efek acak.

Nilai bootstrap ditunjukkan pada angka yang terletak pada cabang-cabang pohon filogenetika. Jika nilai bootstrap rendah maka sekuen seharusnya dikeluarkan dari analisis untuk mendapatkan sebuah pohon filogenetika yang dapat dipercaya. Menurut Lamey (2009), bahwa cabang kelompok yang didukung lebih dari 70% atau 75%, maka dapat dipercaya (Anggraini *et al.*, 2019)



Gambar 4.11 Hasil Pohon filogenetik menggunakan *Neighbor-joining* dengan uji bootstrap 1000

Nilai bootstrap isolat YP-3 menggunakan *Kodamaea ohmeri* MT443892.1 adalah sebesar 99. Hal ini menunjukkan adanya keterkaitan yang erat antara *Kodamaea ohmeri* MT443892.1 dengan isolat tersebut. Anggraini (2019) menyatakan bahwa nilai bootstrap antara 70% dan 90% menunjukkan stabilitas pada pohon filogenetik.

Kodamaea ohmeri adalah spesies jamur yang termasuk dalam keluarga *Saccharomycetes*, sebelumnya dikenal sebagai *Pichia ohmeri* atau *Yamadazyma ohmeri* (Prabowo *et al.*, 2024). *Kodamaea (Pichia) ohmeri*, dikenal juga sebagai *Candida guilliermondii* var. *membranaefaciens*, adalah khamir kosporogenik dan teleomorf dari *Candida guilliermondii* var. *membranaefaciens*. Saat ini, genus *Kodamaea* terdiri dari tujuh spesies: *K. anthophila*, *K. kakaduensis*, *K. ohmeri*, *K. laetipori*, *K. nitidulidarum*, *K. transpacificae*, dan *K. Meredithae* (Sharma *et al.*, 2018). *Kodamaea ohmeri* sering digunakan dalam industri makanan untuk fermentasi acar, kulit buah, dan buah-buahan. (Lee *et al.*, 2017).

Ciri-ciri morfologi genus *Kodamaea* ini berbentuk bulat, warna koloni putih, elevasi koloni meninggi (timbul), dan bentuk sel oval. Reproduksi aseksual *Kodamaea ohmeri* ini adalah pertunasan (*budding*). *Kodamaea ohmeri* mampu mengasimilasi berbagai jenis gula seperti maltosa, sukrosa, galaktosa, selobiosa, rafinosa, trehalosa, glukosa, dan xilosa, tetapi tidak dapat mengasimilasi inositol, dulcitol, dan melibiose (Sharma *et al.*, 2018)

Penelitian Sharma *et al.* (2018) menjelaskan bahwa *Kodamaea ohmeri* dapat memanfaatkan jerami padi dalam pembuatan bioethanol. *Kodamaea ohmeri* mampu memfermentasi gula glukosa dan xilosa untuk memproduksi etanol. *Kodamaea ohmeri* menunjukkan produksi etanol sekitar 2g/L dan 1,3 g/L setelah 72 jam fermentasi.

4.7 Integrasi Islam

Manusia tidak boleh menyia-nyiakan nikmat Allah, karena manusia telah dikaruniai akal budi oleh Allah SWT. Masyarakat dapat memanfaatkannya untuk melanjutkan pendidikan dan mempertajam pemikiran agar dapat berkembang secara intelektual dengan belajar lebih banyak tentang dunia di sekitar mereka. Oleh karena itu, pengetahuan baru akan mudah diperoleh karena kemajuan teknologi dan kewajiban manusia untuk terus menemukan teknologi baru. Mirip dengan organisme kecil seperti khamir, yang sangat bermanfaat untuk makanan.

Hal ini dapat menyadarkan manusia bahwa segala sesuatu yang Allah SWT ciptakan tidak ada yang sia-sia pasti semuanya memiliki manfaat dan peran masing-masing. Allah SWT berfirman dalam QS Ali – Imran [3]: 191 sebagai berikut:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

"Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka pelihara lah kami dari siksa neraka," yang mengaku sebagai orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka mengakui"

Ayat dalam Surat Ali Imran menggambarkan ulul albab sebagai orang-orang yang secara konsisten mengingat Allah dalam berbagai keadaan: saat berdiri, duduk, atau bahkan dalam keadaan berbaring. Mereka juga mendalami dan memikirkan penciptaan langit dan bumi dengan keyakinan bahwa Allah tidak menciptakan semuanya secara sia-sia. Oleh karena itu, mereka berdoa kepada Tuhan mereka, memohon agar dipelihara dari siksa neraka.

Hasan dalam tafsir Al-Manar menjelaskan bahwa konsep zikir di sini meliputi mengingat Allah dengan hati dan menghadirkannya dalam pikiran, tidak terbatas pada waktu-waktu ibadah seperti shalat. Abdul Malik Abdul Karim Abdullah, dalam Tafsir Al-Azhar, menegaskan bahwa orang-orang yang berpikir adalah mereka yang tidak pernah melupakan Allah dalam ingatan mereka, dan setiap kali melihat tanda-tanda kebesaran-Nya di langit, bumi, atau dalam pergantian siang dan malam, mereka segera teringat kepada Sang Pencipta.

Khamir adalah mikroorganisme eukariotik yang banyak ditemui di berbagai relung ekologi seperti di udara, akuatik dan terestrial. Selain itu khamir juga dapat ditemukan sebagai parasit, saprofit maupun endofit pada daun, bunga, buah yang sudah matang, dan biji-bijian (Festus *et al.*, 2020). Allah berfirman dalam QS As-Saba' [33]: 22

قُلِ ادْعُوا الَّذِينَ زَعَمْتُمْ مِّنْ دُونِ اللَّهِ لَا يَمْلِكُونَ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ فِي السَّمٰوٰتِ
وَلَا فِي الْأَرْضِ وَمَا لَهُمْ فِيهِمَا مِنْ شِرْكٍ وَمَا لَهُ مِنْهُمْ مِنْ ظَهِيرٍ

Pepatah Nabi Muhammad SAW berbunyi, “Panggillah orang-orang yang kamu anggap (sebagai tuhan) selain Allah! Mereka tidak mempunyai (kekuatan) yang lebih besar dari pada satu partikel pun di bumi dan langit. bumi dan langit, dan mereka tidak mendapat bagian di dalamnya.”

Dalam ayat ini, istilah “*Zarrah*” merujuk pada sesuatu yang sangat kecil.

Molekul atom dan bakteri adalah contoh benda-benda tersebut. Allah memberi tahu manusia melalui ayat ini bahwa Dia sendirilah yang bertugas mengatur kehidupan di alam semesta mikroba yang sangat luas ini. Manusia tidak mampu melihat mikroba beraksi (Tafsir Ilmi, 2015). Mikroorganisme dapat berukuran panjang 5–20 μm dan lebar 1–10 μm . Salah satu contohnya adalah khamir (Puspita, 2020).

Isolasi khamir didapatkan dari banyak tanaman yang menghasilkan banyak gula, seperti Sirsak (*Annona muricata*), Semangka (*Citrullus lanatus*), dan Pepaya (*Carica pepaya*). Allah berfirman dalam QS. Al-An'am [6]:141:

وَهُوَ الَّذِي أَنشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا
أُكْلُهُ ۖ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ ۖ إِذَا أَثْمَرَ
وَاتَّقُوا حَقَّهُ ۖ يَوْمَ حَصَادِهِ ۖ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Dialah yang membudidayakan baik tanaman merambat maupun tidak merambat, kurma, berbagai macam tanaman, serta buah zaitun dan delima baik yang sejenis maupun yang berbeda bentuk dan warnanya. Jika pohon itu berbuah, makanlah, dan jika kamu memanen hasilnya, berikanlah zakatnya. Tapi jangan berlebihan. Sesungguhnya orang yang boros tidak disukai Allah.

Menurut Al-quran di atas, Allah SWT menciptakan tumbuhan agar manusia dan hewan dapat memakannya. Tubuh manusia dan hewan lainnya mendapatkan semua bahan yang dibutuhkan untuk kehidupan biologisnya dari tumbuhan. Mengingat betapa pentingnya tumbuhan bagi keberadaan manusia, ciri-ciri yang ditunjukkannya telah memberinya warna (Tafsir Ilmi, 2011).

Spesies khamir yang telah teridentifikasi dari buah pepaya (*Carica pepaya*) adalah *Kodamaea ohmeri*. Allah berfirman dalam QS As-Baqarah [2]: 29

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ
سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

“Dialah (Allah) yang menciptakan segala apa yang ada di bumi untukmu kemudian Dia menuju ke langit, lalu Dia menyempurnakannya menjadi tujuh

Menurut tafsir Al-Madinnah Al-Munawwarah pada surat Al-Baqarah ayat 29 disebutkan bahwa salah satu nikmat yang Allah anugerahkan kepada umat manusia adalah Dia menjadikan segala yang ada di bumi untuk kepentingannya. Selain itu, Allah menciptakan tujuh langit dan menyempurnakan segala sesuatu melalui pemahaman-Nya yang maha luas.

Penemuan khamir endofit pada sirsak, semangka, dan pepaya sebagai bahan pembuat roti menunjukkan bahwa umat beragama sebaiknya menggunakan khamir tersebut secara konsisten dengan meneliti manfaatnya dalam penerapan umum. Penelitian energi terbarukan berbasis bioetanol juga dapat menggunakan khamir *Kodamaea ohmeri* yang menghasilkan konsentrasi etanol tertinggi sebesar 3,53% (v/v) (Sumerta dan Kanti, 2017).

Buah juga merupakan salah satu sumber makanan yang dapat dimanfaatkan manusia untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya. Selain itu, buah dapat dijadikan

sumber isolasi khamir yang digunakan sebagai bahan untuk fermentasi karbohidrat. Seperti halnya dalam penelitian ini yaitu isolasi khamir dari buah sirsak, semangka, dan pepaya mendapatkan hasil bahwa *Kodamaea ohmeri* yang diisolasi dari buah pepaya dapat digunakan sebagai bioethanol.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat sembilan isolat khamir yang teridentifikasi berdasarkan ciri morfologi makroskopis dan mikroskopis: YS-1, YS-2, YS-3, YK-1, YK-2, YK-3, YP-1, YP-2, dan YP-3. Sembilan isolat khamir mempunyai kesamaan morfologi dengan kelas khamir *Hemiascomycota* dalam filum *Ascomycota* yang termasuk ordo atau kelas yang sama dengan *Saccharomyces*.
2. Berdasarkan uji biokimia fermentasi karbohidrat (fruktosa, glukosa, sukrosa, dan laktosa) hanya tujuh isolat khamir, isolat YS-1, YS-2, YS-3, YK-2, YK-3, YP-2, dan YP-3 yang mampu memfermentasi keempat bentuk gula tersebut. Khamir yang tidak mampu memfermentasi laktosa yaitu, YK-3 dan YP-1, sedangkan khamir yang tidak mampu memfermentasi sukrosa yaitu YK-1 dan YK-3. Isolat khamir yang dapat bertahan dalam gula konsentrasi 50% yaitu. YP-1, YP-2, YP-3, YS-1, YS-2, YS-3, YK-1, YK-2, dan YK-3
3. Isolat YP-3 diketahui mempunyai kemiripan dengan *Kodamaea ohmeri* strain MT443892.1 (99,73%) berdasarkan identifikasi molekuler.

5.2 Saran

Penelitian ini menunjukkan bahwa, setelah kita mengetahui bahwa isolat khamir dapat berfermentasi dan dapat bertahan hidup di lingkungan dengan glukosa tinggi (50%), Maka, isolat tersebut dapat digunakan untuk memproduksi bioethanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzaal, M., Saeed, F., Asghar, A., Shah, A.Y., Ikram, A., Atteq, H. (2022). Nutritional and Therapeutic Potential of Soursop. *Journal of Food Quality*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2022/8828358>
- Agus, W. I. W., Ayu, N. K., & Indri, H. A. N. M. (2020). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9(2), 151. <https://doi.org/10.24843/itepa.2020.v09.i02.p05>
- Ana, R. R. 2021. *Skripsi*. Yerm Yaqtin Dalam Surat as-Saffat Ayat 145-146 Menurut Kitab Mukhtarat Min Tafsir Al-Ayat Alkawniyah Fi Al-Quran Al-Karim Karya Zaglul Annajar. Semarang: Universitas Islam Negeri Semarang
- Anggraini, I., Ferniah, R. S., & Kusdiyantini, E. (2019). Isolasi Khamir Dari Batang Tanaman Tebu Dan Identifikasinya Berdasarkan Sekuens Internal TRnascribed Spacer. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 6(1), 39. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v6i1.3276>
- Elevasi, A. R (2018). *Skripsi*. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Yang berasosiasi Dengan Buah Apel (*Malus sylvestris* Mill) Dan Potensinya Dalam Fermentasi Karbohidrat/ *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Al-Sweih, N., Khan, Z., Ahmad, S., *et al.* (2011). *Kodamaea ohmeri* as an emerging pathogen: a case report and review of the literature. *Medical Mytology*, 49: 766-770
- Aulia, A. R., Ulfa, S. W., Afrianti, B., Sayhafitri, D, I., dan Khairuddin, F. (2023). Identifikasi Jenis Jamur Basidiomycetes di Kecamatan Patumbak, Binjai Barat, Medan Marelau. *Jurnal Dirosah Islamiyah*, 5 (3).
- Baharudin, A. (2020). isolasi dan identifikasi bakteri toleran logam berat pb (timbal) dan cu (tembaga) dari sedimen mangrove di mangrove tapak, semarang. *Juvenii* 3(3).
- Biolabs, N. E. (2018). Protocol Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with HF Buffer. Neb. com. *Retrieved*, 27
- Biomedical Engineering. 2015. Preparation Of Culture Media, Agar Plates, Antibiotics And General Necessities. Netherlands: Endhoven University of Technology.
- Citra, Y. I. F. (2019). *Skripsi*. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Pada Buah Pisang Klutuk (*Musa balbisiana*) Serta Kemampuannya Dalam Fermentasi Karbohidrat. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- 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*. Research Gate.
- Devi, Anggraeni, & Wahyuni, T. (2021). Isolasi kapang endofit pelawan (*Tristanopsis merguensis* griff.) yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 14(2), 195–206
- Dhiani, H. P. (2012). Kemampuan Antagonisme Khamir Filum Ascomycota dari Tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) asal Trowulan terhadap *Aspergillus* spp. UICC. Universitas Indonesia.
- Ejuama, C.K. C. Benjamin., Onusiriuka. (2021). Effect of *Saccharomyces*

- cerevisiae – Induced Fermentation on the Antioxidant Property of Roselle Calyx Aqueous Extract. *European Journal of Biology and Biotechnology*, 2(3)
- Festus, F. I., David, A. A., & Praise, O. T. (2020). Characterization Of Indigenous Yeasts Species Isolatd From Fruits For Pineapple Wine Production. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 12(5).
- Fadliyatunnisyah, F., S. Rabbani, F., Fasha, E. A. Putri, D. A. J. D. (2024). Penggunaan Uji Wilcoxon Signed Rank Test untuk Menganalisis Pengaruh Tingkat Motivasi Belajar Sebelum dan Sesudah Diterima di Universitas Impian. *IJEDR Indonesia Journal*, 2(1):581-587. <https://doi.org/10.57235/ijedr.v2i1.1887>
- Gandjar I & Sjamudzurizal, W. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia
- Hardianto, Muhibuddin, A., Sektiono, A. W. (2018). Optimalisasi Fosfat untuk Meningkatkan Pertumbuhan Kerapatan Populasi dan Kemampuan Antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp. *SAINTEKBU: Jurnal Sains dan Teknologi*, 10(2)
- Harley, J. P. and L. M. Prescott. (2002). *Laboratory Exercise in Microbiology*. 5th Edition. McGraw-Hill Education. New York.
- Hartati, S., Wiyono, S., Hidayat, S. H., & Sinaga, M. S. (2021). Identifikasi Isolat Khamir Berpotensi sebagai Agens Antagonis dan Uji Produksi Toksin Hemolisin. *Agrikultura*, 32(2), 190.
- Hilhor, R. M & Gavrilesco, M. 2009. Biosportion Of Heavy Metals From The Environment Using Yeast As Biosorbents. *Tomul LV (LIX)*, Fasc. 1,
- Ismael, R. N., Mustafa, Y. R., and Al-Qazaz, H. K. 2022. *Citrullus lanatus*, a Potential Source of Medicinal Products: A Review. *Journal of Medicinal and Chemical Scienses*, 5: 607-618.
- Ivanesthi, I.R., Nurhatika, S., Muhibuddin, A. 2016. Potensi Fermentasi Etanol Isolat Yeast Tanah yang Diisolasi dari Kabupaten Jember, Jawa Timur. *Jurnal Sains Dan Seni ITS* 5(2) : 2337-3520
- Jagessar, R. ., & Douglas, L. (2020). The Fermentation of Sugar Rich Fruits: jamun (*Syzigium Cumini*), soursop (*Annona Muricata*), and pepaya (*Carica Pepaya*), with and without additives, in order to produce optimum ethanol yield for commercial purposes. 8(3), 2013–2014. http://www.usa-journals.com/wp-content/uploads/2020/03/Jagessar_Vol83.pdf
- Jasad Renik Dalam Perspektif Al-Qur'an Dan Ilmu Sains (Tafsir Ilmi)*. (2015). Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an
- Jazuli, A.Z., Saputro, S., dan Mulyani, B. (2019). Pengaruh Model Pembelajaran Discovery Learning Dan Problem Based Learning (Pbl) Pada Materi Pokok Kelarutan Dan Hasil Kali Kelarutan (Ksp) Ditinjau Dari Kemampuan Berpikir Logis Terhadap Prestasi Belajar Siswa Kelas Xi Mipa Sma Negeri 1 Sragen. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 8(2):226-235.
- Khasanah, R., Wahidah, B. F., & Hayati, N. U. R. (2020). Etnobotani Tumbuhan Pepaya (*Carica pepaya* L.) di Kecamatan Moga Kabupaten Pemalang. *Jurnal Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Alauddin Makassar* ISBN : 978-602-72245-5-1, September, 363–371.
- Kinasih, L. D. (2020). Pengaruh pemberian limbah Kopi dan limbah Teh pada media tanam terhadap pertumbuhan tanaman Semangka (*Citrullus vulgaris*). <http://digilib.uinsby.ac.id/id/eprint/42944>

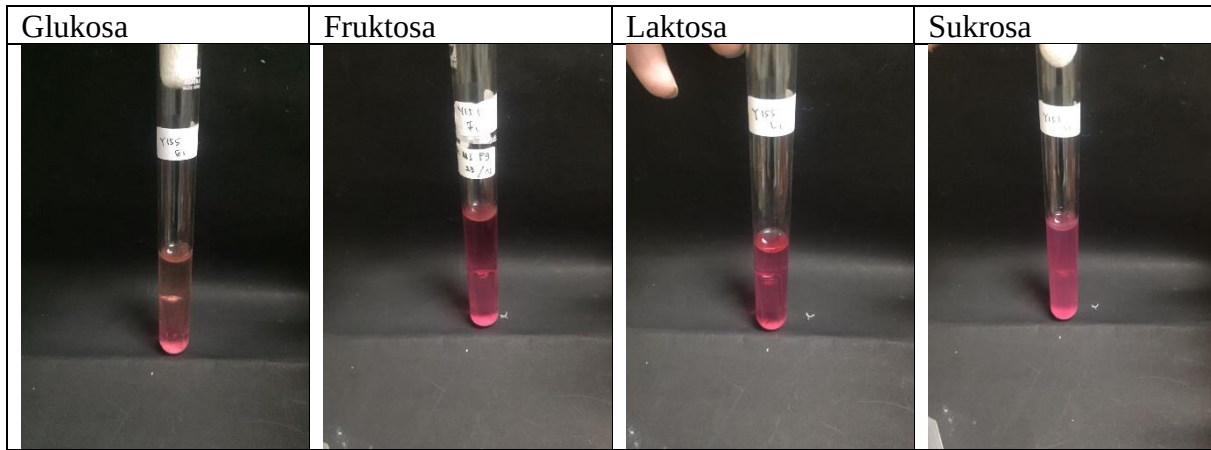
- Kusmiyati,, N., Margareta, B., dan Utami, U. (2022). Potential test of endophytic yeast from sweet oranges (*Citrus sinensis* L.) as leavening agent for bread. *AIP Conference Proceedings* 2524
- Kurtzman, C.P. & Fell, J. W. (2011). Methods for Isolation, Phenotypic Characterization and Maintenance of Yeasts.
- Kurtzman, C.P., and Fell. 2011. *The Yeast A Taxonomy Study. Biodiversity and Ecophysiology of Yeast*. Springer-verlag, Berlin
- Kurtzman, C. P. & Fell, J.W. 1998. Definition, classification and nomenclature of the yeasts. *The Yeasts*. Fourth Edition. (pp. 3-5).
- Kurtzman C.P. dan Fell, J.W. 2006. Yeast Systematics and Phylogeny-Implication of Molecular Identification Methods For Studies in Ecology. *Biodiversity and Ecophysiology of Yeast*. Berlin: Springer-verlag
- Lamey, P., Selemi, M., and Vandamme, A. M. 2009. *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. Cambrige University Press, UK
- Lee, Jin,S., Shin, J.H., Kim,M., Jung,S.,Park, H.,Cho,D., Kee,S., Shin,M., Suh,S., and Ryang,D.W. 2017. *Kodamaea ohmeri* Isolates from Patients in a University Hospital: Identification, Antifungal Susceptibility, and Pulsed-Field Gel Electrophoresis Analysis. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 45(3). doi:10.1128/JCM.02264-06
- Linawati, Rsumiyanto, E., & Kurniatuhadi. (2021). Khamir Potensial Probiotik Hasil Isolasi dari Fermentasi Jus Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). *Jurnal Biologica Samudra*, 3(2):215-132
- Mardhiah, A., Sabariana. Pengolahan Pepaya Muda (*Carica Pepaya* L) Menjadi Abon. *Serambi Academica*. 9(3)
- Maryati, DA., Wijanarka, Ferniah, RS. (2021). Molecular and phylogenetic analysis of inulinase producing yeast isolatd from nira siwalan (*Borassus flabellifer*) based on ITS sequences. *Journal of Physics: Conference Series*
- M. Prihartini, M. Ilmi. (2018). Karakterisasi dan Klasifikasi Numerik Khamir Madu Hutan dari Sulawesi Tengah. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 2(2), 112–127.
- Mirhendi, H. Diba, K. Rezaei, A. Jalalizand, N. Hosseinpur, 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
- Naadem,M., Navida,M., Ameer., Siddique., Iqbal,A., Malik,F., Ranjha, M., Yasmin, Z., *et al.* (2022). Watermelon Nutrition Profile, Antioxidant Activity, And Processing. *Korean J Food Preserv*, 29(4), 531-545. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2022.29.4.531>
- Nath,B.J, Verma, E., Sarma, H.K. *et al.* (2020). Evaluation of Basic Fermentation Parameters and Effective Combinations of Predominant Yeasts from Traditional Starter Materials of Indigenous Communities from Northeast India. *OURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS*
- Noordiya, M. E. (2023). *Skripsi*. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Endofit Dari Daging Buah Nanas Madu (*Ananas comosus* L.) Sebagai Kandidat Pengembang Roti.
- Nurhayati. Jayus, j., Rini, A. W. E., *et al.* (2022). Isolasi dan Identifikasi Khamir Toleran Alkohol dari Molase. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 7(1):1-10
- Ogodo, A. C., Ugbogu, O. C., Ugbogu, A. E., & Ezeonu, C. S. (2015). Production

- of mixed fruit (pawpaw, banana and watermelon) wine using *Saccharomyces cerevisiae* isolatd from palm wine. *SpringerPlus*, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1475-8>
- Periadnadi., Sari, D. K., Nurmiati. 2018. Isolaso dan Potensial Keberadaan Pemfermentasi Khamir Nira Aren (*Arenga Pinnata* Merr.) dari Dataran Rendah dan Dataran Tinggi di Sumatera Barat. *Bioeksperimen* , 4(1) : 29–36
- Puspita, D., Nadia, E., Immanuela, E., Titania, MC. 2020. Isolasi, Identifikasi dan Uji Produksi Yeast yang Diisolasi Dari Nira Kelapa. *BIOSFER, J. Bio & Pend. Bio*, 5(1)
- Pezzoti, *et al.* (2023). Raman Spectroscopy of Oral Candida Species: Molecular-Scale Analyses, Chemometrics, and Barcode Identification. *Internasional Journal Molecular Sains*. 23 (5359).
- Qomaliyah, E. N. (2022). Etnofarmakologi dan Potensi Bioaktivitas Daun dan Buah Sirsak (*Annona Muricata*): Artikel Review Ethnopharmacology and Bioactivity Potential of Soursop (*Annona Muricata*) Leaves. *BIOCITY Journal of Pharmacy Bioscience and Clinical Community*, 1(1), 36–55.
- Rahmat Kusnedi. (2021). Pengaruh Penambahan Pengembang Roti Terhadap Parameter Organoleptik Pada Pembuatan Roti Manis. *Jurnal British*, 1(2), 60–71.
- Rini, Anjas Widia Elistia. 2017. *Skripsi*. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Toleran Alkohol Dari Molases. Universitas Jember
- Sari, M. F., & Catarina, R. H. (2020). Perbandingan Karakteristik Minuman Probiotik Semangka (*Citrullus lanatus*) Dengan Variasi Jenis Semangka Merah Dan Kuning Menggunakan Starter *Lactobacillus casei* Strain Shirota. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 25–33. <https://doi.org/10.24002/biota.v5i1.2945>
- Santos, J. E., Abreu, C. M. P., Freire, J. M., & Queiroz, E. R. (2015). Comparative study of sugar content in tropical fruits: Pepaya, banana, and pineapple. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2368–2374. DOI:10.1007/s13197-015-1759-3.
- Sharma, S., Arora, A., Sharma, P., Singh, S., Nain, L., And Paul, D. 2018. Notable Mixed Substrate Fermentation By Native *Kodamaea ohmeri* Strains Isolatd From *Lagenaria siceraria* Flowers And Ethanol Production On Paddy Straw Hydrolysates. *Chemistry Central Journal*, 12:8
- Shihab, Q (2012) Tafsir Al-Mishbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran. Jakarta. Lentera Hati.
- Simbolon, N.C., Wijaya, I.M.M., Gunam, I.B.W., 2018. Isolasi dan Karakterisasi Khamir Potensial Penghasil Bioetanol dari Industri Arak di Karangasem Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 6(4), 316–326
- Sogandi, S. (2018). Biologi Molekuler: Identifikasi Bakteri Secara Molekuler. Universitas, 17.
- Sugiawan, W. (2006). Peningkatan efektifitas media isolasi khamir contoh kecap dengan penambahan kecap. Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian.
- Sulmiyati, Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R. & Maruddin, F. (2019). The Characateristhic Yeast Isolatd From Commercial Kefir Grain. *Hasanuddin Journal Of AnImal Science*. 1(1), 26–37

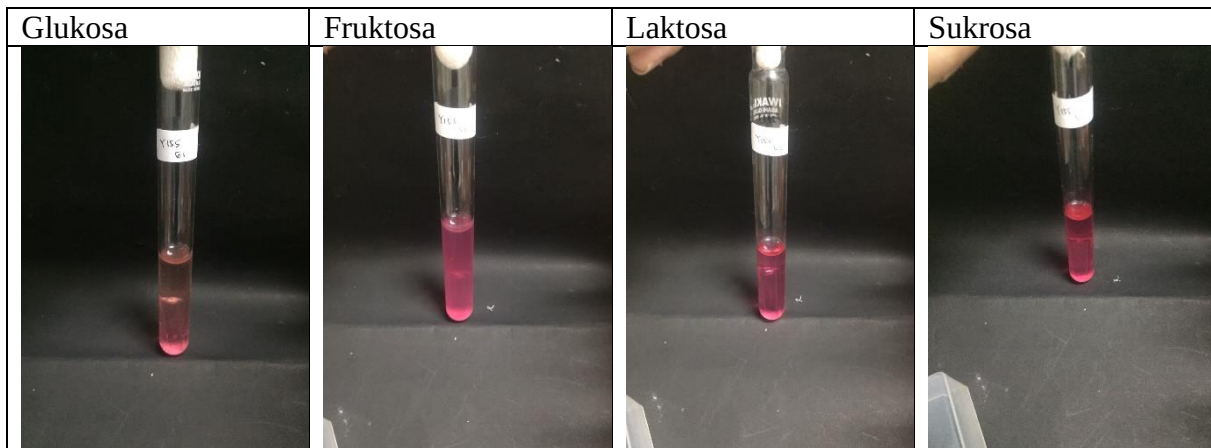
- Suryaningsih, V., Ferniah, R. S., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolat KHhamir IK-2 Hasil Isolasi Dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Biologi*, 7(1), 18–25.
- Struyf, Nore., Eva Van der Maelen, Sami Hemdane, and Joran Verspreet, Kevin J. Verstrepen, and Christophe M. Courtin. Bread Dough and Baker's Yeast: An Uplifting Synergy. 2017. Institute of Food Technologists. Vol.16
- Syalom, R. N., Mulyani, S., & Legowo, A. M. (2021). Pengaruh Konsentrasi Mesokarp Semangka Terhadap Karakteristik Fisikokimia Dan Mikrobiologi Water Kefir Semangka Kuning (*Citrullus lanatus* (Thunb.)). *Pro Food* 6(2), 719–728.
- 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
- Tumbuhan Dalam Perspektif Al-Qur'an Dan Sains (Tafsir Ilmi)*. (2011). Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an
- Unban, K., Muangkajang, N, Kodchase, P., *et al.* (2023). Tannin-Tolerant *Saccharomyces cerevisiae* Isolatd from Traditional Fermented Tea (Miang) of Northern Thailand and Its Feasible Applications. *Microbiologi Research*. 14:1969-1983
- Utami, H, S., Susanto, S., dan Hapsari, D. P. (2022). Keragaman Kualitas Fisik dan Kimia Buah Pepaya Calina di Balumbangjaya. *J. Hort. Indonesia*, 13(2), 109-119. <http://doi.org/10.29244/jhi.13.2.109-119>
- Webster J & Weber RWS. 2007. *Introduction to Fungi*. Third Edition. New York: Cambridge University Press.
- Wulandari, P. T., Sukmawati, D., Kurniati, T. H. (2017). Isolasi Dan Seleksi Khamir Amiloli Asal Buah Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam). 13(1), 37–42.
- Yuniarti, F., Hidayati, W., Setiawati, S., & Nabilah, K. (2022). Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim B-Galaktosidase Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Buah Sirsak (*Annona muricata* L.). *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 15(1), 28–35. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v15i1.15523>

Lampiran 1 Hasil Fermentasi Karbohidrat Isolat Khamir Dari Buah Sirsak, Semangka, Dan Pepaya

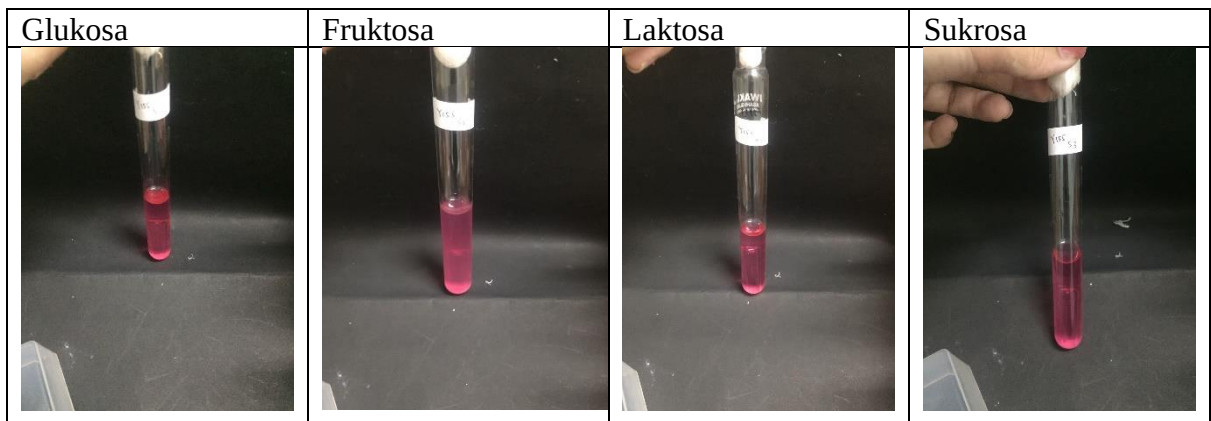
1. YS-1



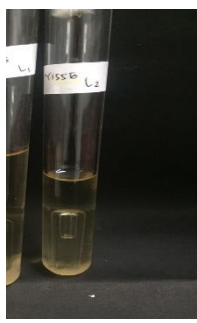
2. YS-2



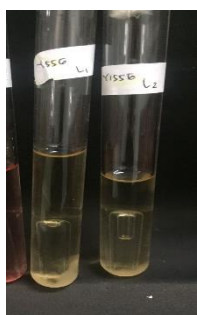
4. YS-3



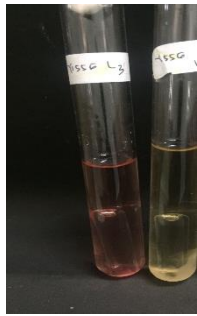
4.YK-1

Glukosa	Fruktosa	Laktosa	Sukrosa
			

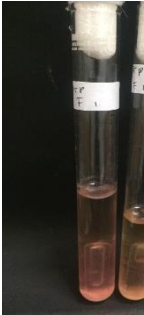
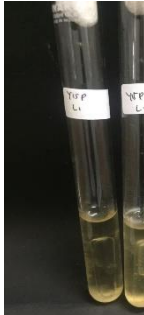
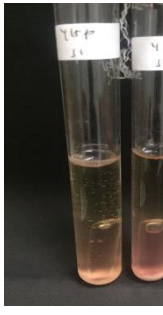
5. YK-2

Glukosa	Fruktosa	Laktosa	Sukrosa
			

6. YK-3

Glukosa	Fruktosa	Laktosa	Sukrosa
			

6. YP-1

Glukosa	Fruktosa	Laktosa	Sukrosa
			

7. YP-2

Glukosa	Fruktosa	Laktosa	Sukrosa
			

8. YP3

Glukosa	Fruktosa	Laktosa	Sukrosa
			

Lampiran 2 Hasil Nilai *Optical Density* Pada Spektrofotometer 600 nm

Kode Isolat	Konsentrasi 50%	
	24 jam	48 jam
YS-1 UI	0,01	0,01
YS-1 U2	0,01	0,02
YS-1 U3	0,01	0,02
	0,01	0,02
YS-2 U1	0,01	0,03
YS-2 U2	0,01	0,02
YS-2 U3	0,01	0,03
	0,01	0,03
YS-3 U1	0,01	0,06
YS-3 U2	0,02	0,05
YS-3 U3	0,02	0,08
	0,02	0,06
YK-1 U1	0,01	0,02
YK-1 U2	0,01	0,01
YK-1 U3	0,00	0,01
	0,01	0,01
YK-2 U1	0,01	0,03
YK-2 U2	0,01	0,03
YK-2 U3	0,01	0,03
	0,01	0,03
YK-3 U1	0,01	0,02
YK-3 U2	0,01	0,02
YK-3 U3	0,00	0,02
	0,01	0,02
YP-1 U1	0,02	0,18
YP-1 U2	0,03	0,18
YP-1 U3	0,01	0,19
	0,02	0,18
YP-2 U1	0,01	0,08
YP-2 U2	0,00	0,08
YP-2 U3	0,00	0,08
	0,00	0,08
YP-3 U1	0,01	0,16
YP-3 U2	0,01	0,16

YP-3 U3	0,02	0,24
	0,01	0,19

Lampiran 3 Hasil Uji Normalitas Dan Uji Non Parametrik Nilai *Optical Density* Isolat Khamir Dari Buah Sirsak (*Annona muricata*), Buah Semangka (*Citrullus lanatus*), Dan Buah Pepaya (*Carica pepaya*)

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
24 Jam	.358	27	.000	.775	27	.000
48 Jam	.271	27	.000	.782	27	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 2. Hasil Uji Non Parametric Wilcoxon test

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
24 Jam	27	.0107	.00675	.00	.03
48 Jam	27	.0689	.06818	.01	.24

Ranks				
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
48 Jam - 24 Jam	Negative Ranks	0 ^a	.00	.00
	Positive Ranks	25 ^b	13.00	325.00
	Ties	2 ^c		
	Total	27		

a. 48 Jam < 24 Jam

b. 48 Jam > 24 Jam

c. 48 Jam = 24 Jam

Test Statistics ^a	
	48 Jam - 24 Jam
Z	-4.391 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on negative ranks.

Lampiran 4. Hasil *Sequence* Isolat Khamir YP-3

1	NNNNNNNNNN	CTACTTGATT	TGAGGAAAAA	AATGAGTGTA	CTGACGGTAC	CGTTTTGTAG	60
61	AGTACTGTCG	TCATTATTTT	CGTGCAAACA	CAATACAATC	CGTGAGGATT	AGGGAAGTAT	120
121	TCGCTCAAAC	AAGCATACCA	TTGGGAATAC	CCAATGGTGC	AATGTGCGTT	CAAAGATTCTG	180
181	ATGATTCCGA	GAGCTGCGAT	TCGTATTACG	TATCGCATTT	CGCTGCGTTC	TTTCATCGATG	240
241	CGAGAACCAA	GAGATCCGTT	GTTGAAAGTT	TTAAGAATTT	CTTGTAAGA	ATTGTTTTTA	300
301	GATAGATTTT	TTTGTGTGTA	AAAAAACAGT	GTGTAGTAAA	TTAATGTAA	TGATCCTTCC	360
361	GCAGGTTTAC	CTACGGAAGG	ATCATTAACA	TTATTTTACT	ACACACTGTT	TTTTTACAAC	420
421	AAAAAAAATC	TATCTAAAAA	CAATTCTTTA	CAAGAAATTC	TTAAAACTTA	AAACAACGGA	480
481	TCTGGTGGTT	CTCGCATCAA	TAAAGAACGC	AGCGAAATGC	GATACGTAAT	ACGAATCGCA	540
541	GCTCTCGGAA	TCATCAAATC	TTTGGACGCT	CGTGGCACCC	NAGGGTATTG	CCGATGGTAT	600
601	GCTAGACTTC	CTCAAACACT	TCATTGTTCC	GCGCGTGTCC	TATTATATTG	ACAANNATAC	660
661	TCTACAGCGC	GGTACCTCAA	TACACTCATT	TTTTTTCCTC	ACATCAGGTA	GGACTACCGC	720
721	TGAACCTAGG	CATGTCNNNN	NNCGNAGGA				749

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 200602110160
 Nama : NUR AZIZAH
 Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
 Jurusan : BIOLOGI
 Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI,M.Si
 Dosen Pembimbing 2 : UMAIYATUS SYARIFAH, MA
 Judul : Isolasi Dan Identifikasi Khamir Dari Buah Sirsak (*Annona muricata* L.), Buah Semangka (*Citrullus lanatus*), Dan Buah Pepaya (*Carica papaya*) Serta Kemampuannya Dalam Fermentasi Karbohidrat

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	06 November 2023	Prof. Dr. Hj.ULFAH UTAMI,M.Si	Konsultasi Judul	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
2	14 November 2023	Prof. Dr. Hj.ULFAH UTAMI,M.Si	Konsultasi Judul	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
3	23 November 2023	Prof. Dr. Hj.ULFAH UTAMI,M.Si	Pengajuan Judul	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
4	13 Desember 2023	Prof. Dr. Hj.ULFAH UTAMI,M.Si	Bimbingan BAB I - BAB III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
5	13 Desember 2023	UMAIYATUS SYARIFAH, MA	Bimbingan Agama BAB I - BAB III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
6	18 Desember 2023	Prof. Dr. Hj.ULFAH UTAMI,M.Si	Bimbingan BAB I - BAB III Dan ACC Proposal	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
7	18 Desember 2023	UMAIYATUS SYARIFAH, MA	Bimbingan Agama BAB I - BAB III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
8	01 Januari 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI,M.Si	Penandatanganan Lembar Persetujuan Dan Naskah Proposal	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
9	02 Januari 2024	UMAIYATUS SYARIFAH,MA	Penandatanganan lembar Persetujuan Dan Naskah proposal	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
10	8 Maret 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI,M.Si	Bimbingan Revisi Bab I-III	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
11	6 Juni 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI,M.Si	Bimbingan Hasil BAB 4	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
12	3 Juli 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI,M.Si	Bimbingan BAB 1-5	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
13	4 Juli 2024	UMAIYATUS SYARIFAH,MA	Bimbingan BAB 1-5	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
14	5 Juli 2024	UMAIYATUS SYARIFAH,MA	Bimbingan Revisi BAB 1-5 Dan ACC Naskah Skripsi	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi



15	5 Juli 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI,M.Si	Bimbingan Revisi BAB 1-5 Dan ACC Naskah Skripsi	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
----	-------------	--------------------------------------	--	--------------------	--------------------

Dosen Pembimbing 2

UMAIYATUS SYARIFAH, MA

Malang, _____

Dosen Pembimbing 1

Prof. Dr. Hj. ULFAH
UTAMI,M.Si



Kaprodik,

EVIKA SANDI SAVITRI, M. P



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama

: Nur Azizah

NIM

: 200602110160

Judul

: ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KHAMIR DARI BUAH SIRSAK (*Annona muricata* L.), BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*), DAN BUAH PEPAYA (*Carica papaya*) SERTA KEMAMPUANNYA DALAM FERMENTASI KARBOHIDRAT

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	25%	



Mengetahui,
Kepala Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002