JURNAL BIOLOGICA SAMUDRA 5(2): 159 – 173 (2023)
DOI: https://doi.org/10.33059/jbs.v2i1.6141

Inventarisasi Khamir pada Ragi Tape yang Terbuat dari Tepung Beras (*Oryza sativa* L.) Varietas Lokal

Inventory of Yeast Tape Made from White Rice Flour (*Oryza sativa* L.) Local Variety

Eleutra Daniati[1], Rikhsan Kurniatuhadi[1], Masnur Turnip[1]
[1]*Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia*

Received: 27 Agustus 2022; **Accepted**: 21 Oktober 2023; **Published:** 30 Desember 2023

KATA KUNCI *Tepung Beras Putih (Oryza sativa L.), Ragi Tape, Khamir*

KEYWORDS *White rice flour (Oryza sativa L.), tape yeast, yeast*

ABSTRAK Tepung beras putih (*Oryza sativa* L.) merupakan bahan utama yang digunakan oleh masyarakat dayak dalam pembuatan ragi tape, yang merupakan substrat untuk pertumbuhan mikroorganisme seperti khamir. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui genus khamir yang diisolasi dari ragi tape yang terbuat dari tepung beras putih. Penelitian dilaksanakan pada Desember 2021 – April 2022. Isolat khamir diidentifikasi berdasarkan pengamatan secara makroskopis koloni dan mikroskopis dari sel khamir, reproduksi sel, dan uji fisiologis dengan acuan dari buku *The Yeast a Taxonomic Study*. Berdasarkan hasil identifikasi, diperoleh 12 isolat khamir yang terdiri dari tiga genus yaitu *Kluyveromyces, Pichia* dan *Saccharomyces*.

ABSTRACT *White rice flour (Oryza sativa L.) is the main ingredient used by the Dayak community in the manufacture of tape yeast, which is the substrates for the growth of microorganisms such as yeast. The purpose of this study was to determine the genus of yeast isolated from tape yeast made from white rice flour. This research was conducted in December 2021 – April 2022. Yeast isolates were identified based on macroscopic and microscopic observations of colonies from yeast cells, cell reproduction, and physiological tests with reference to the book The Yeast a Taxonomic Study. Based on the results, 12 yeast isolates were obtained consisting of three genera, namely Kluyveromyces, Pichia and Saccharomyces.*

Correspondence:
Email: daniatiglx@gmail.com

1. Pendahuluan

Khamir merupakan fungi uniseluler, eukariotik, hidup sebagai parasit atau saprofit. Bentuk selnya bermacam-macam yaitu oval/bulat, batang, atau segitiga melengkung. Orang pertama yang mempelopori identifikasi khamir yaitu Wickerman (1951). Khamir banyak ditemukan di alam dan sudah berhasil diisolasi dari berbagai

macam substrat seperti makanan fermentasi tradisional. Makanan fermentasi yang sering dikonsumsi salah satunya yaitu tape. Tape dibuat dari beras ketan ataupun singkong yang diperoleh dengan cara menambahkan ragi pada singkong atau beras ketan yang telah dimasak, memiliki rasa manis dan sedikit mengandung alkohol, dan memiliki tekstur lunak dan berair (Berlian *et al*., 2016).

Menurut Suaniti (2015) bahwa beras ketan (*Oryza sativa glutinosa*) sebagai bahan utama tape berfungsi sebagai substrat mikoorganisme. Beras ketan mempunyai kadar amilosa 1-2% dan amilopektin 88-89%. Beras ketan tinggi karbohidrat yaitu sekitar 79%. Selain itu, beras ketan mengandung protein (6,7%), lemak (0,7%), air (12%), vitamin B (0,0002%) dan kalsium (0,012%). Genus yang sering diisolasi dari pembuatan ragi tape yaitu genus *Saccharomyces*, karena pada proses pembuatan tape melibatkan proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir *Saccharomyces cerivisiae*. *S. cerivisiae* mampu memfermentasi fruktosa dan glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida.

Ragi secara umum banyak digunakan oleh masyarakat khususnya masyarakat Dayak dalam pembuatan minuman beralkohol salah satu contohnya tuak, jenis minuman tuak yang terbuat dari tape singkong maupun beras ketan. Tuak digunakan oleh masyarakat Dayak saat mengadakan upacara adat, pesta pernikahan, kelahiran anak dan pada saat upacara kematian. Tetapi, mengikuti perkembangan jaman sekarang pembuatan minuman alkohol khususnya tuak sudah berkurang karena banyaknya minuman alkohol lainnya yang masuk keberbagai daerah dayak tersebut dan dijual dimana-mana oleh masyarakat salah satu contoh minuman alkohol lainnya seperti bir.

Penelitian tentang ragi tape ini diolah secara alami dengan menggunakan beras putih yang dihasilkan langsung dari ladang sebagai bahan utamanya dan lada yang digunakan untuk menambahkan rasa pada ragi tersebut, selain itu didalam lada terdapat terdapat senyawa piperin yang berfungsi sebagai antibakteri. Belum ada penelitian yang lebih lanjut terhadap khamir yang terdapat pada ragi tape sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis khamir apa saja yang terdapat pada ragi tape tersebut.

2. Metode Penelitian

Waktu penelitian berlangsung dari Desember 2021 hingga April 2022. Tempat penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univesitas Tanjungpura.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah aluminium foil, autoklaf, *biological safety cabinet* (BSC), bunsen, cawan petri, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur, *hot plate*, inkubator, jarum ose, jangka sorong, *magnetic stirrer*, mikroskop cahaya, mikroskop stereo, plastik wayang, penumbuk ragi (lesung), pipet tetes, rak tabung, spuit, tabung reaksi, timbangan analitik, *vortex*. Bahan yang digunakan yaitu akuades,

air sumur 200 ml, alkohol 70%, beras putih 123,5 gram, $CuSO_4$, indikator *bromothymol blue*, lada 2 gram, media *Glucose Peptone Yeast* (GPY), media uji fermentasi gula (glukosa, sukrosa, dan laktosa), pewarna *malachite green* 0,5%, iodin, *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), safranin 0,5%, dan spiritus.

2.1. Isolasi khamir pada ragi tape yang berasal dari tepung beras putih (*Oryza Sativa* L.)

Isolasi khamir dari ragi yang berasal dari beras putih (*Oryza sativa* L.) dengan menggunakan metode tuang dengan membuat seri pengenceran 10^{-1} - 10^{-7}. Proses isolasi diawali dengan mengambil 1 gram sampel ragi yang sudah di tumbuk atau dihaluskan kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril. Sampel dipipet sebanyak 1 ml untuk proses pengenceran dilakukan dari pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-7}, dilakukan 2 pengulangan pada setiap pengenceran (Harley & Prescot, 2003).

Selanjutnya Pengenceran dilakukan dengan memasukkan sampel sebanyak 1 ml kedalam 9 ml akuades steril sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1}. Pengenceran 10^{-1} ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades sehingga didapat pengenceran 10^{-2}, seterusnya hingga didapatkan pengenceran 10^{-7} (Harley & Prescot, 2003).

Isolasi dilakukan sebanyak dua ulangan. Inokulasi pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) pada cawan petri, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37^0C selama 48 jam. Koloni khamir pada cawan uji yang tumbuh diamati dan diseleksi kemudian di kultur kembali di media SDA hingga diperoleh kultur murni (Harley & Prescot, 2003).

2.2. Pemurnian Khamir

Pemurnian isolat khamir ditanam pada media SDA yang baru. Koloni khamir yang telah dilakukan pengamatan karakter morfologi yang berbeda dan diberi kode isolat. Masing-masing isolat khamir yang telah diberi kode diinokulasi ke dalam cawan petri menggunakan metode *streak plate*. Satu koloni isolat khamir diambil secara aseptis menggunakan jarum ose dan diinokulasi ke permukaan media SDA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.3. Identifikasi Khamir Tingkat Genus

2.3.1. Pengamatan Morfologi Koloni dan Sel Khamir

Pengamatan morfologi koloni meliputi pengamatan bentuk, elevasi, diameter koloni, permukaan, tekstur, tepian dan warna. Pengamatan morfologi sel khamir meliputi bentuk sel, ada tidaknya hifa atau pseudohifa, pertunasan (*budding*), dan tipe

spora yang diperoleh dari isolat yang diinokulasikan pada media SDA (Kurtzman dan Fell, 1998).

2.3.2. Pewarnaan Gram Sel Khamir

Preparat yang telah bersih ditetesi akuades dan isolat khamir yang diambil menggunakan jarum ose diletakkan diatasnya. Sampel diratakan dan dikering-anginkan. Fiksasi dilakukan selama 5 detik dilanjutkan dengan larutan kristal violet beberapa tetes selama 60 detik dan dibilas aquades dengan sempurna. Apusan ditetesi iod selama 60 detik dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan akuades. Apusan ditetesi etanol 95% kemudian ditetesi safranin selama 30 detik dan diakhiri dengan pembilasan menggunakan aquades. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dengan penambahan minyak imersi (Mohan, 2009).

2.3.3. Uji Pewarnaan Askospora

Uji askospora dilakukan dengan teknik modifikasi *Schaeffer-Fulton's (*pewarna *malachite green* 0,5% dan safranin 0,5% dengan perbandingan 1:1). Sebanyak 1 ose isolat ditetesi pewarna tersebut, lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop. Askospora yang telah dewasa akan berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif akan tampak merah (Kreger-van Rij, 1987).

2.3.4. Uji Pewarnaan Kapsul

Uji kapsul pada khamir dilakukan dengan metode olesan (*smear*) pada kaca preparat uji. Sebanyak 1 ose isolat diletakan pada kaca preparat uji yang ditetesi kristal violet selama ± 5 menit lalu dibilas dengan larutan $CuSO_4$ 1%. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dengan penambahan minyak imersi. Kapsul akan tampak sebagai lingkuran biru pucat yang mengelilingi sel berwarna ungu (Kreger-van Rij, 1987).

2.3.5. Uji Fermentasi Gula

Media uji fermentasi gula (glukosa 1%, sukrosa 1%, dan laktosa 1%), ditambahkan pepton sebagai sumber nitrogen. Lalu ditambahkan indikator *bromothymol blue* sebagai indikator terjadinya fermentasi. Uji fermentasi gula dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat khamir dari medium padat yang telah berumur 24 jam dan diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang ditambahkan tabung durham. diberi Isolat diinkubasi selama 72 jam pada suhu 37^0C. Hasil positif tampak, jika terjadi perubahan warna pada medium dan adanya gelembung gas pada tabung durham. Warna medium berubah dari biru menjadi kuning karena formasi asam dan gas yang dihasilkan (Kreger-van Rij, 1987, Sari *et al*., 2016).

2.3.6. Uji Pertumbuhan Khamir pada Media Cair

Uji pertumbuhan media cair dengan menggunakan media GPY cair untuk mengamati ciri pertumbuhan isolat khamir pada media cair GPY, seperti keberadaan cincin dan pelikel pada permukaan media, serta endapan pada dasar media (Nurhariyati, 2004).

2.4. Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan data kualitatif yang diperoleh dari hasil penelitian yang dikaji secara deskriptif. Data dibuat dalam bentuk tabel deskriptif meliputi karakter morfologi koloni khamir, morfologi sel khamir dan aktifitas fisiologi yang menunjukan kemiripan karakter genus khamir berdasarkan acuan *The Yeast a Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 1998).

3. Hasil

3.1. Karakteristik Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis, Reproduksi Seksual serta Ciri Fisiologis dan Biokimia dari Khamir yang Berasal dari Ragi Tape yang Terbuat dari Tepung Beras Putih (*Oryza sativa* L.)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dilihat bahwa pada morfologi koloni semua isolat. Sepuluh isolat khamir memiliki bentuk koloni bulat, dan dua isolat yang memiliki bentuk koloni tidak beraturan dan bentuk oval yaitu pada isolat (S2.E1 dan SE.E1), serta memiliki tepian isolat yang rata pada 10 isolat, dan bergelombang pada dua isolat yaitu isolat (S2.E1 dan S2.E3). tekstur licin, berwarna putih dan krem, elevasi cembung, pada tepian terlihat rata dan bergelombang, memiliki diameter koloni dengan interval 0,9-7 mm.

Morfologi sel khamir memiliki bentuk sel bulat, oval dan memanjang, tipe pertunasan multilateral dan hasil uji askospora menunjukkan bahwa semua isolat yang diperoleh termasuk dalam *yeast Ascomycetes*, yaitu golongan *yeast* yang dapat membentuk askospora, memiliki kapsul, pada uji fermentasi gula semua isolat mampu memfermentasi gula glukosa dan sukrosa tetapi tidak pada laktosa, dan pada uji pertumbuhan media cair GPY terdapat endapan berwarna putih pada dasar media dan terlihat adanya keberadaan pelikel pada permukaan media . Karakter lebih lanjut dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Karakteristik morfologi koloni sel, reproduksi sel, dan uji fisiologis khamir

No.	Karakteristik	Kode Isolat					
		S1.E1	S1.E2	S1.E3	S1.E4	S2.E1	S2.E2
1.	Morfologi koloni khamir						
	Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Tidak beraturan	Bulat
	Tekstur	Licin	Licin	Licin	Licin	Licin	Licin
	Warna	Putih	Krem	Putih	Krem	Putih	krem
	Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung
	Tepian	Rata	Rata	Bergelombang	Rata	Rata	Rata
	Diameter (mm)	2-5 mm	0,9-4 mm	3,1-5 mm	2,5-5 mm	2,6- 4,5 mm	5-7 mm
2.	Morfologi sel khamir						
	Bentuk sel	Bulat	Bulat, oval dan memanjang	Bulat oval	Bulat, oval dan memanjang	Bulat oval	Bulat, oval dan memanjang
	Pertunasan	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler
	Hifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa
	Tipe spora	Askospora	Askospora	Askospora	Askospora	Askospora	Askospora
3.	Pewarnaan gram	+	+	+	+	+	+
4.	Uji kapsul	+	+	+	+	+	+
5.	Uji fermentasi gula						
	Glukosa	+	+	+	+	+	+
	Sukrosa	+	+	+	+	+	+
	Laktosa	-	-	-	-	-	-
6.	Uji pertumbuhan pada media cair	Tumbuh didasar, endapan putih	Tumbuh didasar]endapan putih	Tumbuh didasar, endapan putih	Tumbuh didasar endapan putih	Tumbuh didasar dan permukaan warna krem	Tumbuh didasar dan permukaan, endapan putih
7.	Hasil identifikasi	*Saccharomyces*	*Saccharomyces*	*Pichia*	*Saccharomyces*	*Kluyveromyces*	*Pichia*

Keterangan: (+) : positif; (-) : negatif

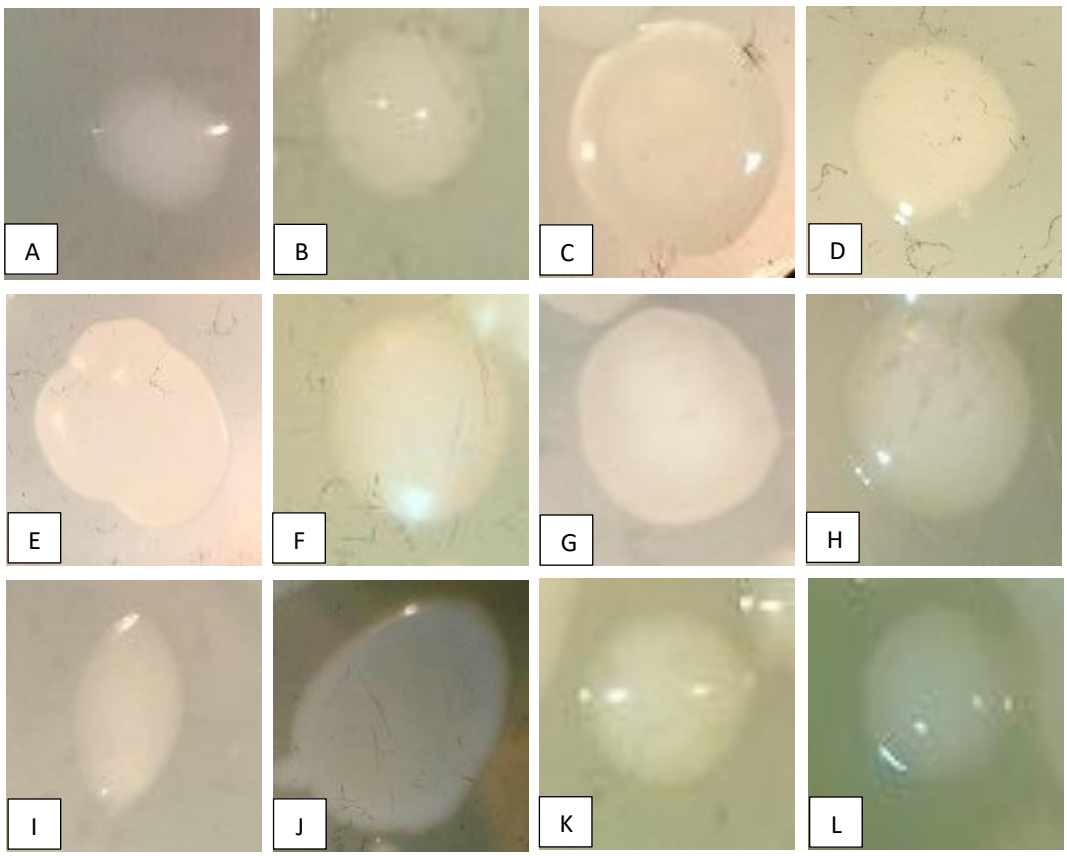
Tabel 3.1 Karakteristik morfologi koloni sel, reproduksi sel, dan uji fisiologis khamir (lanjutan)

No.	Karakteristik	Kode Isolat					
		S2.E3	S2.E4	S2.E5	S3.E1	S3.E2	S3.E3
1.	Morfologi koloni khamir						
	Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
	Tekstur	Licin	Licin	Licin	Licin	Licin	Licin
	Warna	Krem	Krem	Putih	Krem	Krem	Putih
	Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung
	Tepian	Bergelombang	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata
	Diameter (mm)	3-7 mm	2,3-2,4 mm	2-2,4 mm	1,8-3,3 mm	3,6- 4,5 mm	2,3-2,8 mm
2.	Morfologi sel khamir						
	Bentuk sel	Bulat	Bulat oval	Bulat, oval dan memanjang	Memanjang	Bulat oval	Bulat
	Pertunasan	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler	Multiseluler
	Hifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa	Pseudohifa
	Tipe spora	Askospora	Askospora	Askospora	Askospora	Askospora	Askospora
3.	Pewarnaan gram	+	+	+	+	+	+
4.	Uji kapsul	+	+	+	+	+	+
5.	Uji fermentasi gula						
	Glukosa	+	+	+	+	+	+
	Sukrosa	+	+	+	+	+	+
	Laktosa	-	-	-	-	-	-
6.	Uji pertumbuhan pada media cair	Tumbuh didasar, endapan putih	Tumbuh didasar, endapan putih	Tumbuh didasar dan permukaan, endapan putih	Tumbuh didasar, endapan putih	Tumbuh disasar dan permukaan, endapan putih	Tumbuh didasar, endapan putih
7.	Hasil identifikasi	*Pichia*	*Saccharomyces*	*Saccharomyces*	*Kluyveromyces*	*Pichia*	*Saccharomyces*

Keterangan : (+): positif; (-): negatif

3.2. Karakteristik Morfologi Makroskopis Bentuk Koloni Khamir

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan khamir hasil isolasi pada ragi tape yang terbuat dari tepung beras putih diperoleh 12 isolat khamir yang diidentifikasi berdasarkan karakter makroskopis, dapat dilihat pada gambar 3.1.



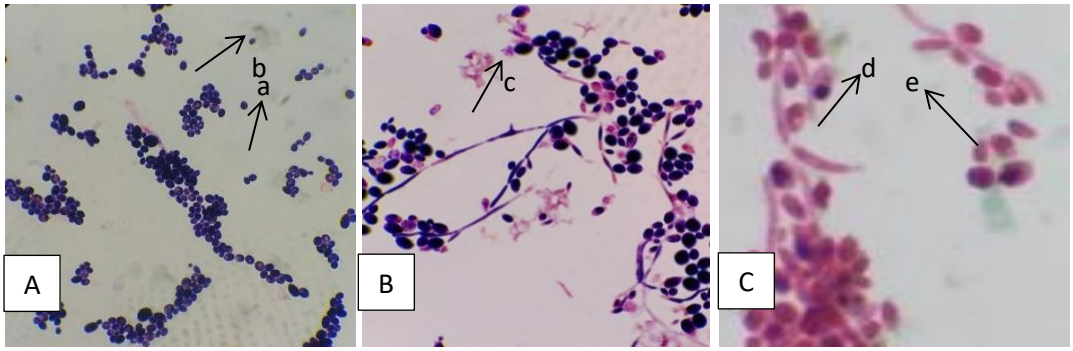
Gambar 3.2 Koloni tunggal isolat khamir. A. S1.E1(2-5 mm); B.S1.E2 (0,9 - 4 mm); C. S1.E3 (3,1-5 mm); D. S1.E4 (2,5-5 mm); E. S2.E1 (2,6 - 4,5 mm); F. S2.E2 (5-7 mm); G. S2.E3 (3-7 mm); H. S2.E4 (2,3- 2,4 mm); I. S2.E5 (2-2,4); J. S3.E1(1,8-3,3 mm); K.S3.E2 (3, - 4,5 mm).

Berdasarkan karekter morfologi makroskopis bentuk koloni khamir memiliki ciri morfologi yang sama yaitu tekstur licin, elevasi cembung, berwarna putih hingga krem, terdiri dari sepuluh isolat yang memiliki bentuk koloni bulat dan dua isolat yang memiliki bentuk koloni tidak beraturan dan bentuk oval yaitu pada isolat (S2.E1 dan SE.E1), serta memiliki tepian isolat yang rata pada 10 isolat, dan bergelombang pada dua isolat yaitu isolat (S2.E1 dan S2.E3).

3.3. Karakteristik Morfologi Mikroskopis Bentuk Sel

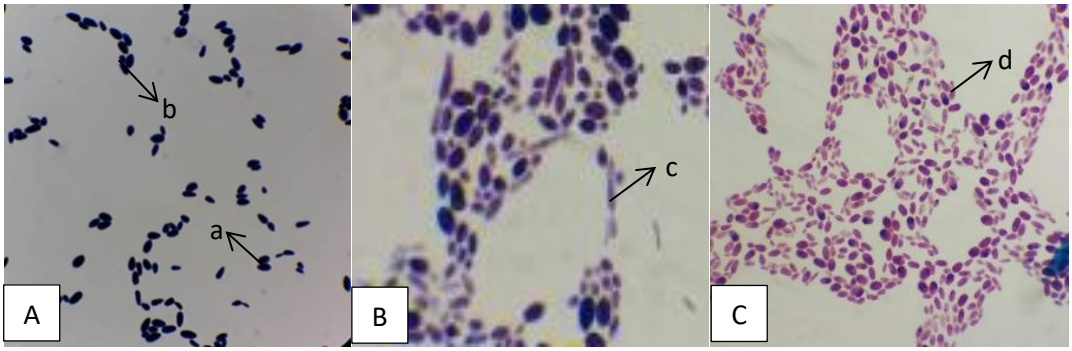
Berdasarkan karakteristik mikroskopis morfologi sel khamir, reproduksi seksual serta uji fisiologis dan biokimia, khamir pada ragi tape tersebut diidentifikasi berdasarkan buku acuan "*The Yeast a Taxonomy Study*" terdapat tiga genus isolat

khamir yang terdiri dari genus *Pichia*, *Saccharomyces* dan *Kluyveromyces*, genus tersebut dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



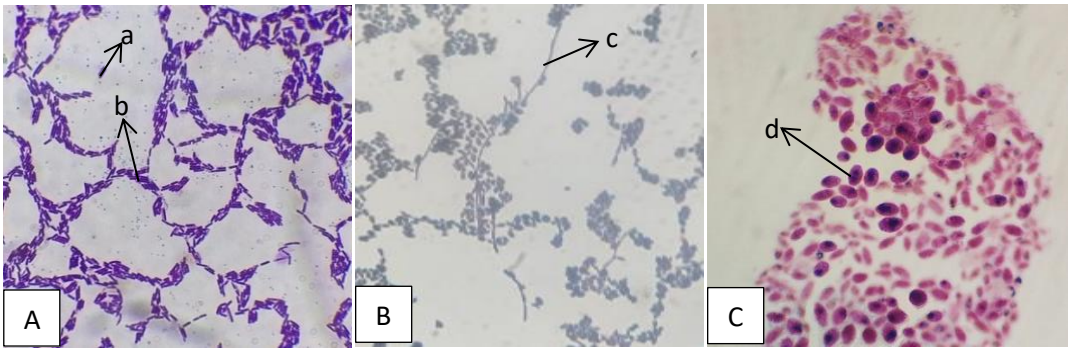
Gambar 3.3 Uji pewarnaan gram isolat (A). S1.E1, (B). S1.E2, dan uji Askospora (C). S1.E1 pada Sel Khamir Genus *Saccharomyces* ; a). Pertunasan (*budding cell*) ;b). Pertunasan multilateral ; c). Pseudohifa ; d). Sel vegetatif; e). Askospora. Perbesaran 10 x 100

Morfologi genus *Saccharomyces* pada pewarnaan gram sel khamir (perbesaran 10 x 100) isolat S1.E1 dan S2.E2 memiliki bentuk sel bulat, terlihat adanya pertunasan (*budding cell*), membentuk pseudohifa yang terlihat memanjang, memiliki reproduksi yang aseksual dengan perbanyakan tunas multilateral, dan reproduksi seksual dengan askospora, terlihat jelas sel vegetatif pada uji askospora. Morfologi tersebut sama seperti yang di kemukakan oleh Kurtzman dan Fell (1998) tentang genus *Saccharomyces*.



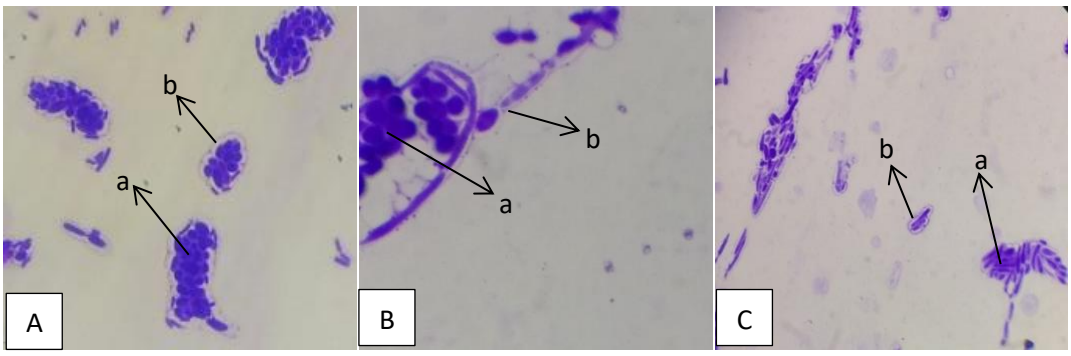
Gambar 3.3 Uji pewarnaan gram isolat (A). S2.E3, (B). S3.E2, dan uji Askospora(C). S2.E3 pada Sel Khamir Genus *Pichia* ; a). Pertunasan (*budding cell*) ; b). Pertunasan multilateral ; c). Pseudohifa ; d). Askospora. Perbesaran 10 x 100

Morfologi genus *Pichia* pada pewarnaan gram sel khamir (perbesaran 10 x 100) isolat S2.E3 dan S3.E2 memiliki bentuk sel bulat oval, terlihat adanya pseudohifa namun tidak terlalu jelas, juga memiliki reproduksi yang aseksual dengan perbanyakan tunas multilateral, dan reproduksi seksual dengan askospora. Morfologi tersebut sama seperti yang di kemukakan oleh Kurtzman dan Fell (1998) tentang genus *Pichia*.



Gambar 3.4 Uji pewarnaan gram isolat (A). S3.E1, (B). S2.E1, dan uji Askospora (C). S2.E1 pada Sel Khamir Genus *Kluyveromyces*; a) Pertunasan (*budding cell*); b). Pertunasan multilateral; c). Pseudohifa; d). Askospora. Perbesaran 10 x 100

Morfologi genus *Kluyveromyces* pada pewarnaan gram sel khamir (perbesaran 10 x 100) isolat S3.E1 dan S2.E1 memiliki bentuk sel memanjang, terlihat adanya pseudohifa namun tidak terlalu jelas, memiliki reproduksi yang aseksual dengan perbanyakan tunas multilateral, dan reproduksi seksual dengan askospora. Morfologi tersebut sama seperti yang di kemukakan oleh Kurtzman dan Fell (1998) tentang genus *Kluyveromyces.*



Gambar 3.5 Uji Kapsul isolat khamir (A). genus *Saccharomyces* (B). *Pichia* (C). *Kluyeromyces* ; (a). Sel khamir, (b). Kapsul. Perbesaran 10 x 100

Uji kapsul dilakukan karena ada beberapa khamir yang memiliki kapsul, sehingga sangat perlu untuk identifikasi. Jika khamir memiliki kapsul maka dengan pewarnaan kristal violet dan tembaga sulfat, kapsul akan tampak sebagai lingkaran yang berwarna biru pucat mengelilingi sel-sel khamir yang berwarna biru tua sampai ungu (Larone, 1993). Berdasarkan dari hasil pewarnaan uji kapsul yang telah dilakukan pada kamir yang berasal dari tepung beras putih (*Oryza sativa* L.) menunjukkan bahwa ketiga genus isolat yaitu *Saccharomyces*, *Pichia* dan *Kluyeromyces* memiliki kapsul yang terlihat mengelilingi sel khamir.

4. Pembahasan

Penelitian berhasil mengisolasi 12 isolat khamir dari tepung beras putih. Isolat tersebut teridentifikasi sebagai genus *Sacharomyces, Pichia,* dan *Kluyveromyces* berdasarkan karakter makroskopis, mikroskopis, reproduksi sel dan uji fisiologis (Tabel 3.1). Semua isolat khamir memiliki diameter koloni yang bervariasi yaitu interval 3-7 mm pada genus *Pichia* , interval 2,6-3 mm untuk *Kluyveromyces*, dan interval 0,9-5 mm untuk genus *Saccharomyces*.

Berdasarkan hasil penelitian isolat khamir genus *Saccharomyces* memiliki bentuk koloni bulat, bertekstur licin, berwarna putih, elevasi cembung (*convex*), tepian rata, dan memiiki diameter koloni terkecil. Sel khamir pada genus *Saccharomyces* berbentuk bulat, oval, dan memanjang, membentuk pseudohifa yang memanjang. Struktur sel tunggal, berpasangan, dan berkelompok, reproduksi aseksual dengan pertunasan multilateral, dan reproduksi seksual membentuk askospora dan terlihat jelas sel vegetatif yang berbentuk memanjang. Isolat-isolat tersebut mampu melakukan fermentasi dengan cepat pada gula glukosa dan sukrosa, dan tidak bisa memfermentasi pada gula laktosa. Pertumbuhan pada media cair GPY tumbuh pada dasar media yag terdapat endapan yang berwarna putih, sedangkan pada permukaan media tidak membentuk pelikel atau cincin, mampu tumbuh pada suhu 30°C dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli*. Berdasarkan hasil pengamatan terdapat kemiripan antara isolat khamir S1.E1 ; S1.E2 ; S1.E4 ; S2.E4 ; S2.E5 ; dan S3.E3 dengan genus *Saccharomyces*.

Menurut Kurtzman dan Fell (1998), isolat khamir Genus *Saccharomyces* memiliki morfologi koloni yang berbentuk bulat, berwarna putih dan krem, tekstur licin, permukaan halus dan kusam, elevasi cembung, sedikit menonjol, terlipat, dan datar. Sel yang berbentuk bulat, oval atau silinder memanjang, pseudohifa dapat terbentuk namun tidak dapat membentuk hifa sejati. Struktur dengan sel tunggal, berpasangan, dan berkelompok, reproduksi aseksual dengan perbanyakan tunas multilateral, dan reproduksi seksual dengan askospora, pada fermentasi gula, isolat tersebut mampu memfermentasi dengan cepat pada glukosa dan sukrosa. Pertumbuhan pada media cair terdapat endapan putih/krem, dan tidak terdapat pelikel dan lingkaran cincin pada permukaan media.

Menurut Fakruddin *et al.* (2013), genus *Saccharomyces* berdasarkan morfologi koloni, morfologi sel vegetatif secara makroskopis dan fisiologi memiliki karakter koloni yang bertekstur licin dan berwarna putih, sedangkan secara mikroskopis sel vegetatif berbentuk bulat, oval dan memanjang, ada askospora dan memiliki tipe pertunasan multilateral, isolat *Saccharomyces* dapat menghasilkan pseudohifa yang berbentuk memanjang, secara fisiologis khamir *Saccharomyces* mampu memfermentasi gula glukosa, sukrosa dan fruktosa namun tidak memfermentasi gula laktosa. Pada penelitian ini terdapat genus *Saccharomyces* yang paling banyak di temukan.

Pada genus *Pichia* dicirikan koloni isolat khamir berbentuk bulat, bertekstur licin, berwarna putih dan krem, elevasi cembung, dan memiliki diameter koloni

terbesar. Isolat tersebut memiliki bentuk sel bulat, oval dan memanjang, bereproduksi dengan pertunasan multilateral dan membentuk askospora. Struktur sel tunggal, berpasangan, rantai, dan berkelompok, dan mampu melakukan fermentasi pada gula glukosa dan sukrosa, dan tidak dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas, dapat membentuk pseudohifa yang hampir tidak terlihat jelas. Pertumbuhan pada media cair GPY tumbuh di dasar media yang terdapat endapan (sedimen) berwarna putih, dan di permukaan media yang terdapat pelikel dan terlihat keberadaan cincin, karakteristik mikroskopis tersebut dimiliki oleh isolat khamir S1.E3 , S2.E2, S2.E3, dan S3.E2. yang diduga sebagai genus *Pichia* (tabel 4.1).

Menurut Kurtzman dan Fell (1998), Genus *Pichia* memiliki bentuk sel bulat, oval atau bulat telur memanjang. Elevasi cembung dengan tepian rata, sering membentuk pseudohifa namun jarang membentuk hifa sejati. Struktur sel tunggal, berpasangan, rantai, dan berkelompok. Reproduksi aseksual dengan pertunasan multilateral dan secara seksual dengan askospora (1-4 peraskus), mampu melakukan fermentasi pada gula glukosa, tumbuh didasar dan permukaan pada uji media cair, yang terdapat endapan (sedimen) pada dasar media dan membentuk pelikel dan terlihat keberadaan cincin pada permukaan media cair.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdapat juga kesamaan morfologi koloni dari penelitian Kadhim *et al.* (2019) morfologi koloni yang ditumbuhkan pada media padat, morfologi pada genus *Pichia* berwarna putih dan krem, permukaan kusam, tepian tidak beraturan, dan bentuk sel bulat telur memanjang, elevasi datar dan cembung. Struktur sel tunggal, berpasangan, berantai atau berkelompok terbentuk dari sel tunggal, askospora 1-4 peraskus, isolat khamir ini juga mampu tumbuh pada suhu 37°C sesuai dengan suhu tubuh manusia, hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa strain khamir dari genus *Pichia* ini dapat tumbuh pada suhu 37°C (Wulan *et al*, 2021).

Isolat khamir yang memiliki koloni berbentuk bulat, bertekstur licin, berwarna krem, elevasi cembung, tepian rata, dengan diameter koloni interval antara 1,8-3,3 mm, memiliki bentuk sel bulat, oval, dan memanjang terlihat adanya pseudohifa, reproduksi aseksual dengan pertunasan multilateral dan reproduksi seksual dengan askospora, pertumbuhan pada media cair GPY tumbuh pada dasar media yang terdapat endapan (sedimen) bewarna krem, dan pada permukaan media terbentuk pelikel. Isolat ini mampu melakukan fermentasi glukosa dan sukrosa, namun tidak pada laktosa, dan dapat menghasilkan gas. Berdasarkan hasil pengamatan terdapat kemiripan pada isolat S2.E1 dan S3.E1 dengan genus *Kluyveromyces*.

Menurut Kurtzman dan Fell (1998), Genus *Kluyveromyces* memiliki koloni berbentuk bulat berwarna krem kecoklatan, dan kadang merah muda, tekstur licin, permukaan kusam, halus atau keriput. Pertumbuhan pada media cair terdapat pelikel dan endapan. Sel yang berbentuk bulat telur, elips, silinder, sampai memanjang. Formasi sel tunggal, berpasangan, dan berkelompok dan dapat membentuk

pseudohifa. Hifa sejati tidak terbentuk. Reproduksi aseksual dengan pertunasan multilateral dan secara seksual dengan askospora (1-4 atau lebih per askus). Satu sampai empat, atau pada beberapa spesies, banyak askospora yang terbentuk per askus. Askospora dibebaskan pada saat dewasa dan genus tersebut mampu melakukan fermentasi pada gula glukosa dan sukrosa.

Menurut Moradi *et al.* (2018), menyatakan bahwa karakteristik genus *Kluyveromyces* memiliki koloni berwarna krem dan bertekstur licin dengan permukaan kusam, bentuk sel vegetatif secara mikroskopis berbentuk bulat telur, elips, silinder dan memanjang dengan tipe pertunasan multilateral, genus *Kluyveromyces* memiliki askospora (1-4 peraskus) dan pseudohifa tidak terlihat jelas, secara fisiologis mampu memfermentasi glukosa.

Khamir yang paling umum digunakan yaitu dari genus *Saccharomyces cerevisiae* dalam industri makanan terutama dalam pembuatan roti, tape dan produksi minuman beralkohol seperti bir yang digunakan dalam bentuk ragi, pada pembuatan roti *Saccharomyces cerevisiae* berperan sebagai penghasil gas yang akan mengembangkan adonan sehingga bentuk roti menjadi mengembang dan berpori-pori, pada proses fermentasi dengan melibatkan *Saccharomyces* dengan cara mengubah gula dan menghasilkan alkohol, karbondioksida dan energi (ATP). *Saccharomyces cerevisiae* mengandung enzim maltase yang mengubah maltosa menjadi glukosa, pada pembuatan minuman beralkohol *Saccharomyces cerevisiae* akan mengubah glukosa menjadi etanol (Fardiaz, 1992).

Menurut Barnet dan Pankhurst (2000), proses fermentasi yang melibatkan genus *Kluyveromyces* yang berperan dalam memfermentasi laktosa, glukosa dan galaktosa, dengan menggunakan nitrat dan nitrit negatif, genus khamir dapat bertahan dalam media yang mengandung etanol dan gliserol, mampu menghasilkan enzim beta-galaktosidase yang digunakan untuk menurunkan kandungan laktosa susu.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Edhi Nurhartadi dan Endang Sutriswati Rahayu (2011), tentang isolasi dan identifikasi yeast amilolitik dari ragi tape terdapat tiga isolat yang berbeda terdiri dari *Debaryomyces vanriji, Saccharomycopsis fibuligera* dan *Pichia burtonii.* Penelitian Mira *et al*. (2017), tentang identifikasi kapang khamir pada penyimpanan tape ketan putih (*Oryza sativa glutinosa*) dengan penambahan air perasan daun katuk (*Sauropus androgynus*) diperoleh jenis khamir yaitu *Saccharomyces cerevisiae, p*ada tape ketan melibatkan proses fermentasi yang dilakukan oleh *Saccharomyces cerevicae* yang memiliki kemampuan dalam mengubah karbohidrat (fruktosa dan glukosa) menjadi alkohol dan karbondioksida, selain *Saccharomyces cerevicae*, dalam pembuatan tape ini juga terlibat mikroorganisme lainnya, seperti *Mucor chlamidosporus* dan *Endomycopsis fibuligera*, kedua mikroorganisme ini membantu dalam mengubah pati menjadi gula sederhana (glukosa), selain itu terdapat juga *Aspergilus niger yang* berperan dalam fermentasi tape

yang mengandung asam sitrat yang berfungsi sebagai enzim untuk merangsang kinerja organ hati sehingga memaksimalkan proses *detoxs* (pengeluaran racun-racun) pada tubuh (Gandjar dkk, 2006).

5. Kesimpulan dan Saran

Penelitian berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi 12 isolat yang terdiri dari genus *Saccharomyces (*6 isolat), *genus Pichia* (4 isolat) dan *Kluyveromyces (*2 isolat). Genus yang paling banyak ditemukan pada penelitian ini yaitu *Saccharomyces*, karena secara umum genus *Saccharomyces* tersebut menjadi bahan utama dalam membantu proses fermentasi pada ragi.

Penelitian menyarankan agar dapat menginventarisasi mikroorganisme lainnya yang terdapat pada ragi tersebut untuk mengetahui jenis mikroorganisme dari setiap isolat yang ditemukan.

Daftar Pustaka

Baskhara, I, N., 2014, Pengaruh Jenis Tepung dan Konsentrasi Ragi Tape (*Saccharomyces cerevisiae*), Tugas Akhir, Prodi Teknologi Pangan. Universitas Pasundan, Bandung.

Berlian, Z., Aini1, F., & Ulandari, R. 2016. Uji Kadar Alkohol pada Tapai Ketan Putih dan Singkong Melalui Fermentasi dengan Dosis Ragi yang Berbeda Zainal. *Jurnal Biota*, 2(1), 106–111.

Barnett, J.A. & Pankhurst, R.J. 2000. The Yeast. North- Holland. Publishing Company.

Fakruddin, M, Hossain, MN, dan Ahmed, MM, 2017, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, A Potential Probiotic, *MBC Complementary and Alternative Medicine*, 17 (64): 1-11

Fardiaz, S, 1992, Mikrobiologi Pangan *I*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta

Gandjar, I, Sjamsuridzal, W, dan Oetari, A, 2006, Mikologi Dasar dan Terapan, Yayasan Obor Indonesia, Jakarta

Haryadi. 2013. Analisa Kadar Alkohol Hasil Fermentasi Ketan Dengan Metode Kromatografi Gas dan Uji Aktifitas *Saccharomyces Cereviceae* Secara Mikroskopis. Universias Diponegoro: Semarang. [*Skripsi*]. Diakses Pada Tanggal 7 Maret 2019 Pukul 13.11 Wita Di Makassar.

Hatoum, R, Labrie, S, dan Fliss, I, 2012, Review Article: Antimicrobial and Probiotic Properties of Yeasts from Fundamental to Novel Applications, *Frontier in Microbiology*, 3: 1-12

Kadhim, RA, Al-Saadoon, AH, dan Al-Mahmoud, WA, 2019, Morphological and Phylogenetic Identification of Pichia Species Associated with Foods in Basrah, Iraq, *Basrah Journal of Science*, 37 (2): 223- 236

Kurtzman, CP, dan Fell, JW, 1998, The Yeast A Taxonomy Study, Elvesier, New York

Kurtzman, CP, dan Fell, JW, 2006, Yeast Systematics and Phylogeny: Implications of Molecular Identification Methods for Studies in Ecology, In C. Rosa, dan G. Péter (Eds.), *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*: *The Yeast Handbook*, Springer, New York

Liu, WC, Gong, T, Wang, QH, Liang, X, Chen, J-J dan Ping Zhu, 2016, Scaling-up Fermentation of Pichia pastoris to demonstration-scale using new methanol-feeding strategy and increased air pressure instead of pure oxygen supplement, [Scientific Reports] 6:18439

Mahreni dan Suhenry, S, 2011, Kinetika Pertumbuhan Sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media Tepung Kulit Pisang, Universitas Pembangunan Nasional, Yogyakarta

Moradi, R. Nosrati, R, Zare, H, Tahmasabi, T, Saderi, H, & Owlia P, 2018, Screening and Characterization of In-Vitro Probiotic Criteria of Saccharomyces and Kluyveromyces Strains*, Iranian Journal of Microbiology,* 10 (2): 123-131

Nurhariyati, T, 2004, Keanekaragaman Khamir Pendegradasi Minyak Hasil Isolasi dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya, *Berk Penel Hayati*, 9: 87-91

Oliveira, DR, Lopes, ACA, Pereira, RA, Cardoso, PG & Duarte, EF, 2019, Selection of Potentially Probiotic Kluyveromyces lactis for the Fermentationsof Cheese Whey-Based Beverge*, Annals of Microbiology,* 69: 1361-1371.

Suaniti, N.M. 2015. Kadar Etanol dalam Tape sebagai Hasil Fermentasi Beras Ketan (*Oryza sativa glutinosa*) dengan *S. cerevisiae*. *Jurnal* Virgin, 1 (1): 16–19

Van Ooyen, AJJ, Dekter P, Huang M, Olsthoorn MMA, Jacobs ID, Colussi PA, Taron HC, 2006, Heterologous protein production in the yeast *Kluyveromyces lactis*, [FEMS Yeast] Res 6: 381–392

Wulan, R, Astuti, RI, Rukayadi, Y, dan Meryandini, A, 2021, Evaluation of Indigenous Pichia kudriavzevii from Cocoa Fermentation for A Probiotic Candidate, *Biodiversitas*, 22 (3): 1317-1325.