



**SKRINING YEAST MILOLITIK ASAL BUAH DURIAN (*Durio zibethinus*
Murr.) DAN SAWO (*Manilkara zapota* L.)**

SKRIPSI

Oleh

TAMIMUL BADRIYA

181810401008

PROGRAM STUDI SARJANA BIOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS JEMBER

2023



**SKRINING YEAST AMILOLITIK ASAL BUAH DURIAN (*Durio zibethinus*
Murr.) DAN SAWO (*Manilkara zapota* L.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

TAMIMUL BADRIYA

181810401008

PROGRAM STUDI SARJANA BIOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS JEMBER

2023

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

1. Ibunda Subaidah dan Ayahanda Misru tercinta, terima kasih telah menjadi orang tua yang mendidik saya dengan penuh kasih sayang, terimakasih atas segala nasihat, pengorbanan dan dukungan yang diberikan, serta doa-doa tulus yang tiada henti;
2. Kakak Taufiq, Adik zakia, dan Nenek, terima kasih atas segala doa dan dukungan;
3. Guru-guru di TK Darul Falah, SDN Darungan 01, SMPN 2 Tanggul, dan Man 2 Jember, serta seluruh dosen di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember yang telah mendidik dan dan memberikan ilmunya;
4. Almamater tercinta Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

MOTO

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain)

(Terjemahan QS. Al-Insyirah ayat 6-7)^{*)}



^{*)} Hanifah, A.1981.*Tejemah Juz Amma*. Semarang: PT. Karya Toha Putra

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Tamimul Badriya

Nim : 181810401008

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skrining *Yeast* Amilolitik asal Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan Sawo (*Manilkara zapota* L.)” adalah benar-benar karya ilmiah sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sertakan sumbernya dan belum pernah diajukan oleh institusi manapun, serta bukan hasil karya jiplakan. Penelitian ini merupakan salah satu riset penelitian Dr. Kahar Muzakhar, S.si yang didanai oleh Internal PT. Hibah Inovasi Industri 2021. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi karya ilmiah ini sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 November 2022
Yang menyatakan,

(Tamimul Badriya)

NIM 181810401008

SKRIPSI

**SKRINING YEAST MILOLITIK ASAL BUAH DURIAN (*Durio zibethinus*
Murr.) DAN SAWO (*Manilkara zapota* L.)**

Oleh

Tamimul Badriya

Nim 181810401008

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Kahar Muzakhar, S.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Skrining *Yeast* Amilolitik asal Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan Sawo (*Manilkara zapota* L.)” karya Tamimul Badriya telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim Penguji

Ketua,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.
NIP 19680503199401101

Anggota II,

Dr. Siswanto, M.Si.
NIP 196012161993021001

Anggota I,

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP 196008161989021001

Anggota III,

Dr. Sutoyo, M.Si.
NIP 196610141992031002

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.
NIP 195910091986021001

RINGKASAN

Skrining *Yeast* Amilolitik asal Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan Sawo (*Manilkara zapota* L.); Tamimul Badriya; 181810401008; 43 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Yeast merupakan fungi yang memiliki bentuk uniseluler dengan panjang bervariasi sekitar 2-3 μm . *Yeast* dapat bereproduksi secara aseksual melalui tunas (*budding*), pembelahan (*fission*) dan secara seksual. Habitatat *yeast* di alam dapat ditemukan di tanah air, hewan, dan insekta., tumbuhan (biji, daun, bunga, buah). *Yeast* amilolitik merupakan mikroorganisme yang mampu tumbuh pada substrat yang mengandung amilum sebagai sumber karbon utama. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *yeast* amilolitik dapat diperoleh dari buah durian dan sawo. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan *yeast* amilolitik dari buah durian dan sawo, penelitian ini juga bertujuan untuk mengkarakterisasi isolat *yeast* amilolitik secara makroskopis dan mikroskopis.

Penelitian ini diawali dengan tahap isolasi, sampel yang digunakan adalah buah durian dan sawo yang telah matang. Isolasi dilakukan menggunakan metode *spread plate* yang ditumbuhkan pada media *Peptone Yeast Glukosa* (PYG) padat 10%. Skrining *yeast* dilakukan dengan uji semi kuantitatif (zona bening) dan uji kuantitatif. Uji semi kuantitatif dan uji kuantitatif bertujuan untuk mengetahui *yeast* yang menghasilkan enzim amilase.

Hasil isolasi didapatkan delapan isolat *yeast* yaitu S1, S2, S3, S4, S5, D1, D2, dan D3. Uji semi kuantitatif menunjukkan bahwa delapan isolat *yeast* yang diperoleh tidak terdeteksi adanya zona bening (samar) disekitar koloni. Uji kuantitatif menunjukkan bahwa isolat S1 memiliki aktivitas amilase paling tinggi yaitu sebesar 0.272 ± 0.15 U/ml, sedangkan isolat D3 memiliki aktivitas amilase terendah yaitu sebesar 0.029 ± 0.02 U/ml. Pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa delapan isolat memiliki bentuk koloni, tekstur, warna, permukaan elevasi, dan margin yang berbeda. Berdasarkan karakter mikroskopis delapan isolat *yeast*

memiliki bentuk sel yang bervariasi yaitu bulat dan oval. Delapan isolat memiliki perkembangan reproduksi secara asexual dengan *budding cell* dan secara seksual dengan askospora.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah swt. yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Skrining *Yeast* Amilolitik asal Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan Sawo (*Manilkara zapota* L.)”. Skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata (S-1) di jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. Skripsi ini ditulis berdasarkan penelitian di laboratorium dan studi literatur dari berbagai sumber. Penyusun skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan saran dan masukan selama penelitian sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan;
2. Dr. Siswanto, M.Si. dan Dr. Sutoyo, M.Si. selaku Dosen Penguji I dan II yang telah memberikan kritik saran dalam penelitian dan penulisan naskah skripsi;
3. Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik atas segala ilmu, bimbingan, dan arahan selama penulis menjadi mahasiswa
4. Seluruh dosen Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember yang telah mendidik dan memberikan ilmu pengetahuan selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Ir. Endang Soesetyaningsih, selaku PLP Mikrobiologi yang telah memberikan banyak bantuan selama penulis melakukan penelitian ini;
6. Kedua orang tua Ibunda Subaidah dan Ayahanda Misru, serta keluarga besar yang turut memberikan kasih sayang, doa, motivasi dan dukungan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi;
7. Tim riset “Enzim” Rosa Amelia, Viara Septaninda Sugianto, Dwi Fjarwati R., Finda Rahmawati, dan Dewi Fitriana Rommadani yang telah banyak membantu dan memberikan motivasi selama penelitian;

8. Kakak tingkat Azizah, S.Si., M.Si., Farah Salma Elida, S.Si., M.Si., Ramdhan Putrasetya, S.Si., M.Si., Nadhea Ayu Sukma, S.Si. yang telah membimbing dan memberikan saran selama penelitian;
9. Teman-teman angkatan Biologi 2018 “ORCA” atas dukungan dan pengalaman yang berkesan selama duduk dibangku perkuliahan di FMIPA, Universitas Jember;
10. Semua pihak yang telah membantu dalam mencari bahan penelitian ini sehingga dapat terselesaikan;
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas segala bantuan dan kontribusi demi kelancaran penyusunan sripsi ini.

Kritik dan saran dari semua pihak sangat diperlukan demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis mengucapkan mohon maaf atas segala kesalahan dan mengucapkan terima kasih. Semoga skripsi ini dapat memberikan ilmu yang bermanfaat bagi para pembaca.

Jember, 29 November 2022

Penulis

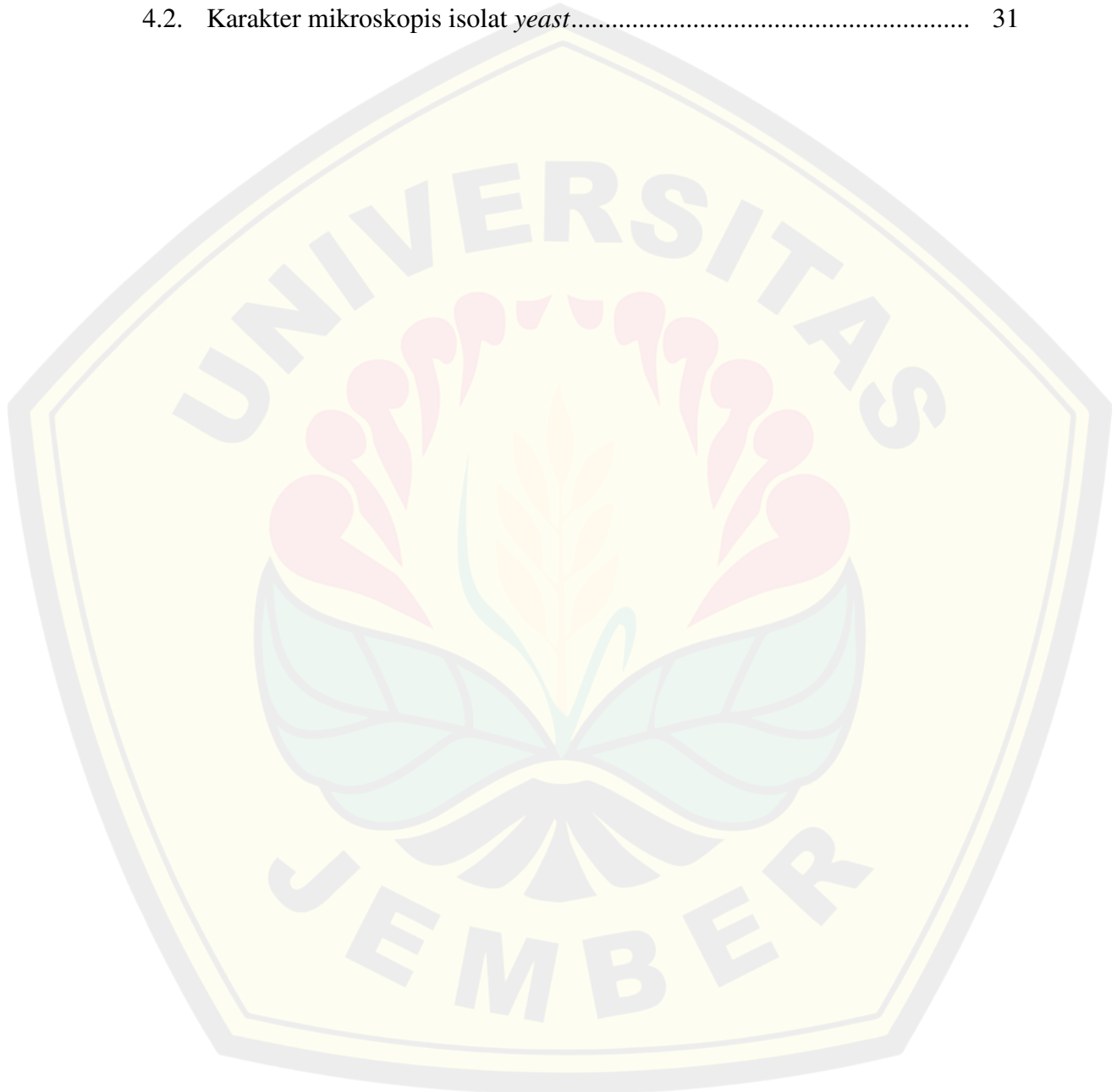
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan.....	2
1.5 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Yeast.....	4
2.2 Amilum.....	6
2.3 Hidrolisis Amilum dan Fermentasi	8
2.4 Buah Durian (<i>Durio zibenthisnus</i> Murr.).....	9
2.5 Buah Sawo (<i>Manilkara zapota</i> L.).....	11
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	12
3.2 Alat dan Bahan.....	12

3.3 Rancangan Penelitian	12
3.4 Isolasi <i>Yeast</i> Amilolitik	14
3.4.1 Persiapan isolasi.....	14
3.4.2 Isolasi <i>Yeast</i>	14
3.4.3 Pemurnian Isolat	15
3.5 Skrining <i>Yeast</i> Amilolitik	15
3.5.1 Uji Aktivitas Amilolitik Metode Semi Kuantitatif	15
3.5.2 Produksi dan Ekstraksi Enzim	16
3.5.3 Uji Aktivitas Amilase Metode Kuantitatif (Uji <i>Iodine</i>).....	16
3.6 Karakterisasi	18
3.6.1 Karakteristik Makroskopik	18
3.6.2 Karakteristik Mikroskopik.....	19
3.6.3 Analisis Data.....	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Amilase	20
4.2 Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis <i>Yeast</i> Amilolitik	23
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	32
4.1 Kesimpulan	32
4.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1. Preparasi larutan standar amilum untuk kurva standar.....	19
4.1. Karakter morfologi makroskopis isolat <i>yeast</i>	24
4.2. Karakter mikroskopis isolat <i>yeast</i>	31

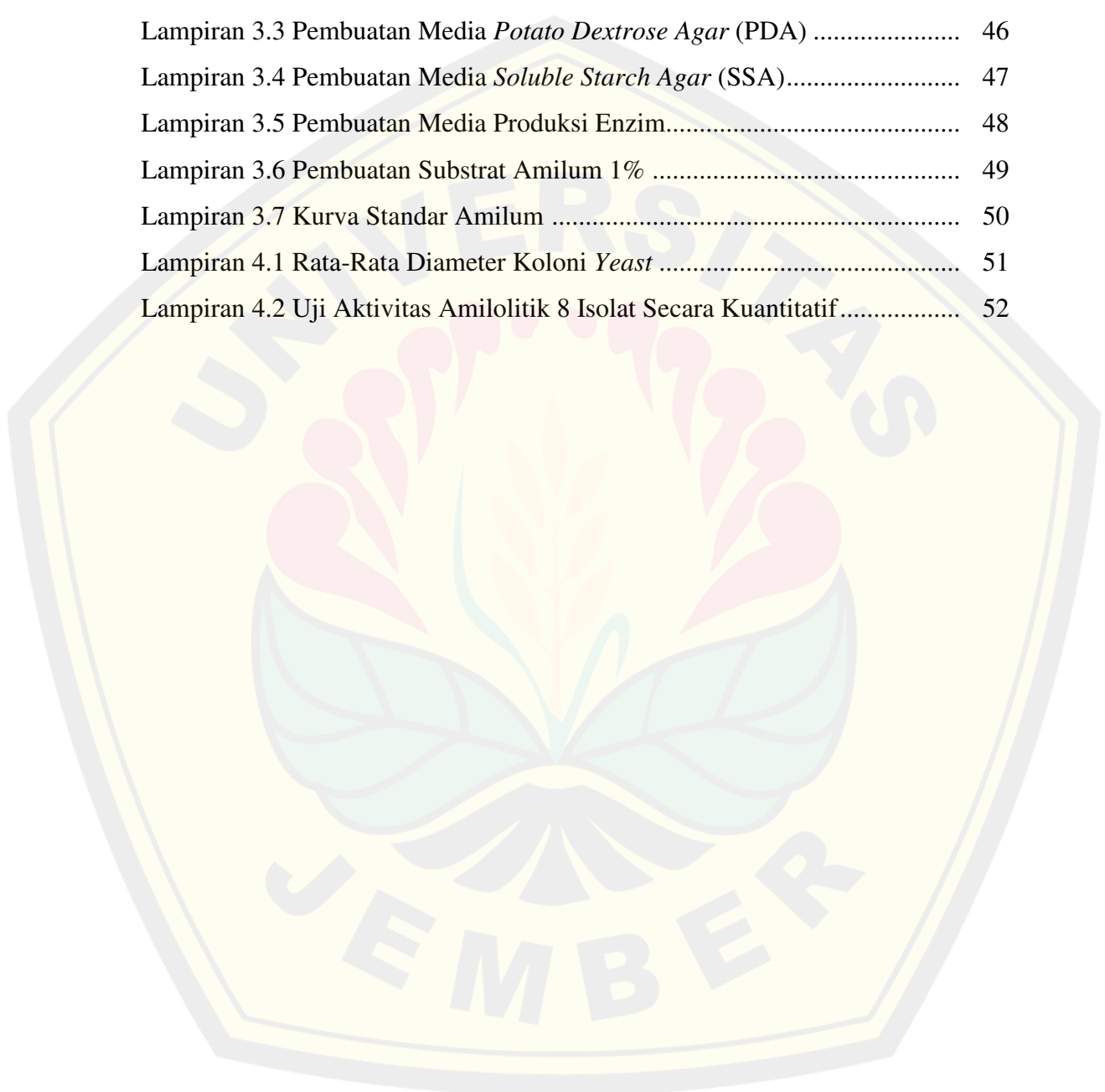


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Sel <i>yeast</i>	4
2.2. Struktur amilum.....	6
2.3. Struktur amilosa dan amilopektin.....	7
2.4. Ikatan α -(1-4) dan α -(1-6) pada molekul amilum.....	8
2.5. Hidrolisis starch menggunakan enzim amilolitik.....	9
2.6. Skema fermentasi.....	9
2.7. Buah durian.....	10
2.8. Buah sawo.....	11
3.1. Rancangan metode penelitian.....	14
4.1 Hasil uji semi kuantitatif.....	22
4.2 Aktivitas enzim amilase isolat <i>yeast</i>	23
4.3 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S1.....	25
4.4 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S2.....	25
4.5 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S3.....	26
4.6 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S4.....	27
4.7 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S5.....	28
4.8 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat D1.....	29
4.9 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat D2.....	29
4.10 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat D3.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3.1 Pembuatan Media <i>Pepton Yeast Glucose</i> (PYG)	44
Lampiran 3.2 Pembuatan Media <i>Pepton Yeast Glucose</i> (PYG) Padat 10 % ...	45
Lampiran 3.3 Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	46
Lampiran 3.4 Pembuatan Media <i>Soluble Starch Agar</i> (SSA).....	47
Lampiran 3.5 Pembuatan Media Produksi Enzim.....	48
Lampiran 3.6 Pembuatan Substrat Amilum 1%	49
Lampiran 3.7 Kurva Standar Amilum	50
Lampiran 4.1 Rata-Rata Diameter Koloni <i>Yeast</i>	51
Lampiran 4.2 Uji Aktivitas Amilolitik 8 Isolat Secara Kuantitatif.....	52



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Yeast atau khamir merupakan kelompok fungi yang berbentuk uniseluler (Oca *et al.*, 2016). Sel *yeast* memiliki ukuran panjang yang bervariasi yaitu 2-3 μm , beberapa spesies dapat mencapai 20-50 μm . *Yeast* memiliki ukuran lebar yang bervariasi sekitar 1-10 μm (Feldman *et al.*, 2012). *Yeast* memiliki bentuk yang bervariasi seperti bulat, *subglobose*, *ellipsoidal*, *ovoidal*, *obovoidal*, silinder, *botuliform*, *bacilliform*, memanjang, apikulat, ogival, bulan sabit, atau segitiga (Kurtzman dan Fell, 1998). *Yeast* bereproduksi secara aseksual (vegetatif) dengan tunas (*budding*), pembelahan (*fission*), dan secara seksual (Joseph dan Bachhawat, 2014; Prihartini dan Ilmi, 2018). *Yeast* dapat diaplikasikan dalam produksi bioetanol (Myburgh *et al.*, 2019), minuman fermentasi seperti *wine* (Yuan *et al.*, 2021), dan produksi *single cell* protein (SCP) (Shafiee *et al.*, 2005).

Yeast amilolitik merupakan mikroorganisme yang mampu tumbuh pada substrat yang mengandung amilum sebagai sumber karbon utama dan akan terbentuk zona degradasi di sekitar koloni (Pascon *et al.*, 2011). *Yeast* amilolitik menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis amilum (Querol dan Fleet, 2006). Amilum merupakan polisakarida utama pada tumbuhan yang tersusun dari polimer glukana, amilosa, dan amilopektin (Cornejo *et al.*, 2018). Tanaman menyimpan amilum di biji, umbi-umbian, akar, empulur, dan buah-buahan (Richter, 1996). Amilum dapat dipecah oleh enzim amilase menjadi gula sederhana seperti glukosa dan maltose (Brahmachari *et al.*, 2016).

Yeast dapat tumbuh di lingkungan terutama pada substrat yang memiliki kandungan gula tinggi misalnya pada buah (De Becze, 1955). Beberapa buah seperti durian dan sawo memiliki kandungan karbohidrat seperti amilum. Buah durian (*Durio zibethinus* Murr.) memiliki kandungan karbohidrat berupa amilum sebesar 17,3% serta kadar total gula mencapai 20,5% (Antarlina, 2009), sedangkan buah sawo memiliki kandungan gula sebesar 16-20% (Putri, 2017; Astawan, 2010).

Buah-buahan memiliki kandungan gula tinggi yang dapat dimanfaatkan oleh *yeast* dalam proses fermentasi. Kandungan gula yang tinggi digunakan oleh *yeast* sebagai sumber nutrisi dan substrat untuk melakukan proses metabolisme dan aktivitas fermentasi. Fermentasi gula digunakan oleh *yeast* untuk memperoleh energi dengan mengubah gula menjadi alkohol (Maicas, 2020). Penelitian terkait *yeast* amilolitik dari buah durian dan sawo belum banyak dilakukan, oleh karena itu diperlukan penelitian terkait skrining pada buah durian dan sawo yang diharapkan dapat memperoleh *yeast* amilolitik. Buah durian dan sawo diduga terdapat *yeast* amilolitik karena pada buah tersebut memiliki aroma alkohol dan kandungan gula yang tinggi yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi oleh *yeast*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang rumusan masalah dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Apakah pada buah durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan sawo (*Manilkara zapota* L.) terdapat *yeast* amilolitik ?
2. Bagaimana karakteristik makroskopis dan mikroskopis *yeast* amilolitik yang diperoleh dari buah durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan sawo (*Manilkara zapota* L.)

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini dibatasi pada penggunaan sampel buah durian dan sawo yang telah matang
2. Buah durian dan sawo yang digunakan adalah buah lokal Kabupaten Jember.
3. Isolat *yeast* yang digunakan yaitu isolat yang tumbuh pada glukosa 10%

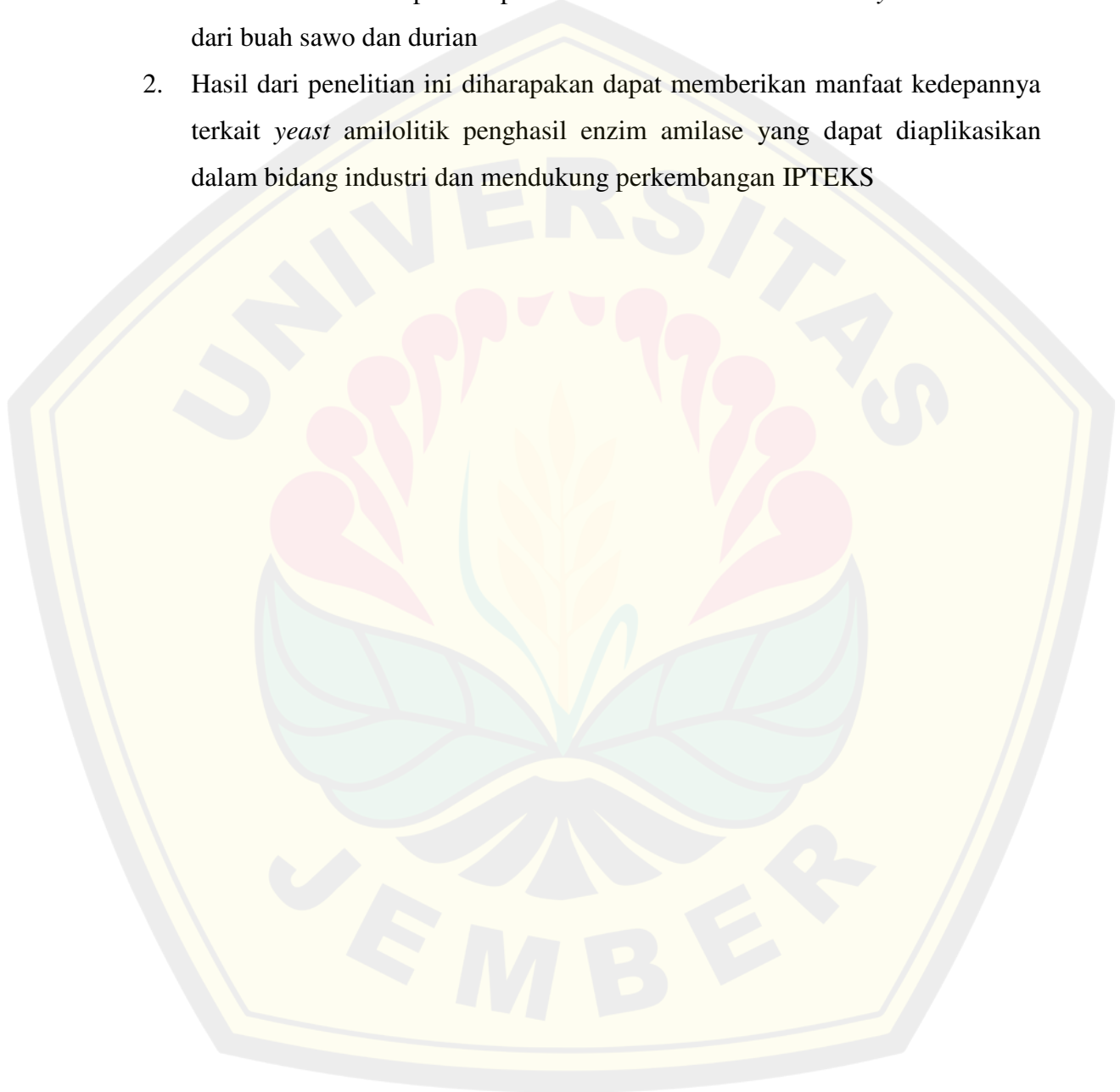
1.4 Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *yeast* amilolitik dari buah durian dan sawo.

2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik makroskopis dan mikroskopis *yeast* amilolitik yang diperoleh dari buah durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan sawo (*Manilkara zapota* L.)

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait *yeast* amilolitik dari buah sawo dan durian
2. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kedepannya terkait *yeast* amilolitik penghasil enzim amilase yang dapat diaplikasikan dalam bidang industri dan mendukung perkembangan IPTEKS

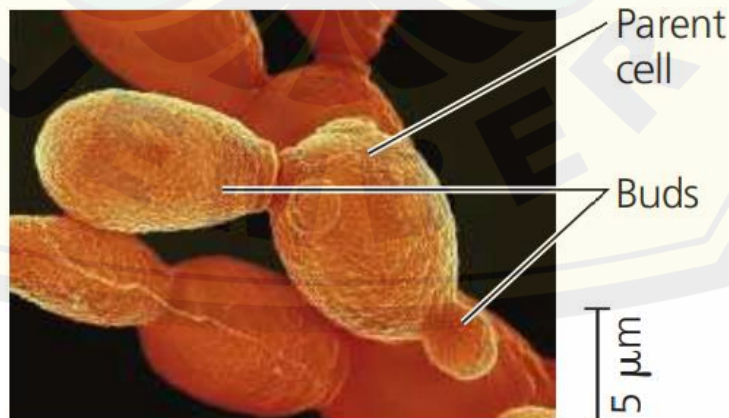


BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Yeast*

Yeast atau khamir merupakan mikroorganisme kelompok fungi yang bentuk morfologi utamanya adalah bentuk sel uniseluler (Knop, 2011; Oca *et al.*, 2016). *Yeast* dibedakan dari kapang (*mold*) karena *yeast* merupakan mikroorganisme eukariota uniseluler (Charisma, 2019; Joseph dan Bachhawat, 2014). *Yeast* sebagai organisme sel tunggal, mengalami pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan kapang (*mold*) yang tumbuh melalui pembentukan filamen (Zunaindah dan Alami, 2014; Charisma, 2019). *Yeast* bereproduksi secara asexual (vegetatif) melalui pembentukan tunas (*budding*) atau pembelahan (*fission*), sedangkan reproduksi seksual dengan pembentukan spora (Joseph dan Bachhawat, 2014; Prihartini dan Ilmi, 2018). Reproduksi seksual melalui spora seksual yang disebut askospora yang dihasilkan dari peleburan inti dari dua sel melalui meiosis (Caiser, 2022).

Sel *Yeast* (Gambar 2.1) memiliki ukuran yang bervariasi, beberapa *yeast* mungkin hanya memiliki panjang 2-3 μm , sementara spesies lain dapat mencapai panjang 20-50 μm , dan lebar sel bervariasi sekitar 1-10 μm (Feldmann, 2012). Selain ukuran yang bervariasi, *yeast* juga memiliki bentuk yang bervariasi. *Yeast* memiliki bentuk yang bervariasi seperti bulat, *subglobose*, *ellipsoidal*, *ovoidal*, *obovoidal*, silinder, *botuliform*, *bacilliform*, memanjang, apikulat, ogival, bulan sabit, atau segitiga (Kurtzman dan Fell, 1998).



Gambar 2.1 Sel *Yeast* (Sumber: Urry *et al.*, 2020)

Daur hidup *yeast* bersifat saprofit dan bersifat parasit (Charisma, 2019). *Yeast* mampu tumbuh dengan baik pada habitat yang memiliki kondisi persediaan air yang cukup (Puspita, 2020). Distribusi habitat *yeast* di alam dapat ditemukan di tanah air, hewan, dan insekta (Oca *et al.*, 2016), tumbuhan (biji, daun, bunga, buah)(Tikka *et al.*, 2013). Suhu paling baik untuk pertumbuhan *yeast* yaitu 20-30°C dan pH asam 3,5– 4 (Phale, 2018).

Yeast dapat tumbuh di berbagai lingkungan terutama pada substrat yang memiliki kandungan gula tinggi misalnya pada buah (De Becze, 1955). *Yeast* dapat diisolasi dari kulit buah dan buah *berry* seperti anggur, apel persik, dan eksudat dari tanaman seperti getah tanaman atau kaktus (Phale, 2018). Menurut (Vadkertiová *et al.*, 2012) *yeast* jarang terdeteksi pada tahap awal perkembangan buah dan pada buah yang belum matang, tetapi jumlahnya meningkat saat buah matang. *Yeast* umumnya ditemukan pada permukaan buah yang matang dan pada daging buah yang membusuk di mana pertumbuhannya didukung oleh gula dan nutrisi lain yang bocor dari jaringan buah (Querol dan Fleet, 2006).

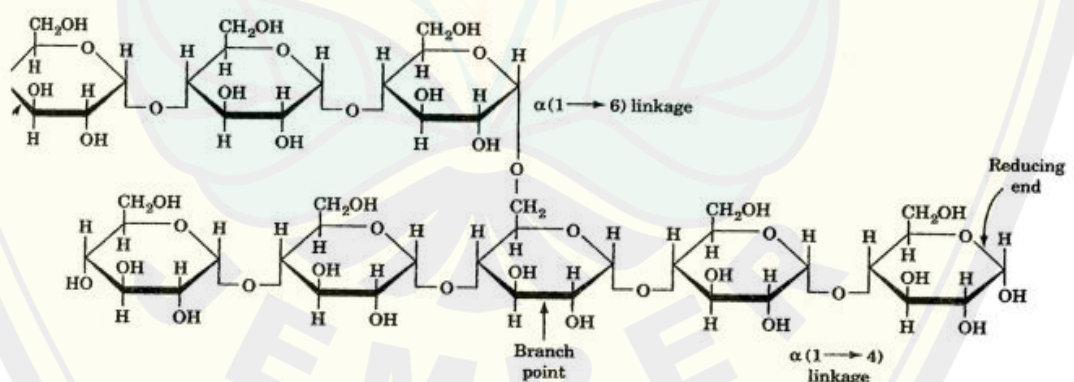
Yeast amilolitik merupakan mikroorganisme yang mampu menghidrolisis amilum. Mikroorganisme dianggap amilolitik ketika mereka mampu tumbuh pada substrat yang mengandung amilum sebagai sumber karbon utama. *Yeast* amilolitik yang tumbuh pada amilum akan terbentuk zona degradasi (zona bening) di sekitar koloni (Pascon *et al.*, 2011). *Yeast* amilolitik mampu menghasilkan enzim amilolitik seperti enzim amilase yang dapat memecah atau menghidrolisis amilum menjadi gula seperti glukosa dan maltose (Querol dan Fleet, 2006; Brahmachari *et al.*, 2016). Enzim amilase yang dihasilkan oleh *yeast* amilolitik dapat diaplikasikan dalam bidang industri roti dan kue, industri kertas, industri deterjen, industri makanan serta industri farmasi (Ragab *et al.*, 2011)

Yeast adalah salah satu mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. *Yeast* amilolitik digunakan sebagian besar oleh industri kue, tetapi juga oleh industri pembuatan bir, produksi berbagai senyawa kimia (Ouédraogo *et al.*, 2012; Joseph dan Bachhawat, 2014), dan produksi *single cell proteins* (SCP) (Shafiee *et al.*, 2005). Penelitian Akbar *et al.*, (2019) berhasil mengisolasi *yeast*

dari buah nanas diantaranya *Wickerhamia* sp. *Saccharomyces* sp. dan *Zygosaccharomyces* sp. Beberapa jenis *yeast* amilolitik yang berhasil diisolasi dari buah pisang oleh Gana *et al.*, (2014) diantaranya adalah *Pichia anomala*, *Candida wangnamkhiaoensis*, *Brandoniozyma complexa*, *Debaryomyces nepalensis*, *Pseudozyma prolifica*, *Hypopichia burtoni* dan *Kodamaea ohmeri*.

2.2 Amilum

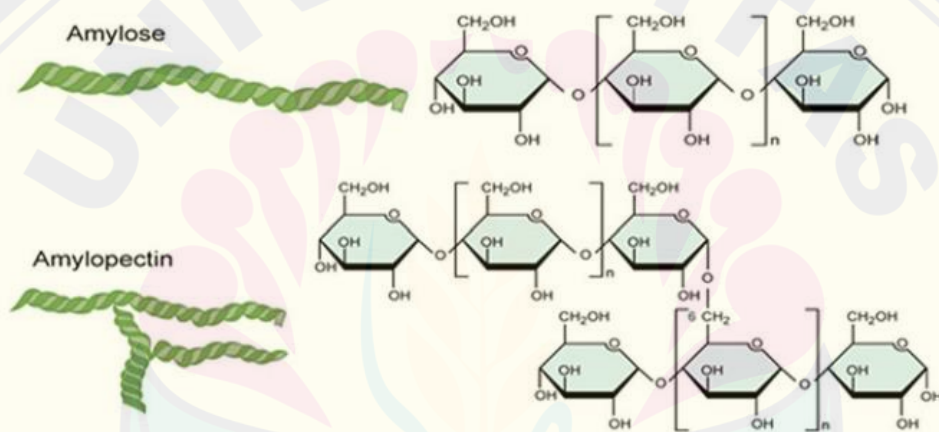
Amilum atau pati merupakan polisakarida glukosa yang terdiri dari dua jenis rantai α -D-glukan, amilosa dan amilopektin (Gambar 2.2) (Egharevba, 2020). Amilum adalah karbohidrat polisakarida alami pada tanaman yang jumlahnya melimpah kedua yang ditemukan setelah selulosa (Chibuogwu *et al.*, 2020; Ho dan Wong, 2020). Amilum merupakan produk hasil fotosintesis pada tanaman yang disintesis di dalam kloroplas daun hijau (penyimpanan sementara) dan amiloplas (penyimpanan jangka panjang) (Li *et al.*, 2018; Chibuogwu *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2014). Amilum dari sumber tanaman yang berbeda memiliki morfologi yang berbeda, ukuran granul, struktur, dan sifat fisikokimia (Li *et al.*, 2018; Cornejo-Ramírez *et al.*, 2018). Tanaman menyimpan amilum di biji (jagung, gandum, padi, sorgum), umbi-umbian (kentang), akar (tapioka, ubi jalar, garut), empulur (pohon sagu), dan buah-buahan (pisang) (Richter, 1996).



Gambar 2.2 Struktur Amilum (Sumber: Bashir dan Aggarwal, 2019)

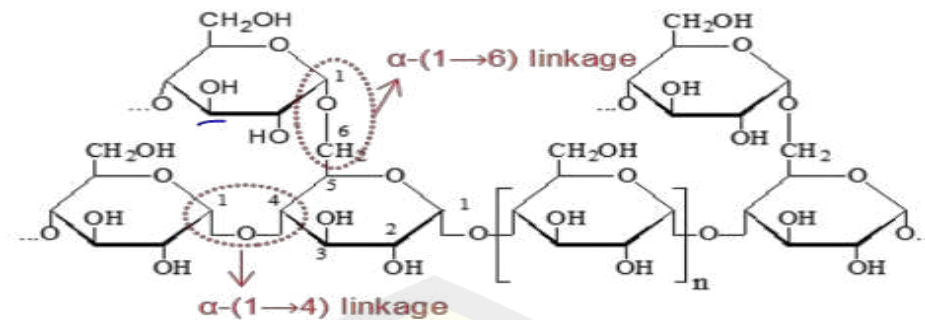
Amilum adalah polimer dengan rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Ho dan Wong, 2020) yang tersusun dari polimer glukosa yaitu amilosa, dan amilopektin (Cornejo-Ramírez *et al.*, 2018) yang membentuk struktur semi-kristal kompleks dan butiran

pati dalam plastid (Xiao *et al.*, 2018). Molekul amilum terdiri dari dua jenis polimer utama, yaitu amilosa dan amilopektin (Gambar 2.3) (Chibuogwu *et al.*, 2020; Ho dan Wong, 2020). Amilum biasanya mengandung sekitar 20-30% amilosa serta 70-80% amilopektin (Martens *et al.*, 2018). Amilosa dan amilopektin memiliki sifat fisiokimia yang berbeda yang berdampak pada sifat keseluruhan pati (Egharevba, 2020). Amilosa adalah polimer linier, dihubungkan oleh ikatan glikosidik α -D-(1-4) yang membentuk sekitar 20-30% dari total amilum (Bashir dan Aggarwal, 2019). Kandungan amilosa dalam pati bervariasi dalam struktur dan ukuran sesuai dengan asal botani amilum (Sanyang *et al.* 2017).



Gambar 2.3 Struktur Amilosa dan Amilopektin Sumber: Sanyang *et al.*, 2017)

Amilopektin adalah polimer rantai bercabang yang memiliki ikatan glikosidik α -D-(1-4) dalam rantai linier dan percabangan α -D-(1-6) (Gambar 2.5) (Bashir dan Aggarwal, 2019). Amilopektin dikelompokkan membentuk zona Kristal pada daerah yang sangat bercabang (Martens *et al.*, 2018). Secara morfologis, komponen amilopektin terdiri dari area kristal yang membuatnya tidak larut bahkan dalam air panas, tidak seperti amilosa linier yang sebagian besar amorf atau semi kristalin (Sanyang *et al.*, 2017).

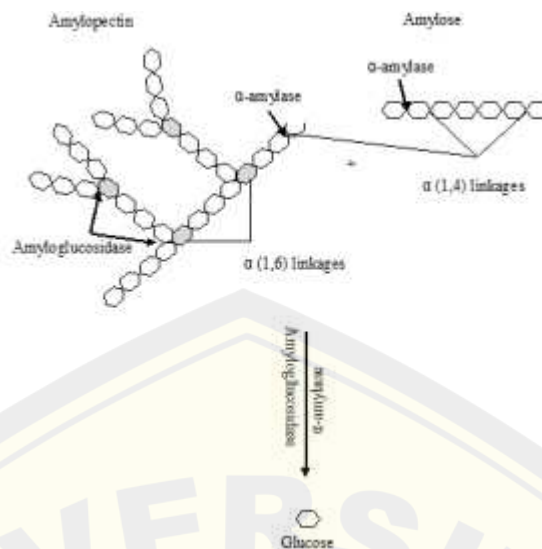


Gambar 2.4 Ikatan α - (1-4) dan α -(1-6) pada molekul amilum (Sumber: Wang *et al.*, 2014)

Amilum dapat dimanfaatkan dalam bidang industri, seperti industri makanan. Amilum dalam industri makanan, dapat digunakan sebagai bahan tambahan makanan yang penting karena kemampuannya membentuk gel, pengental dan menstabilkan produk makanan (Syuhada *et al.*, 2018). Amilum yang dihidrolisis dapat digunakan untuk memproduksi asam organik seperti asam laktat, asam malat, dan asam sitrat. Selain sebagai asam organik amilum yang dihidrolisis dapat dijadikan sebagai bahan utama pembuatan alkohol dan pemanis seperti maltodekstrin dan sirup. Amilum juga dapat dikembangkan sebagai eksipien, kemasan biofilm, pembuatan kertas, pengganti lemak pada produk makanan seperti eskrim (Bashir dan Aggarwal, 2019).

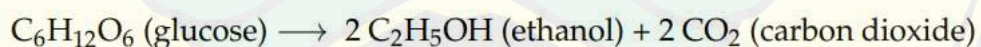
2.3 Hidrolisis Amilum dan Fermentasi

Amilum merupakan sumber karbohidrat yang sangat penting. Amilum dapat dihidrolisis menggunakan enzim amilolitik yaitu enzim amilase (Contesini *et al.*, 2013). Alfa-amilase adalah salah satu enzim amilase yang memecah amilum menjadi glukosa, maltose, dan maltiorosa pada ikatan glikosidik α -1,4 dan memecah residu glukosa terminal atau ikatan α -1,6 (Nisa *et al.*, 2021). Amilum dapat dihidrolisis menjadi gula sederhana seperti glukosa (Brahmachari *et al.*, 2016). Hidrolisis amilum merupakan proses yang sangat penting selama pematangan buah. Amilum pada buah-buahan dipecah menjadi sukrosa, fruktosa, dan glukosa (Venkatesan dan Tamilmani, 2013).



Gambar 2.5 Hidrolisis amilum menggunakan enzim amilolitik (Sumber: Contesini *et al.*, 2013)

Fermentasi merupakan proses untuk memecah molekul organik kompleks menjadi lebih sederhana menggunakan mikroorganisme seperti *yeast* (Sharma *et al.*, 2020). *Yeast* melakukan fermentasi untuk mendapatkan energi. Selama fermentasi, sel *yeast* mengubah gula menjadi etanol dan CO_2 (Gambar 2.6) (Maicas, 2020). Gula seperti glukosa diubah menjadi piruvat melalui glikolisis. Piruvat kemudian dapat terdegradasi lebih lanjut oleh *Pyruvate decarboxylase* (Pdc) membentuk *acetaldehyde*. *Acetaldehyd* kemudian diubah menjadi etanol oleh *Alcohol dehydrogenase* (Adh). Piruvat diubah menjadi etanol menghasilkan keuntungan bersih 2 ATP per glukosa (Pfeiffer dan Morley, 2014).



Gambar 2.6 Skema fermentasi (Sumber: Maicas, 2020)

2.4 Buah Durian (*Durio zibenthinus* Murr.)

Durian merupakan buah tropis yang berasal dari Asia Tenggara yang dikenal sebagai *The King of Fruit* karena memiliki aroma dan rasa yang khas (Afrianti Rahayu *et al.*, 2019; Selviyanti dan Suwardi, 2021). Buah durian adalah buah musiman yang umumnya panen tidak serentak pada bulan September sampai bulan Februari. Buah durian menempati posisi ke-4 buah nasional dengan jumlah

produksi kurang lebih 700 ribu ton per tahun (Yuniastuti *et al.*, 2018). Jawa Timur merupakan salah satu pemasok buah-buahan nasional seperti durian dengan produktivitas 114,242 ton/tahun (Hardiyanti *et al.*, 2021).



Gambar 2.7 Buah Durian (Hermanto *et al.*, 2013 Hal.40)

Bentuk buah durian bervariasi dari *globose*, *ovoid*, *obovoid*, atau lonjong dengan warna *pericarp* mulai dari hijau hingga kecoklatan. Warna daging buah yang dapat dikonsumsi bervariasi dari satu varietas ke varietas lainnya dan termasuk di antara yang berikut: kuning, putih, kuning keemasan atau merah (Ho dan Bhat, 2015). Buah durian yang matang sepenuhnya memiliki rasa dan aroma yang unik dikaitkan dengan adanya senyawa volatil (ester, aldehida, belerang, alkohol, dan keton) (Aziz dan Jalil, 2019).

Daging buah durian memiliki kandungan senyawa yang bermanfaat seperti karbohidrat, protein, lemak, serat, kalsium (Ca), asam folat, fosfor (P), magnesium (Mg), potasium/kalium (K), zat besi (Fe), zinc, mangan (Mn), tembaga (Cu), karoten, niacin, vitamin C, thiamin, dan riboflavin (Maharani dan Zuhro, 2017). Buah durian juga kaya akan polifenol seperti asam fenolat (asam sinamat dan asam hidroksibenzoat), flavonoid (flavon, flavanon, flavonol, antosianin), tanin, serta komponen bioaktif yang lain seperti karotenoid dan asam askorbat (Aziz dan Jalil, 2019). Buah durian memiliki kandungan karbohidrat berupa amilum sebesar 17,3% dengan kadar total gula sebesar 20,5% (Antarlina, 2009).

2.5 Buah Sawo (*Manilkara zapota* L.)

Sawo (*Manilkara zapota* L.) adalah buah tropis Indonesia dari famili *Sapotaceae* yang tersebar diseluruh nusantara (Eden dan Rahayu, 2019; Putri dan Pitoyo, 2021). Menurut Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Holtikultura produktivitas buah sawo di Indonesia pada tahun 2021 menapai 169,711 ton/tahun. Buah sawo merupakan buah sejati tunggal yang terbentuk dari satu bunga dan satu bakal buah. Buah sawo berbentuk bulat sampai bulat telur (elips) dan berwarna coklat. Buah sawo memiliki kulit buah yang tipis dan permukaan luar yang berpasir. Daging buah berwarna coklat kemerahan sampai kekuningan (Gambar 2.8) (Rellosa *et al.*, 2020; Putri dan Pitoyo, 2021).



Gambar 2.8 Buah Sawo (Hermanto *et al.*, 2013)

Buah sawo memiliki manfaat sebagai sumber antioksidan dan juga sumber biodiesel (Putri dan Pitoyo, 2021). Sawo juga dapat digunakan sebagai bahan olahan makanan seperti selai, sirup, dan difermentasi menjadi anggur atau cuka (Hamzah *et al.*, 2020). Buah sawo memiliki daging buah yang rasanya manis dengan kandungan gula sebesar 16-20% (Putri, 2017 ; Astawan, 2010). Buah sawo juga mengandung senyawa seperti kandungan protein, lemak, serat, Ca, Fe, saponin, niasina flavonoid, dan tannin (Harto *et al.*, 2016).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Oktober 2022. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

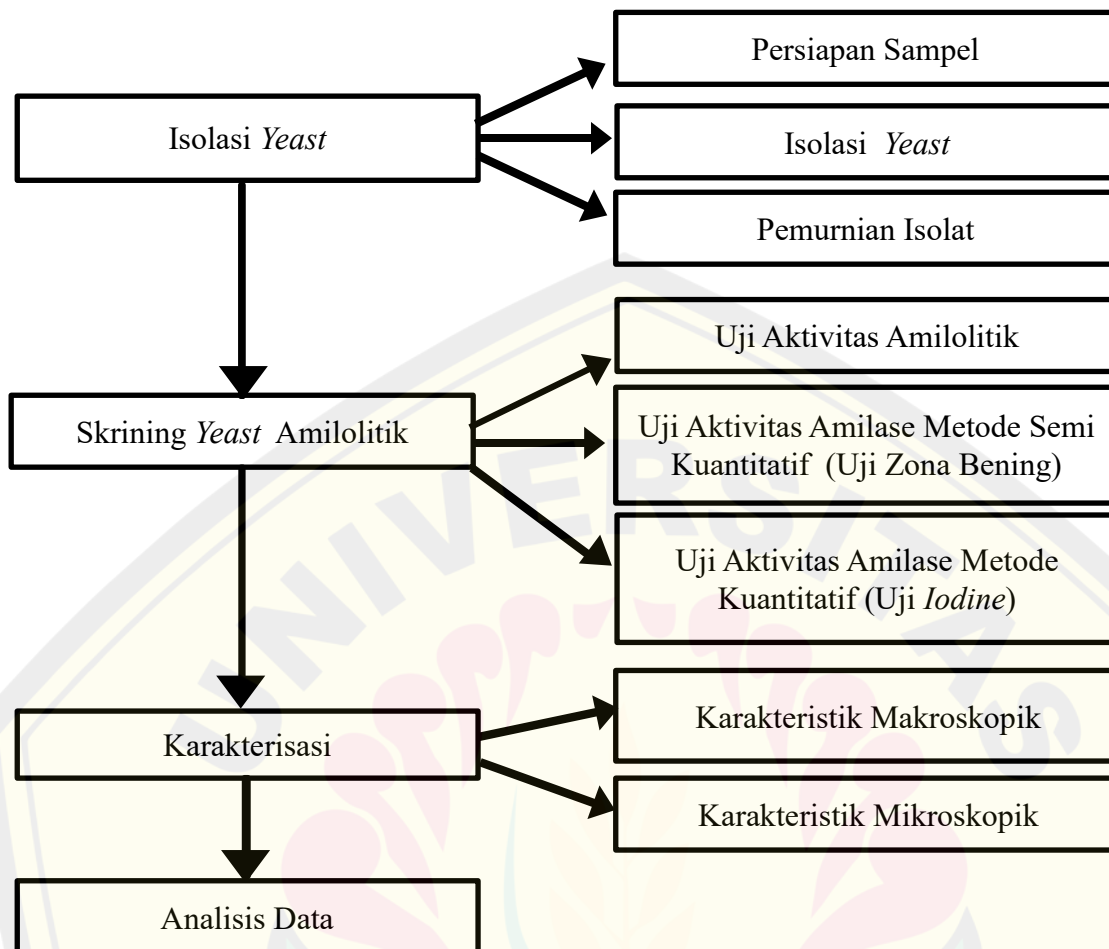
3.2 Alat dan Bahan

Alat kaca yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari labu Erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, batang pengaduk, batang segitiga, batang L, botol vial dan gelas Beaker. Alat yang digunakan untuk isolasi yaitu *laminar air flow* (LAF), mikropipet 100-1000 μL , mikro pipet 20-200 μL , pipet volume, rak tabung. Inkubator digunakan untuk menginkubasi isolat. Alat-alat lain yang digunakan pada penelitian ini yaitu autoklaf (alat sterilisasi), *hot plate*, jarum ose, tusuk gigi steril, saringan teh, vortex, dan timbangan digital.

Sampel buah yang digunakan pada penelitian ini adalah buah durian dan buah sawo yang diperoleh dari pedagang buah di Kabupaten Jember. Media yang digunakan terdiri dari media *Pepton Yeast Glucose* (PYG) (Lampiran 3.1), media PYG padat 10% (Lampiran 3.2), *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Lampiran 3.3), media *Soluble Starch Agar* (SSA) (Lampiran 3.4), media produksi enzim (Lampiran 3.5), substart amilum 1% (Lampiran 3.6), dan media wortel. Larutan kimia yang digunakan pada penelitian terdiri dari alkohol 70%, *iodine* 0,33%, pewarna *methylene blue* 1%, larutan buffer Tris HCl 50 mM pH 7, HCl 1M dan reagen *iodine* 1%.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan pada penelitian ini terbagi menjadi tiga tahap yaitu isolasi *yeast*, uji aktivitas amilolitik, dan karakterisasi morfologi *yeast* secara makroskopis dan mikroskopis. Diagram alir rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan metode penelitian

3.4 Isolasi *Yeast* Amilolitik

3.4.1 Persiapan Isolasi

Sampel buah durian diperoleh dari pedagang buah durian yang ada di Kabupaten Jember. Buah durian yang diperoleh merupakan durian lokal yang ada di Jember. Buah durian kemudian didiamkan sekitar 3 hari sampai benar-benar matang.

Buah sawo yang digunakan pada penelitian diambil dari Desa Darungan yang ada di Kecamatan Tanggul. Buah sawo yang diambil dalam kondisi mentah. Selanjutnya buah sawo diperam sekitar 5 hari sampai benar-benar matang. Media isolasi *yeast* terdiri dari media PYG cair (dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 2.5%, 5%, 7.5%, dan 10%) dan media *Peptone yeast glukosa* (PYG) padat 10%.

3.4.2 Isolasi *Yeast*

Buah durian dan sawo masing-masing sebanyak 1 gram disuspensikan menggunakan akuades sebanyak 9 ml (Wei *et al.*, 2017). Selanjutnya diambil suspensi sebanyak 500 μ l dan dimasukkan ke dalam media PYG cair 0.5% dan diinkubasi pada suhu ruang menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 3 hari. Setelah diinkubasi suspensi dihomogenkan dan diambil sebanyak 500 μ l, kemudian dimasukkan ke dalam media PYG cair 1%. Setelah inkubasi 3 hari kemudian diinokulasikan pada media glukosa pada dengan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 2.5%, inokulasi dilakukan sampai pada media glukosa cair 10%.

Inokulasi dilakukan sampai pada media PYG cair dengan konsentrasi 10%. Tujuan ditumbuhkan pada media glukosa dengan konsentrasi bertingkat adalah untuk mengetahui kemampuan osmotoleran isolat *yeast*. Menurut Ali dan Khan (2014) *yeast* dapat tumbuh aktif pada konsentrasi glukosa 10%. *Yeast* yang tumbuh pada media PYG cair 10% kemudian dilakukan pengenceran. Pengenceran bertujuan untuk mengurangi jumlah kepadatan mikroba (Rosmania dan Yanti, 2020). Suspensi sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi akuades sebanyak 9 ml dan dianggap sebagai pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan sampai 10^{-6} dengan 3 kali pengulangan. Setelah dilakukan pengenceran, selanjutnya larutan sampel dituang pada media PYG padat 10% dan

diratakan menggunakan metode *spread plate* (Damayanti *et al.*, 2020). Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C (Ali dan Khan, 2014). Koloni *yeast* yang tumbuh pada media kemudian dilakukan pemurnian.

3.4.3 Pemurnian Isolat

Koloni *yeast* yang diperoleh dari hasil isolasi kemudian dilakukan pemurnian. Tujuan dilakukan pemurnian untuk memperoleh biakan murni atau koloni tunggal tanpa ada kontaminan dari mikroba lain (Ed-har *et al.*, 2017). Pemurnian dilakukan menggunakan metode *streak plate* (Nurhartadi dan Rahayu, 2011). Koloni *yeast* dari hasil isolasi diambil sebanyak 1 ose, lalu diinokulasikan pada media PDA, yang dilakukan pada masing-masing koloni. Inkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C. Koloni tunggal yang tumbuh pada media selanjutnya dilakukan pengecatan sederhana menggunakan pewarna *methylen blue*. Pewarnaan dilakukan untuk mengetahui bentuk sel *yeast*. Isolat *yeast* dianggap murni apabila bentuk sel yang diamati menggunakan mikroskop sudah seragam.

3.5 Skrining *Yeast* Amilolitik

3.5.1 Uji Aktivitas Amilolitik Metode Semi Kuantitatif

Uji aktivitas amilolitik isolat *yeast* secara kualitatif dilakukan dengan mengamati zona degradasi (zona bening) yang terbentuk pada media agar (Hidayat *et al.*, 2021). Uji ini dilakukan untuk mendeteksi *yeast* penghasil amilase melalui proses hidrolisis amilum. Media uji yang digunakan yaitu *Soluble Starch Agar* (SSA) karena memiliki kandungan amilum (Deshmukh *et al.*, 2020). Isolat murni yang yang didapatkan diremajakan pada media PDA, selanjutnya isolat diinokulasikan menggunakan tusuk gigi steril pada media uji SSA dengan dua kali pengulangan. Media yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C. Setelah diinkubasi, diukur diameter koloni kemudian media digenangi dengan larutan *iodine* dan ditunggu selama 10-15 menit. Reaksi antara larutan *iodine* dengan amilum pada media akan menghasilkan warna biru ungu pada media yang amilumnya belum terhirolisis (Firdausi dan Zulaika, 2015). Setelah 15 menit, akan terbentuk zona bening disekitar koloni. Adanya zona bening disekitar koloni menunjukkan adanya aktivitas amilolitik dari *yeast* yang

berhasil diisolasi. Indeks aktivitas amilolitik dapat diketahui dengan mengukur rasio diameter koloni dengan zona bening. Isolat yang memiliki indeks aktivitas amilolitik paling besar diasumsikan memiliki aktivitas amilolitik yang paling baik (Hidayat dan Fajariningtyas, 2021). Aktivitas enzim hidrolitik dapat diketahui menggunakan rumus (Goldbeck *et al.*, 2012)

$$\text{Indeks Amilolitik} = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{diameter koloni}} \dots\dots\dots 1$$

3.5.2 Produksi dan Ekstraksi Enzim

Produksi dan ekstraksi enzim amilase menggunakan metode (Shangvi *et al.*, 2011) yang telah dimodifikasi. Produksi enzim dan ekstraksi enzim dilakukan dengan metode fermentasi cair. Media produksi enzim amilase tersusun dari 10 g/l *yeast extract*, 3 g/l *peptone*, 1 g/l K_2HPO_4 , 0,04 g/l KH_2PO_4 , dan 30 g/l *soluble starch* (Shangviet *al.*, 2011).

Koloni *yeast* yang tumbuh pada media PDA diambil sebanyak 1 koloni dan diinokulasikan pada media produksi enzim amilase. Inkubasi dilakukan selama 3 hari menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang (Ishmayana *et al.*, 2008). Media produksi yang mengandung ekstrak kasar enzim amilase kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dan diambil supernatannya.

3.5.3 Uji Aktivitas Amilase Metode Kuantitatif (Uji *Iodine*)

Uji aktivitas enzim amilase dilakukan berdasarkan metode (Oliveira *et al.*, 2019) yang telah dimodifikasi. Metode *iodine* yang digunakan didasarkan pada perkembangan warna yang dihasilkan dari ikatan *iodine* dengan polimer amilum. (Xiao *et al.*, 2006). Pengikatan *iodine* pada terminal rantai polimer amilum yang menghasilkan kompleks berwarna biru yang juga dapat diamati secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-vis (Oliveira *et al.*, 2019). Uji aktivitas amilase metode *iodine* menggunakan amilum sebagai substansi dengan konsentrasi 1%.

Uji aktivitas amilase dilakukan menggunakan dua kelompok yaitu kelompok uji dan kelompok kontrol. Kelompok uji diberi perlakuan dengan

memasukkan 650 μ l 50 mM buffer Tris-HCl pH 7, 750 μ l substrat amilum 1% ke dalam tabung uji. Campuran larutan tersebut diinkubasi *waterbath* selama 10 menit pada suhu 37°C. ditambahkan 100 μ l enzim amilase ke dalam campuran dan inkubasi kembali selama 30 menit. Selama proses inkubasi tabung uji ditutup menggunakan kelereng untuk mengurangi terjadinya penguapan. Setelah waktu inkubasi selesai ditambahkan larutan 1 M HCl sebanyak 375 μ l ke dalam campuran larutan. Penambahan HCL ke dalam larutan berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatik (Xiao *et al.*, 2006). Campuran uji dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 detik, kemudian diambil sebanyak 65 μ l dan dimasukkan ke dalam *epENDORF* 2 ml yang telah berisi 65 μ l reagen *iodine* (KI 1% dan I₂ 0,1%) dan 1,8 ml akuades filtrasi. Campuran larutan uji dan *iodine* menghasilkan warna biru karena *iodine* berikatan dengan terminal rantai polimer amilum (Oliveira *et al.*, 2019).

Kelompok kedua yaitu kelompok kontrol yang diberi perlakuan dengan memasukkan 650 μ l 50 mM buffer Tris-HCl pH 7, 750 μ l substrat amilum 1%, dan 1 M HCl sebanyak 375 μ l. Kelompok kontrol selanjutnya diberi perlakuan yang sama dengan kelompok uji. Kelompok uji dan kontrol dihomogenkan dengan cara pipetting, larutan yang telah homogen diambil sebanyak 1 ml diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 580 nm (Oliveira *et al.*, 2019).

Nilai absorbansi yang diperoleh dari hasil perlakuan uji dan kontrol dikonversi menjadi persamaan linier kurva standar kompleks amilum-iodin. Kurva standar (Lampiran 3.7) diperoleh dari nilai konsentrasi amilum pada rentang 0-7,5 mg/ml (Tabel 3.1). Kemampuan enzim amilase dalam menghidrolisis amilum pada awal reaksi dengan 7,5 mg selama 30 menit didefinisikan sebagai satu unit aktivitas amilase. Masing-masing larutan standar diinkubasi *waterbath* pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan yang telah diinkubasi selanjutnya divorteks agar homogen dan diambil sebanyak 65 μ l lalu dipindahkan pada *epENDORF* 2 ml yang telah diisi akuades filtrasi sebanyak 1,8 ml. Campuran akuades filtrasi dan larutan uji kemudian ditambahkan dengan reagen iodin sebanyak 65 μ l, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang

gelombang 580 nm dan dibuat persamaan linier kadar amilum berdasarkan kurva standar yang terbentuk (Oliveira *et al*, 2019).

Tabel 3.1 Preparasi larutan standar amilum untuk pembuatan kurva standar

Konsentrasi amilum (mg)	Kadar stok amilum (μl)	Akuades filtrasi (μl)	1 M HCl (μl)
0	0	1500	375
1,5	150	1350	375
3	300	1200	375
4,5	450	1050	375
6	600	900	375
7,5	750	750	375

Kadar amilum (mg) yang diperoleh berdasarkan konversi nilai absorbansi ke persamaan linier kurva standar, maka aktivitas amilase dapat diketahui menggunakan rumus (Oliveira *et al*, 2019) sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas amilase (U/ml)} = \frac{\text{Kontrol } P_{A580} - \text{Uji } P_{A580}}{w \times v} \times fp \dots\dots\dots 2$$

Keterangan :

Kontrol P_{A580} = Kadar amilum kontrol

Uji P_{A580} = kadar amilum uji

W = Waktu inkubasi

V = Volume larutan amilase bebas

3.6 Karakterisasi

3.6.1 Karakteristik Makroskopis

Identifikasi secara makroskopis dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni *yeast*. Morfologi koloni *yeast* ditumbuhkan pada media PDA kemudian diamati di bawah mikroskop stereo. Parameter yang diamati meliputi tekstur, warna, permukaan, elevasi, dan margin (Kurtzman dan Fell, 1998).

3.6.2 Karakteristik Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis isolat *yeast* menggunakan metode *slide culture*. Parameter yang diamati meliputi bentuk sel, *budding cell*, ada tidaknya *pseudomycelium*, *true mycelium*, *arthrospores* dan *blastospores*. Media PDA diambil sebanyak satu ose lalu dipanaskan diatas bunsen, kemudian diletakkan pada kaca benda dan ditutup gelas penutup. Isolat *yeast* diinokulasikan diatas media PDA kemudian di letakkan pada pipa U yang digunakan sebagai penyangga yang ada dalam cawan petri yang telah diberi alas berupa tissue yang sudah dibasahi menggunakan akuades steril kurang lebih 1-2 ml, dan selanjutnya diinkubasi selama 2 hari pada suhu 30°C (Sundari, 2012)

Pengamatan askus spora isolat *yeast* menggunakan metode *vegetable widges*. Media yang digunakan adalah media wortel. Wortel dibersihkan dengan cara dicuci, kemudian diiris silinder panjang sekitar 1 cm. Irisan wortel yang berbentuk silinder kemudian diiris miring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Irisan wortel selanjutnya disterilisasi autoklaf pada suhu 121°C (Kurtzman dan Fell, 1998). Isolat *yeast* diinokulasikan pada media wortel yang telah disterilisasi kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 7-21 hari. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari sekali dengan menggunakan pewarna *methylene blue*. Hasil pengamatan karakteristik makroskopis dan mikroskopis selanjutnya didiskripsikan berdasarkan buku identifikasi *yeast* “*The Yeast, A Taxonomic Study Fourth Edition*”.

3.6.3 Analisis Data

Analisis data aktivitas enzim amilase hasil uji kuantitatif yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis berdasarkan grafik hasil menggunakan *Microsoft Excel*. Karakter morfologi isolat *yeast* dilakukan melalui analisis deskriptif berdasarkan karakter makroskopis dan mikroskopis.

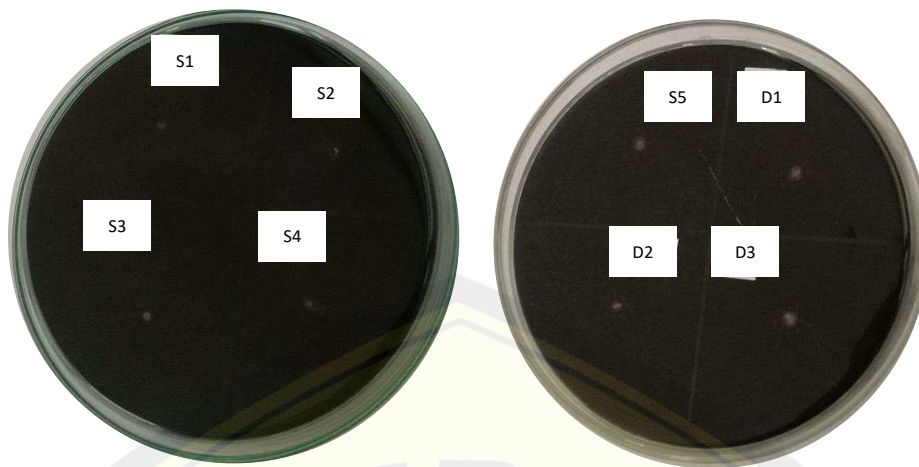
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Amilase

Isolasi dilakukan pada sampel buah durian dan buah sawo yang matang. Berdasarkan karakter makroskopis didapatkan 8 isolat *yeast* yang berhasil diisolasi pada media PYG padat 10%. Isolasi pada buah sawo didapatkan 5 isolat dengan kode S1, S2, S3, S4, dan S5, sedangkan pada buah durian didapatkan 3 isolat dengan kode D1, D2, dan D3. Isolat *yeast* yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan uji semi kuantitatif zona bening pada media agar dan uji kuantitatif metode *iodine*.

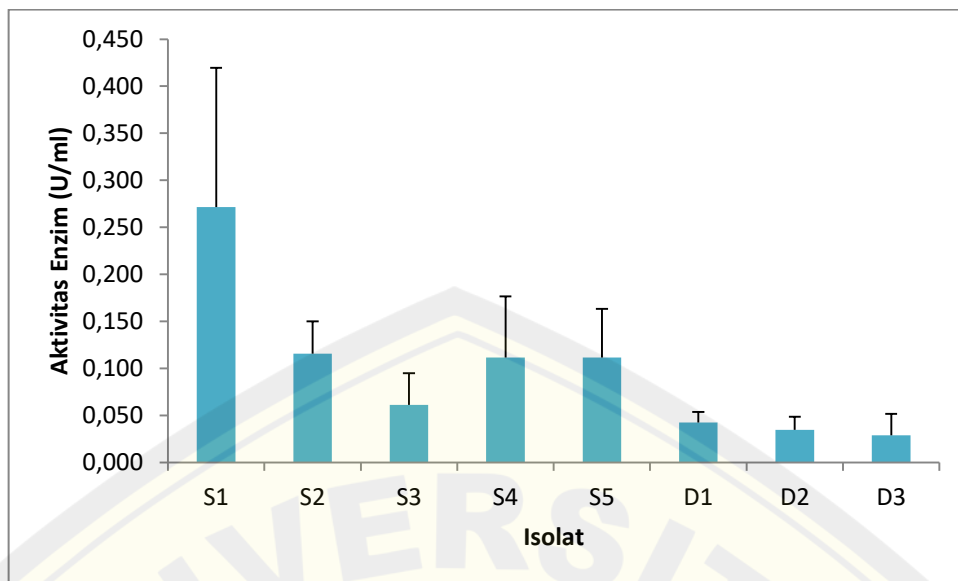
Delapan isolat *yeast* yang diperoleh dari hasil isolasi, di uji aktivitas hidrolisis amilum secara kualitatif berdasarkan zona bening yang terbentuk disekitar koloni. Zona bening pada media tidak terwarnai karena amilum yang terdapat pada zona tersebut telah terhidrolisis menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Sukmawati *et al.*, 2019). Menurut Augusta (1993) terbentuknya zona bening yang merupakan hasil degradasi partikel polimer tergantung pada beberapa persyaratan dasar yaitu : 1) harus ada ekskresi ekso-enzim, 2) difusi melalui media sekitarnya, 3) interaksi antara enzim dan polimer.

Berdasarkan uji semi kuantitatif, pada delapan isolat yang diuji tidak terdeteksi adanya zona bening (aktivitas amilolitik kecil). Delapan isolat *yeast* yang diperoleh mampu tumbuh pada media SSA yang mengandung amilum sebagai sumber karbon. Isolat *yeast* yang tumbuh memiliki diameter koloni yang berbeda-beda, namun aktivitas degradasi (zona bening) disekitar koloni tidak terdeteksi, sehingga delapan isolat *yeast* yang diperoleh dilanjutkan dengan uji kuantitatif.



Gambar 4.1 Hasil uji semi kuantitatif

Uji kuantitatif dilakukan menggunakan metode *iodine*. Uji kuantitatif diawali dengan memproduksi enzim amilase. Produksi enzim amilase dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat *yeast* pada media produksi enzim yang mengandung substrat amilum 1%. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang menggunakan shaker selama 3 hari. Setelah masa inkubasi selesai media produksi yang mengandung enzim amilase disentrifugasi untuk mendapatkan ekstrak kasar enzim amilase. Berdasarkan hasil uji kuantitatif delapan isolat *yeast* memiliki kemampuan berbeda dalam menghasilkan enzim amilase (Gambar4.2). Aktivitas amilase isolat S1 sebesar 0.272 ± 0.15 U/ml, S2 sebesar 0.116 ± 0.03 U/ml, S3 sebesar 0.061 ± 0.03 U/ml, S4 sebesar 0.111 ± 0.07 U/ml, S5 sebesar 0.111 ± 0.05 U/ml, D1 sebesar 0.042 ± 0.01 U/ml, D2 0.035 ± 0.01 U/ml, dan D3 sebesar 0.029 ± 0.02 U/ml (Lampiran 4.2). Isolat yang memiliki aktivitas enzim amilase paling tinggi adalah S1 yaitu sebesar 0.272 ± 0.15 U/ml. isolat yang memiliki aktivitas enzim amilase paling rendah adalah isolat D3 sebesar 0.029 ± 0.02 U/ml. Perbedaan isolat *yeast* dalam memproduksi enzim amilase dapat dipengaruhi beberapa faktor selama proses produksi enzim amilase. Produksi enzim amilase dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu dan pH optimum, sumber nutrisi (Sudharsan *et al.*, 2007), sumber nitrogen, pengaruh kecepatan pengadukan, juga waktu produksi dan pertumbuhan sel selama fermentasi (Li *et al.*, 2007).



Gambar 4.2 Aktivitas enzim amilase isolat *yeast*

Isolat S1 memiliki aktivitas amilase paling tinggi dibandingkan dengan isolat lain. Isolat S1 memiliki aktivitas tertinggi kemungkinan perlakuan pada proses produksi enzim kondisi sesuai dengan pertumbuhan isolat S1. Perlakuan yang meliputi kondisi pH, suhu, dan substrat sudah optimum untuk pertumbuhan isolat S1. Optimalisasi kondisi kultur sangat penting untuk pertumbuhan mikoba (*yeast*) sehingga mikroba mampu memproduksi enzim secara maksimum (Shangvi *et al*, 2011).

Uji semi kuantitatif menggunakan media agar padat yang mana media tersebut memiliki kelemahan karena kehomogenan media dan aerasi sangat sulit ditentukan, sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan *yeast*. Sedangkan pada metode kuantitatif produksi enzim dilakukan menggunakan media cair. Media cair yang digunakan untuk produksi enzim lebih efektif dalam menjaga kondisi selama produksi enzim dibandingkan media padat. Media cair mampu menjaga kondisi proses produksi sesuai dengan apa yang diinginkan seperti kehomogenan media, pH, dan aerasi (Sunaryanto dan Marasabessy, 2016).

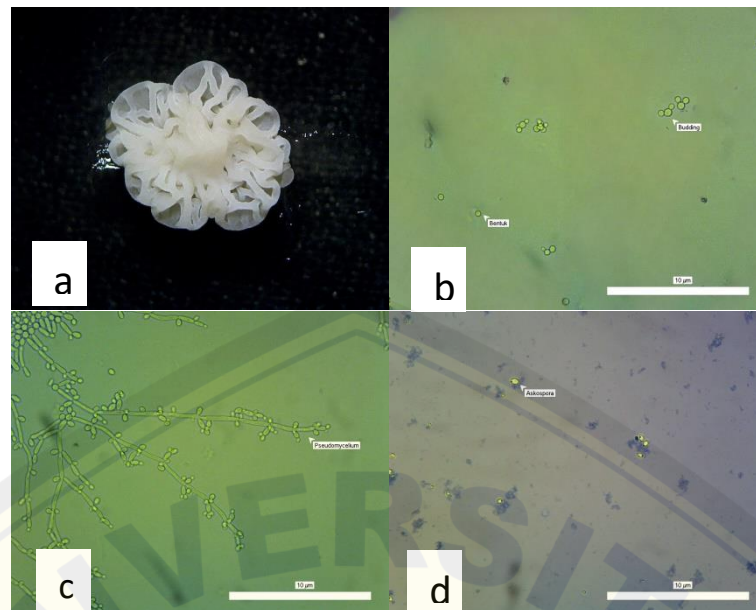
4.2 Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis *Yeast* Amilolitik

Delapan isolat yang terdiri dari S1, S2, S3, S4, S5, D1, D2, dan D3 dikarakterisasi berdasarkan buku panduan identifikasi yeast yaitu “*The Yeasts, A Taxonomic Study Fourth Edition*” (Kurtzmn *et al.*, 1998). Karakterisasi isolat yeast dilakukan berdasarkan karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis.

Table 4.1 Karakter morfologi makroskopis isolat yeast

Kode Isolat	Bentuk	Karakter					
		Tekstur	Warna		Permukaan	Elevasi	Margin
			Atas	Bawah			
S1	<i>Irregular</i>	<i>Viscous</i>	Krem	Krem	Bersektor	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>
S2	<i>Irregular</i>	<i>Viscous</i>	Putih	Putih	Bersektor	<i>Flat</i>	<i>Lobate</i>
S3	<i>Irregular</i>	<i>Viscous</i>	Putih	Putih	Bersektor	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>
S4	<i>Circular</i>	<i>Viscous</i>	Putih	Putih	Bersektor	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>
S5	<i>Circular</i>	<i>Viscous</i>	Putih	Putih	Bersektor	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>
D1	<i>Circular</i>	<i>Viscous</i>	Putih	Krem	Berkilau	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>
D2	<i>Circular</i>	<i>Viscous</i>	Putih	Putih	Berkilau	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>
D3	<i>Circular</i>	<i>Viscous</i>	Putih	Krem	Berkilau	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>

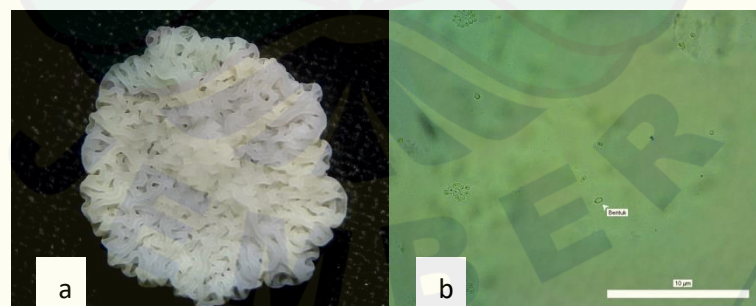
Berdasarkan tabel 4.1 isolat karakter S1 memiliki morfologi makroskopis koloni berbentuk *irregular* (tidak teratur) dan berwarna krem (Gambar 4.2 a). Koloni isolat yeast S1 memiliki tekstur dan permukaan bersektor. Elevasi isolat S1 adalah *raised* dan margin *undulate*. Bentuk sel hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa isolat S1 memiliki bentuk bulat dengan tipe *budding* multilateral (Gambar 4.2 b) (Kurtzmn *et al.*, 1998). Isolat S1 memiliki *pseudomycelium* (Gambar 4.2 c) dan askospora (Gambar 4.2 d) yang merupakan perkembangbiakan secara seksual.

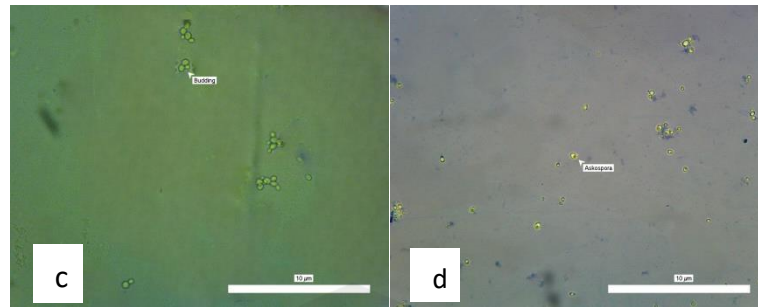


a) Morfologi makroskopis isolat S1 perbesaran 10x mikroskop stereo, b) bentuk sel dan *budding cell* perbesaran 400x, c) *pseudomycelium* perbesaran 400x, d) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.3 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S1

Karakter morfologi makroskopis isolat S2 memiliki bentuk koloni *irregular* dan bertekstur *viscous* (Gambar 4.3 a). Koloni isolat S2 berwarna putih, permukaan bersektor, dan elevasi flat. Margin dari isolat S2 adalah *lobate*. Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa isolat S2 memiliki bentuk oval (Gambar 4.3 b), *budding cell* tipe multilateral (Gambar 4.3 c) dan askospora (Gambar 4.3 d).

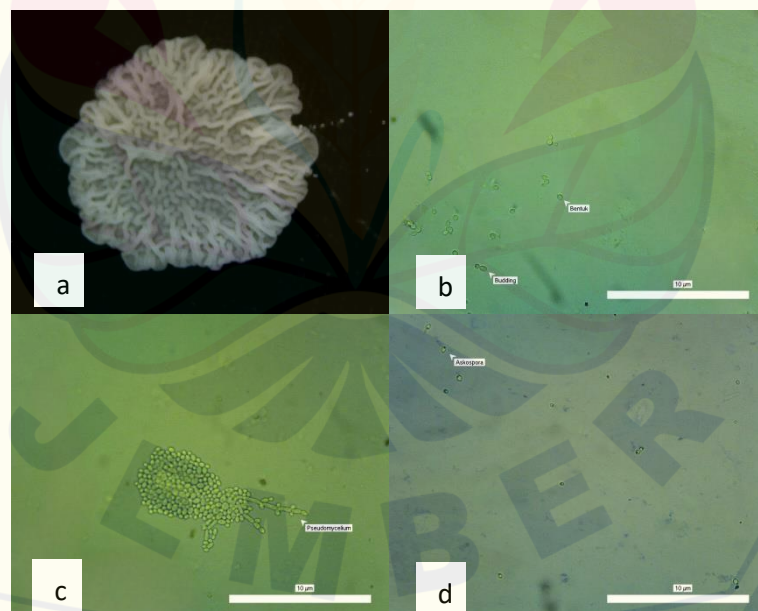




- a) Morfologi makroskopis isolat S2 perbesaran 10x mikroskop stereo, b) bentuk sel perbesaran 400x, c) *budding cell* perbesaran 400x, d) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.4 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S2

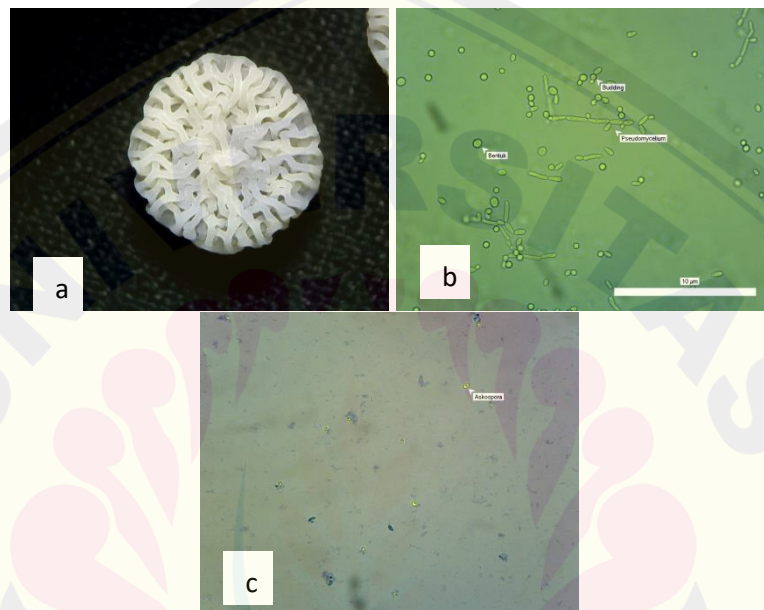
Isolat S3 memiliki karakter makroskopis koloni berbentuk *irregular* dan berwarna putih (Gambar 4.4 a). Tekstur isolat S3 adalah *viscous* dengan permukaan koloni bersektor. Isolat S3 memiliki elevasi *flat* dan margin *undulate*. Bentuk sel hasil pengamatan mikroskopis adalah bulat dengan tipe *budding* monoplar. Karakter mikroskopis lain yang ada pada isolat S3 adalah *pseudomycelium* (Gambar 4.4 c) dan askospora (Gambar 4.4 d).



- a) Morfologi makroskopis isolat S3 perbesaran 0.67x mikroskop stereo, b) bentuk sel dan *budding cell* perbesaran 400x, c) *pseudomycelium* perbesaran 400x, d) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.5 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S3

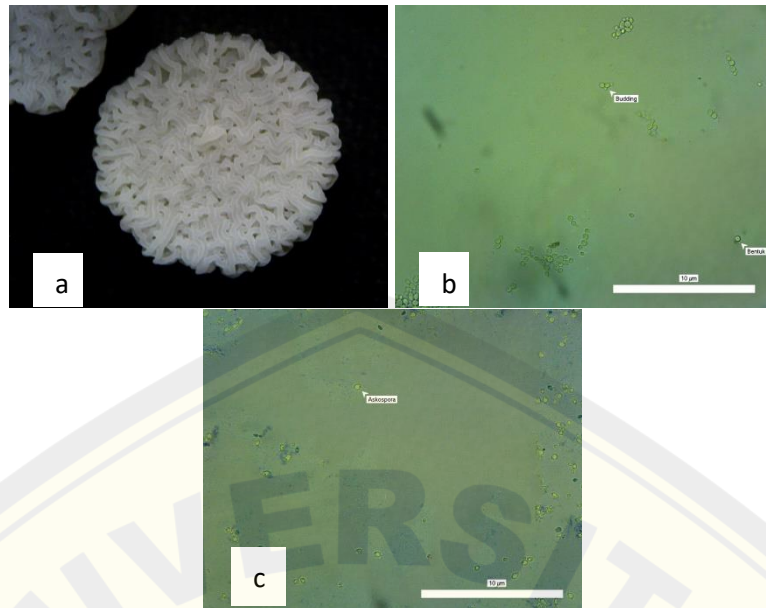
Karakter morfologi makroskopis isolat S4 memiliki koloni berbentuk *circular*, berwarna putih dan bertekstur *viscous* dengan permukaan bersektor (Gambar 4.5 a). Elevasi isolat S4 adalah *flat* dan margin *undulate*. Bentuk sel S4 berdasarkan karakter mikroskopis adalah bulat, memiliki *budding cell* (Gambar 4.5 b) dan *pseudomycelium* (Gambar 4.5 c). Isolat S4 memiliki reproduksi seksual yaitu askospora (Gambar 4. d).



a) Morfologi makroskopis isolat S4 perbesaran 10x mikroskop stereo, b) bentuk sel dan *budding cell* perbesaran 400x, d) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.6 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S4

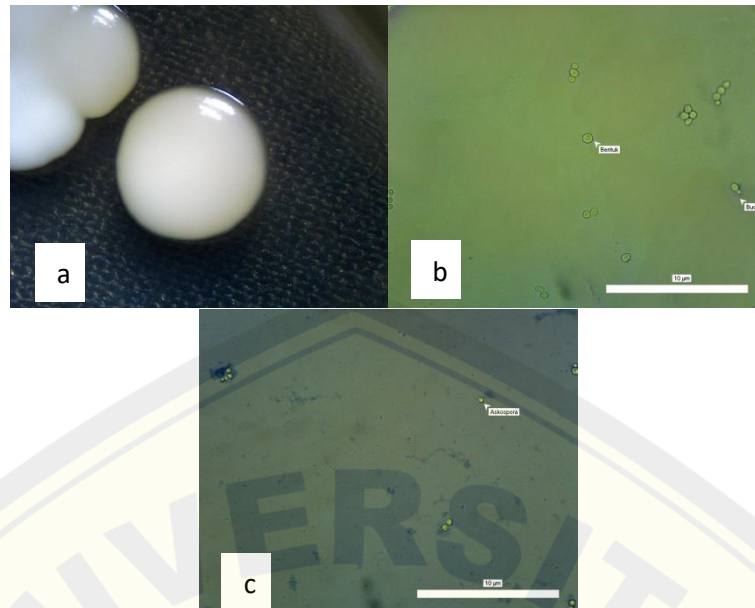
Isolat S5 memiliki bentuk koloni *circular*, berwarna putih dan bertekstur *viscous* (Gambar 4.6 a). Permukaan isolat S5 adalah bersektor dengan elevasi tipe *flat* dan margin *undulate*. Isolat S5 secara mikroskopis memiliki sel berbentuk bulat (Gambar 4.6 b). Isolat S5 memiliki askospora (Gambar 4.6 c) dan *budding cell* tipe multilateral (Kurtzmn *et al.*, 1998).



- a) Morfologi makroskopis isolat S5 perbesaran 10x mikroskop stereo, b) bentuk sel dan *budding cell* perbesaran 400x, d) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.7 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat S5

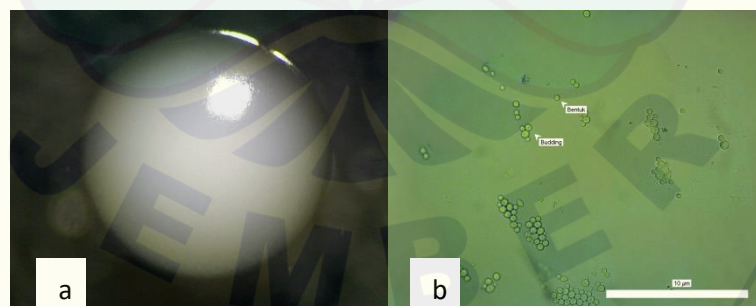
Karakter morfologi makroskopis isolat D1 memiliki koloni berbentuk *circular*, bertekstur viscous dan permukaan berkilau (Gambar 4.7 a). Warna permukaan atas koloni D1 adalah putih, sedangkan koloni bawah berwarna krem. Isolat D1 memiliki elevasi *convex* dan margin *entire*. Karakter mikroskopis menunjukkan bahwa isolat D1 memiliki sel berbentuk bulat, *budding cell* tipe multilateral (Gambar 4. b), memiliki askospora (Gambar 4.7 c) yang merupakan perkembangbiakan secara seksual (Kurtzmn *et al.*, 1998).

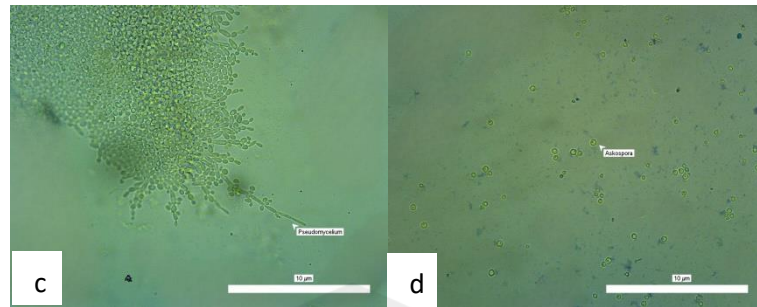


a) Morfologi makroskopis isolat D1 perbesaran 10x mikroskop stereo, b) bentuk sel dan *budding cell* perbesaran 400x, d) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.8 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat D1

Isolat D2 memiliki karakter makroskopis koloni berbentuk *circular*, bertekstur *viscous* dan koloni berwarna putih (Gambar 4.8 a). Permukaan koloni berkilau, elevasi *convex* dan margin *entire*. Isolat D2 memiliki *budding cell* multilateral dan sel berbentuk bulat (Gambar 4.8 b). Isolat D2 memiliki pseudomycellium (Gambar 4.8 c) dan juga askospora (Gambar 4.8 d).

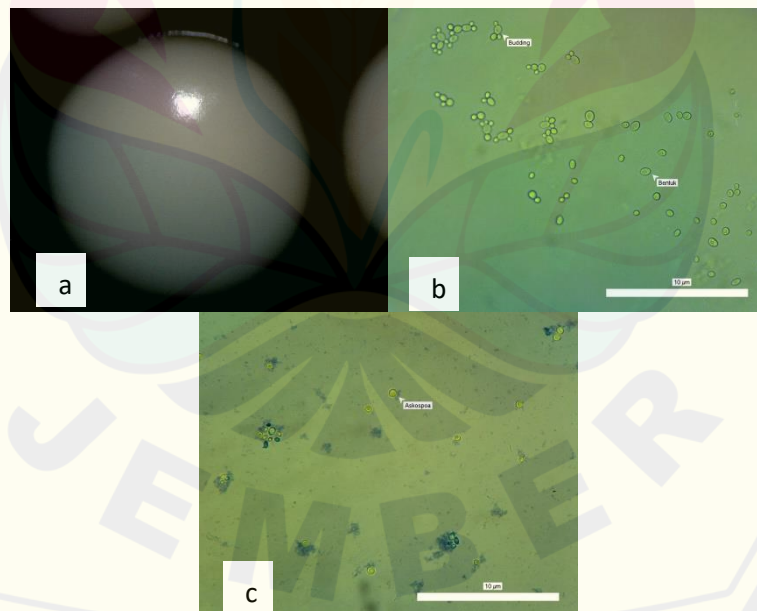




a) Morfologi makroskopis isolat D2 perbesaran 10x mikroskop stereo, b) bentuk sel dan *budding cell* perbesaran 400x, c) *pseudomycelium* perbesaran 400x, d) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.9 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat D2

Karakter isolat D3 secara makroskopis memiliki koloni berbentuk *circular* dan bertekstur *visous* (Gambar 4.9 a). Warna koloni permukaan isolat D3 adalah putih, sedangkan koloni bawah berwarna krem. Elevasi koloni D3 adalah *convex* dengan margin *entire*. Berdasarkan karakter mikroskopis isolat D3 memiliki sel berbentuk oval, memiliki *budding cell* tipe multilateral (Gambar 4.9 b), dan



a) Morfologi makroskopis isolat D3 perbesaran 10x mikroskop stereo, b) bentuk sel dan *budding cell* perbesaran 400x, c) askospora perbesaran 400x

Gambar 4.10 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat D3

Tabel 4.2 Karakter mikroskopis isolat *yeast*

Karakter	Kode Isolat							
	S1	S2	S3	S4	S5	D1	D2	D3
Bentuk Sel	Bulat	Oval	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Oval
<i>Budding cell</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomycelium	+	-	+	+	-	-	+	-
True Mycelium	-	-	-	-	-	-	-	-
Askospora	+	+	+	+	+	+	+	+
Arthrospora	-	-	-	-	-	-	-	-
Blastospora	-	-	-	-	-	-	-	-

Berdasarkan karakter mikroskopis pada tabel 4.2 delapan isolat *yeast* memiliki *budding cell*. *Budding cell* merupakan alat perkembangbiakan aseksual dengan membentuk tunas (Heritage *et al.*, 2000). Pertumbuhan tunas pada sel *yeast* dimulai dengan pembentukan evaginasi atau tonjolan kecil pada beberapa titik di permukaan sel induk. Ukuran sel induk tetap atau konstan selama perkembangan tunas, sedangkan kuncup (*blastoconidium*) akan bertambah besar membentuk sel baru. Sel baru selanjutnya akan terpisah dari induknya setelah beberapa waktu (Kurtzmn *et al.*, 1998). *Budding cell* dapat dibedakan jenisnya menjadi multilateral, multilateral, dan multilateral. Perbedaan jenis *budding cell* didasarkan pada letak munculnya tunas (Kurtzmn *et al.*, 1998).

Pseudomycelium merupakan pemanjangan sel *yeast* yang muncul dari tunas yang melekat bersama dalam rantai bercabang. Sel-sel individu dalam pseudomycelium adalah independen satu sama lain dan, sel-sel *pseudomycelium* tidak dihubungkan oleh pori-pori. Sel-sel *pseudomycelium* dapat berkembang pada spesies *yeast* tertentu (Heritage *et al.*, 2000). *Pseudomycelium* biasanya berkembang lebih baik dalam kondisi anaerobik. Pengamatan *pseudomycelium* menggunakan metode *slide culture*. Permukaan agar-agar (media PDA) ditutupi dengan kaca penutup dan pada bagian bawah kaca penutup akan menghasilkan *pseudomycelium* lebih mudah dari pada bagian lain (Osiewacz, 2022). Berdasarkan hasil pengamatan, *yeast* yang menghasilkan *pseudomycelium* yaitu isolat S1, S3, S4, dan D2.

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa delapan isolat *yeast* memiliki askospora. Isolat *yeast* diketahui dapat menghasilkan spora pada umur ± 21 hari. Askospora merupakan reproduksi *yeast* secara seksual. Askospora terbentuk melalui peleburan dua inti (konjugasi) antara sel dan tunasnya. *Ascosporeulation* biasanya diinduksi dalam kondisi yang membatasi *yeast* melakukan pertumbuhan secara vegetatif karena kandungan nutrisi pada media rendah (Kurtzmn *et al.*, 1998).

Pengamatan askospora menggunakan media wortel dengan masa inkubasi ± 21 hari. Media wortel wortel merupakan media yang memiliki kandungan karbohidrat rendah dapat menghambat pertumbuhan vegetatif, sehingga menginduksi *yeast* untuk bersporulasi. Beberapa jenis *yeast* dapat bersporulasi dengan cepat dalam waktu 48 jam, tetapi beberapa jenis *yeast* juga membutuhkan waktu yang lebih lama sekitar 6 minggu atau lebih untuk menghasilkan askospora. (Kurtzmn *et al.*, 1998).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Hasil isolasi *yeast* dari buah durian dan sawo yang merupakan buah lokal Kabupaten Jember didapatkan 8 isolat yaitu S1, S2, S3, S4, DS5, D1, D2, dan D3. Delapan isolat *yeast* mampu tumbuh pada media SSA yang mengandung amilum. Berdasarkan uji semi kuantitatif metode zona bening, delapan isolat *yeast* yang diperoleh tidak terdeteksi adanya zona bening (aktivitas amilolitik kecil). Berdasarkan uji kuantitatif metode *iodine* isolat *yeast* dengan kode S1 menunjukkan aktivitas amilase paling tinggi yaitu sebesar 0.272 ± 0.15 U/ml, sedangkan isolat D3 menunjukkan aktivitas amilase terendah yaitu sebesar 0.029 ± 0.02 U/ml.
2. Berdasarkan karakter morfologi makroskopis delapan isolat *yeast* yang terdiri dari S1, S2, S3, S4, DS5, D1, D2, dan D3 memiliki bentuk koloni, tektur, warna, permukaan elevasi, dan marin yang berbeda. Berdasarkan karakter mikroskopis delapan isolat *yeast* memiliki bentuk sel yang bervariasi yaitu bulat dan oval. Delapan isolat memiliki perkembangan reproduksi secara aseksual dengan *budding cell* dan secara seksual dengan askospora. *Pseudomycelium* hanya ditemukan pada isolat *yeast* dengan kode S1, S3, S4, dan D2.

5.2 Saran

Saran yang diberikan peneliti dari penelitian yaitu perlu dilakukan tahapan lebih lanjut terhadap karakterisasi isolat yang di dapatkan. Karakterisasi lebih lanjut dapat dilakukan secara uji fisiologi dan molekuler sehingga bisa didapatkan jenis isolat *yeast* sampai tingkat spesies. Ekstrak kasar enzim yang didapatkan pada penelitian perlu dilakukan uji enzimatis lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti Rahayu, S., N. Wathoni, S. Sriwidodo, dan L. Sophianingsih. 2019. Fabrication of native and enzymatically modified durian seed (*Durio zibethinus* Murr.) Starch. *Indonesian Journal of Pharmaceutics*. 1(2)
- Akbar, G. P., E. Kusdiyanti, dan Wijanarka. 2019. Isolasi dan karakterisasi secara morfologi dan biokimia khamir dari limbah kulit nanas madu (*Ananas comosus* L.) untuk produksi bioetanol. *Berkala Bioteknologi*. 2(2)
- Ali, M. N. dan M. M. Khan. 2014. Screening, Identification and characterization of alcohol tolerant potential bioethanol producing yeast. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*. 2(1) : 316-324
- Anggrayeni, Y. T., Wijanarka, dan E. Ksdiyantini. 2019. Isolasi dan identifikasi morfologi serta biokimia khamir hasil isolasi dari buah tomat (*Lycopersicum esculentum*) yang berpotensi menghasilkan bioetanol. *Bioma*. 21(1) : 16-24
- Antarlina, S. S. 2009. Identifikasi sifat fisik dan kimia buah-buahan lokal Kalimantan. *Buletin Plasma Nutfah*. 15(2)
- Astawan, M. 2010. *Budidaya Tanaman Sawo*. Jakarta: Penebar Swadaya (BSN) Badan Standar Nasional.
- Augusta, J., R.J. Muller, dan H. Widdecke. 1993. A rapid evaluation plate-test for biodegradability of plastics. *Applied Microbiology Biotechnology*. 39: 673-678
- Aziz, N. A. A. dan A. M. M. Jalil. 2019. Bioactive compounds, nutritional value, and potential health benefits of indigenous durian (*Durio zibethinus* Murr.): A Review. *Foods*.

Badan Pusat statistik dan Direktorat Jendral Holtikultura.

<https://www.bps.go.id/indicator/55/62/1/produksi-tanaman-buah-buahan.html#>

[Diakses pada 21 November 2022]

Bashir, K. dan M. Aggarwal. 2019. Physicochemical, structural and functional properties of native and irradiated starch : a review. *Journal of Food Science and Technology*. 56(2):513–523.

Batt, C.A dan M.L. Tortello. 2014. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Amsterdam : Elsevier

Bestari, N. C. dan Suharjono. 2015. Uji semi kualitatif dan kuantitatif isolat bakteri lipolitik dari limbah cair pabrik pengolahan ikan Kecamatan Muncar, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*. 3(3)

Brahmachari, G., A. L. Demain, dan J. L. Adrio. 2016. *Biotechnology of Microbial Enzymes Production, Biocatalysis and Industrial Application*. London : British Library Cataloguing

Caiser, G. 2022. *Microbiology*. California : LibreTexts

Charisma, A. M. 2019. *Buku ajar Mikologi*. Surabaya : Airlangga University Press

Chibuogwu, C., B. Amadi, Z. Anyaegbunam, B. Emesiani, dan S. Ofoefule. 2020. *Application of Starch and Starch Derivatives in Pharmaceutical Formulation*. Dalam Chemical Properties of Starch. Editor M. Emje. London: British Library Cataloguing

Contesini, F. J., J. A. Figueira., H. Y. Kawaguri., P. C. B. Fernandes., P. O. Carvallo., M. G. Nascimento, dan H. H. Sato. 2013. Potential applications of carbohydrases immobilization in the food industri. *International Journal of Molecular Sciences*. 14 : 1335-1369

Cornejo-Ramirez, Y. I., O. Martinez-Cruz., C. L. D. Toro-Sanchez., F. J. Wong-Corral., J. Borboa-Flores, dan J. Cinco-Moroyoqui. 2018. The structural characteristics of starches and their functional properties. *Journal of Food*. 16(1) : 1003-1017

- Damayanti, N. W. E., M. F. Abadi, dan N. W. D. Bintari. 2020. Perbedaan Jumlah Bakteriuri pada Wanita Lanjut Usia Berdasarkan Kultur Mikrobiologi Menggunakan Teknik Cawan Tuang dan Cawan Sebar. *Meditory*. 8(1)
- De Becze, G.I. 1955. A microbiological process report yeasts: morphology. *Applied Microbiology*. 4(1) : 1-12
- Deshmukh, A. S., M. M. Siddiqui, U. K. Pathan, dan U. P. Dhuldhaj. 2020. Microbial Study of Organisms Isolatd from Nutritional Fruit Juices Surrounded by Local Fruit Market in Nanded, Maharashtra, India. *Biodiversitas*. 21(9) : 4240-4246
- Djekrif-Dakhmouche, S., L. Gillman., L Bennamoun., A. A.A. K. El-Okki., K. Labbani., T. Nouadari, dan M. M. Zahia. 2016. Amylolytic Yeasts : producers of α -amilase and pullunase. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*. 2(4) : 339-354
- Eden, Y. dan S. T. Rahayu. 2019. Produk bioetanol daging buah sawo (*Manilkara zapota* L.) secara fermentasi batch dengan *Saccharomyces cerevisiae*. *Forum Ilmiah*. 16(2)
- Ed-har, A. A., R. Widyastuti, dan G. Djajakirana. 2017. Isolasi dan identifikasi mikroba tanah pendegradasi selulosa dan pektin dari rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. *Buletin Tanah Dan Lahan*. 1(1)
- Egharevba, H. O. 2020. *Chemical Properties of Starch and Its Application in the Food Industri*. Dalam Chemical Properties of Starch. Editor M. Emje. London : IntechOpen
- Feldmann, H. 2012. *Yeast Cell Architecture and Functions, Yeast:: Moleclar and Cell Biology: :Second Edition*. doi: 10.1002/9783527659180
- Ferguson, A. Ross, dan R. E. Pauul. 2020. *Holticultural Reviews Volume 47*. Amerika : Library of Congress Cataloging

Firdausi, W. dan E. Zulaika. 2015. Potensi *Azetobacter* spp. sebagai pendegradasi

karbohidrat. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 4(1) : 2337-3520

Gana, N. H. T., B. C. Mendoza, dan R. G. Monsalud. 2014. Isolation, screening and characterization of yeasts with amyolytic, lipolytic, and proteolytic activities from the surface of philippine bananas (*Musa spp.*). *Philippine Journal of Science*. 143(1) : 81-87

Goldbeck, R., C. C. P. Andrade, G. A. G. Pereira, dan F. M. Filho. 2012. Screening and identification of cellulose producing yeast-like microorganisms from Brazilian biomes. *African Journal of Biotechnology*

Hamzah, B., S. Rahmawati, W. S. Suwena, M. F. Hardani, dan R. Hardani. 2020. Analysis of tannin in sapodilla fruit (*Manilkara zapota* (L) Van Royen). *Rayasan Journal of Chemistry*. 13(4):2243–2248

Hardiyanti, R., S. Suharman., M. Z. E. Sinaga, I. P. Mahendra, dan A. Hartanto. 2021. Physicochemical Characteristics of Modified Starch Granules from *Durio zibethinus* Murr. Var. Bintara. *The International Conference on Chemical Science and Technology*. 2342(1). 22 April 2021. AIP Publishing.

Harto, Y., Y. Rosalina, dan L. Susanti. 2016. Karakteristik fisik, kimia, dan organoleptik selai sawo (*Achras zapota* L.) dengan penambahan pektin dan sukrosa. *Jurnal Agroindustri*. 6(2):88-100

Hermanto, C., ni luh putu Indriani, dan S. Hardianti. 2013. Keragaman dan kekayaan buah tropika nusantara. *Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian*. 68–70.

Heritage, J., E.G.V. Evans, dan R. A. Killington. 2000. *Intoroductory Microbiology*. Cambridge : Thr Press Syndiscste of The Universiti of Cambridge

Hidayat, J. dan D. Fajariningtyas. 2021. Isolasi bakteri amilolitik dari ragi. *Lensa (Lentera Sains)*. 3(2)

Hidayat, J. N., S. Siswanto, dan E. Utarti. 2021. Karakteristik khamir amilolitik

dari berbagai macam buah. *LENSA (Lentera Sains): Jurnal Pendidikan IPA*. 2(2):39–43.

Hipol, R.M. 2014. Antioxidant Potentials of culturable endophytic yeasts from *Phragmites australis* Cav. (Trin) ex Steud, from copper-contaminated mining site in Mankayan, Benguet. *Philippines Science Letters*. 7(2)

Ho, L. H. dan R. Bhat. 2015. Exploring the potential nutraceutical values of durian (*Durio zibethinus* L.) - an exotic tropical fruit. *Food Chemistry*.

Ho, L.-H. dan S.-Y. Wong. 2020. *Chemical Properties of Starch*. United Kingdom: Britis Library Catalouging

Ishmayana, S., D.S. Kamara, S.D. Rachman, I. Kardi, dan M. Fahillah. 2008. Amylase Production from The Yeast *Saccharomycopsis fibuligera* and its Potency for Glucose Production from Raw Starch. *Proceeding of The International Seminar on Chemistry*. 3-31 Oktober 2008. *Universitas Padjajaran* : 688-691

Jamilatun, M., N. Azzahra, dan A. Aminah. 2020. Perbandingan pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada media instan Modifikasi carrot sucrose agar dan potato dextrose agar. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 4(1):168–174.

Joseph, R. dan A. K. Bachhawat. 2014. *Yeasts: Production and Commercial Uses*. Dalam *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*. Editor C. A. Batt dan M. Tortello. Amsterdam : Elsevier

Knop, M. 2011. Comptes rendus biologies yeast cell morphology and sexual reproduction – a short overview and some considerations rations. *Comptes Rendus - Biologies*. 334(8–9):599–606.

Kurtzman, C. P. dan J. W. Fell. 1998. *The Yeast, A Taxonomic Study Four Edition Enlarged Edition*. London : Elsevier

Li, Z., K. Guo, L. Lin, W. He, L. Zhang, dan C. Wei. 2018. Comparison of physiochemical properties of starches from flesh and peel of green banana

fruit. *Molecules*. 23(9):1–15.

Lopandic, K., U. Rentsendorj, H. Prillinger, dan K. Sterflinger. 2013. molecular characterization of the closely related *debaryomyces* species : proporsition of *D. vindobonensis* sp. nov. from a municipal wastewater treatment plant. *Journal of General and Applied Microbiology*. 59 : 49-58

Lu, W., H. T. Wang., S. J. Yang. Z. C. Wang, dan Y. F Nie. 2005. Isolation and characterization of mesophilic cellulose-degrading bacteria from flower stalk-vegetable waste co-composting system. *J. Gen. App. Microbiol.* 51 : 353-360

Maharani, L. dan F. Zuhro. 2017. Identifikasi faktor kimiawi kulit durian sebagai potensi sumber antikolesterol alami. *Jurnal Bionature*. Vol 18(1)

Maicas, S. 2020. The Role of *Yeast* in Fermentation Processes. *Microorganism*. 8. Doi : 10.3390/microorganisms801142

Maragatham, C. dan A. Panneerselvam. 2011. Isolation, identification and characterization of wine *yeast* from rotten papaya fruits for wine production. *advances in applied science research*. 2(2) :93-98

Martens, b. m. j., w. j. j. gerrits, e. m. a. m. bruininx, dan h. a. schols. 2018. Amylopectin structure and crystallinity explains variation in digestion kinetics of starches across botanic sources in an in vitro pig model. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 9(1):1–13.

Myburgh, M. W., R. A. Cripwell., L. Favaro, dan W. H. Zyl. 2019. Application of industrial amylolytic *yeast* strain for the production of bioethanol from broken rice. *Bioresource Technology*. 294

Nisa, I. K., S. Prabaningtyas., B. Lukiati., R. T Saptawati, dan A. Rodiansyah. 2021. The potential of amilase enzyme activity against bacteria isolatd from several lakes in East Java, Indonesia. *Biodiversitas*. 22(1)

Nurhartadi, E. dan E. S. Rahayu. 2011. Isolasi dan karakterisasi *yeast* amilolitik

dari ragi tape. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 4(1)

Oca, R. M. de, A. Z. . Salem, A. . Kholif, H. Monroy, L. . Pérez, J. . Zamora, dan A. Gutiérrez. 2016. *Yeast : Description and Structure*. Dalam *Yeast Additive and Animal Production*. Editor A. Z. M. Salem, A. E. Kholif, dan A. K. Puniya. India: PubBiomed Central Research Publishing Service

Osiewacz, H.D. 2022. *Molecular Biology of Fungal Development*. Germany : CRC Press

Ouédraogo, N., A. Savadogo, C. Zongo, K. M. Somda, dan A. S. Traoré. 2012. High performance amyolytic yeast strains isolation and identification for valorization of potatoes waste available in burkina faso. *International Food Research Journal*. 19(4):1463–1469.

Querol, A dan G. H. Fleet, G.H. 2006. *Yeast in Foods and Beverages*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag

Palijama, S., M. Singkery, R. Breemer, dan F. J. Polnaya. 2020. Isolation and characteristics of *Musa troglodytarum* L. starch at different maturity stage. *Journal of Physics: Conference Series*. 1463(1)

Pascon, R. C., R. F. Bergamo, R. X. Spinelli, E. D. De Souza, D. M. Assis, L. Juliano, dan M. A. Vallim. 2011. amyolytic microorganism from são paulo zoo composting: isolation, identification, and amilase production. *Enzyme Research*.

Pfeiffer, T. dan A. Morley. 2014. An Evolutionary Persepective on the Crabtree Effect. *Molecular Bioscience*.

Phale, S. 2018. *Yeast: characteristics and economic significance*. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*. 08(05):8–10.

Prihartini, M. dan M. Ilmi. 2018. Karakterisasi dan klasifikasi numerik khamir dari madu hutan Sulawesi Tengah. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 2(2): 112

- Puspita, D. E. N. E. I. M. T. 2020. Isolasi, identifikasi dan uji produksi *yeast* yang diisolasi dari nira kelapa. *Biosfer : Jurnal Biologi Dan Pendidikan Biologi*. 5(1):1–5.
- Putri, K. F. dan A. R. I. Pitoyo. 2021. Gallic acid content in sapodilla fruit and seed (*Manilkara zapota*) and the correlation with germination control in recalcitrant Seed. *Cell Biology & Development*. 5(1):7–16.
- Putri, N. E. 2017. Analisis total padatan tak larut air dan sifat organoleptik madu sawo (*Achras zapota* L.). *Jurnal Agroteknologi dan Sains*. 2(1)
- Ragab, M., A. Raheem., M. K. A. Farag., W. S. M. Ragab., E. A . Rahman, dan G. A. Ghonaimy. 2011. isolation and identification of amylolytic yeasts from agricultural and industrial wastes. *Assiut of Agric. Sci*. 42(3): 55-64
- Rahayu, S. A., N. Wathoni., Sriwidodoi, dan L. Sophianingsih. 2019. fabrication of native and enzymatically modified durian seed (*Durio zibethinus* Murr.) Starch. *Indonesian Journal of Pharmaceutics*.1(2): 1-6
- Rellosa, F., S. P. Mesina, dan R. Fiscal. 2020. Development and evaluation of sugar from Chico (*Manilkara zapota*) fruit. *Asia Pacific Journal of Multidisciplinary Research*. 8(2)
- Richter, M. 1996. Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives. *Food / Nahrung*. 40(6)
- Rosmania dan F. Yanti. 2020. Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 22 (2) : 76-86
- Sanyang, M. L., R. A. Ilyas, S. M. Sapuan, dan R. Jumaidin. 2017. *Sugar Palm Starch-Based Composites for Packaging Applications*. Dalam *Bionanocomposites for Packaging Applications*. Editor M. Jawaid , dan S. K. Swain. Berlin : Springer

- kota Bahagia District , South Aceh , Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*. 2(1)
- Shafiee, R., I. Nahvi, dan G. Emtiazi. 2005. Bioconversion of raw starch to SCP by oculture of *Cryptococcus aerius* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Sciences*. 5(6) : 717-723
- Sharma, R., P. Gang., P.Kumar., S. K. Bhatia, dan S. Kulshrestha. 2020. Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods. *Fermentation*. 6(4)
- Speers, A. dan J. Forbes. 2015. *Yeast: An Overview*. Dalam *Brewing Microbiology: Managing Microbes, Ensuring Quality and Valorising Waste*. Editor A. E. Hill. Cambridge : Woodhead Publishing
- Sudharsan, S., S. Senthikumar, dan K. Ranjith. 2007. Physical and nutritional factors affecting the production of amylase from species of *Bacillus* isolatd from spoiled food waste. *African Journal of Biotechnology*. 6(4): 430-435
- Sukmawati, D., Z. Arman, G. A. Sondana, N. N. Fikriyah, R. Hasanah, Z. N. Afifah, M. Balqis, H.E. Enshasy, S.N.A. Husna, S. Rahayu, T.H. Kurniati, dan R. Puspitaningrum. 2019. Potential amylase-producing yeast isolatd from indogenous fermented beverages originating from Bali, Indonesia. *Journal of Physics Conference Series*. 1402(5)
- Sukmawati, D., Larasati, R. P., Kurniawati T. K., Arman Z. dan H. E. Enshasy. 2019. Molds isolatd from chicken feed as potential amilase resource. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 8(11): 188-196
- Sulmiyati, N. S. Said, D. U. Fahrodi, R. Malaka, dan F. Maruddin. 2018. The characteristics of lactic acid bacteria isolatd from Indonesian commercial kefir grain. *Malaysian Journal of Microscopy*. 14(7): 632-639
- Sunaryanto, R. dan A. Marasabessy. 2016. Optimalisasi media produksi amiloglukosidase menggunakan fermentasi media padat. *Jurnal Bioteknologi*

& *Biosains Indonesia*. 3(1)

Sundari. 2012. Suatu modul pengembangan media pembelajaran slide culture untuk pengamatan struktur mikroskopis kapang pada matakuliah mikologi. *Jurnal Bioedukasi*. 1(1)

Syuhada, N., M. Yazid, N. Abdullah, N. Muhammad, dan M. Matias-peralta. 2018. Application of starch and starch-based products in food industri. *Journal of Science and Technology*. 10(2) : 144-174

Tikka, C., H.Osuru., N. Atluri., P. C. V. Raghavulu., N. K. Yellapu., I. S. Mannur., U. V. Prasad., S. Aluru., N. Varma & M. Bhaskar. 2013. Isolation and characterization of ethanol tolerant yeast strain. *Bioinformation*. 9(8)

Urry, L. A., M. L. Cain, P. V. Minorsky, S. A. Wasserman, dan R. B. Orr. 2020. *Campbell Biology Edisi Keduabelas. Biologi*. London :Pearson Education

Vadkertiová, R., J. Molnárová, D. Vránová, dan E. Sláviková. 2012. Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Canadian Journal of Microbiology*. 58(12):1344–1352.

Venkatesan, T. dan C. Tamilmani. 2013.Effect of ethrel on the starch sugar changes of off-season fruits of mango (*Mangifera indica* L. Var. *Neelum*) during ripening. *International Letters of Natural Science*. 7 : 1-12

Wang, K., R. J. Henry, dan R. G. Gilbert. 2014. Causal relation among starch biosynthesis, structure, and properties. *Springer Science Reviews*. 2 : 15-33

Wei, J., C. Niu, B. Liu, Y. Yuan, dan T. Yue. 2017. Identification and characterization of epiphytic yeasts on apples in China. *The Royal Society of Chemistry*. 7 : 44767-4472

Widiastutik, N. dan N. H. Alami. 2014. Isolasi dan identifikasi yeast dari rhizosfer *Rhizophora mucronata* Wonorejo. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 3(1):11–16.

- Wulandari, T. P., D. Skmawati, dan T. H. Krniawati. 2017. Isolasi dan seleksi khamir amilolitik asal buah nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Bioma* 13(1)
- Xiao, Y., J. Kuang., X. Qi., Y. Ye., Z. Wu., J. Chen, dan W. Lu. 2018. A comprehensive investigation of starch degradation of a transcriptional activator MabHLH6 during banana fruit ripening. *Plant Biotechnology Journal*. 16 (1): 151-164
- Yuniastuti, E., S. R. Bukka, dan U. S. Maret. 2018. Karakterisasi durian (*Durio zibenthinus*) Ngrambe di Jawa Timur , Indonesia. 33(2):136–145.
- Yuan, H., W. Chen., Y. Chen., L. Wang., C. Zhang., W. Deng., L. Zhang., G. Liu., C. Shen., K. Lou, dan S. Wang. 2021. Isolation and characterization of yeasts for the production of rice wine with low fusel alcohol content. *Plos One*. 16(11) : 1-18
- Zunaindah, S. dan N. H. Alami. 2014. Isolasi dan Karakterisasi *Yeast* dari *Rhizosphere avicennia* Marina Wonerojo. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*. 3(1) : 2337-3520

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Pembuatan Media *Pepton Yeast Glucose* (PYG)

Komposisi Media PYG :

Komposisi	Jumlah
Pepton	0.5 gram
<i>Yeast extract</i>	0.5 gram
Glukosa	0.5%, 1%, 2.5%, 5%, 7.5%, dan 10%
Akuades	100 ml

Cara pembuatan media PYG :

Sebanyak 0.5 gram pepton, 0.5 gram *yeast extract*, glukosa dengan konsentrasi berbeda (0.5%, 1%, 2.5%, 5%, 7.5%, dan 10%) dan 100 ml akuades dipanaskan hingga larut. Komposisi media PYG yang telah larut kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer menggunakan pipet volume, masing-masing labu Erlenmeyer berisi 10 ml media. Media PYG selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf.

Lampiran 3.2 Pembuatan Media *Pepton Yeast Glucose* (PYG) Padat 10 %

Komposisi Media PYG Padat 10% :

Komposisi	Jumlah
Pepton	0.5 gram
<i>Yeast extract</i>	0.5 gram
Glukosa	10% (10 gram)
Agar	1.7 gram
Akuades	100 ml

Cara pembuatan media PYG 10%

Sebanyak 0.5 gram pepton, 0.5 gram *yeast extract*, glukosa 10% (10 gram), 1.7 gram agar dan 100 ml akuades dipanaskan hingga larut. Komposisi media PYG yang telah larut kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet volume, masing-masing tabung reaksi berisi 10 ml media. Media PYG selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf.

Lampiran 3.3 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Komposisi Media PDA :

Komposisi	Jumlah
Kentang	200 gram
Dextrose	10 gram
Agar	17 gram
Akuades	1000 ml

Cara pembuatan :

Kentang sebanyak 200 gram yang telah dibersihkan dan dipotong kecil-kecil kemudian dididihkan menggunakan 1000 ml akuades. Kentang yang telah empuk selanjutnya disaring hingga didapatkan filtratnya. Filtrat kentang kemudian dipanaskan kembali, kemudian dimasukkan 10 gram dextrose dan 17 gram agar sambil diaduk. Media PDA yang telah mendidih selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung berisi 10 ml. Media PDA selanjutnya diinkubasi menggunakan autoklaf.

Lampiran 3.4 Pembuatan media *Soluble Starch Agar* (SSA)

Komposisi Media SSA :

Komposisi	Jumlah
<i>Soluble starch</i>	2 gram
<i>Pepton</i>	5 gram
<i>Yeast extract</i>	3 gram
Agar	17 gram
Akuades	1000 ml

Cara pembuatan :

Sebanyak 2 gram *soluble starch*, 3 gram yeast, 5 gram pepton, dan 1000 ml akuades dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih ditambahkan 17 gram agar dan diaduk hingga homogen. Media SSA selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung berisi 10 ml. Media PDA selanjutnya diinkubasi menggunakan autoklaf.

Lampiran 3.5 Pembuatan Media Produksi Enzim

Komposisi Media Produksi Enzim :

Komposisi	jumlah
<i>Yeast extract</i>	10 gram
Pepton	3 gram
K ₂ HPO ₄	1 gram
KH ₂ PO ₄	0.04 gram
<i>Soluble starch</i>	30 gram
Akuades	1000 ml

Cara pembuatan :

Sebanyak 10 gram *yeast extract*, 3 gram pepton, 1 gram K₂HPO₄, 0.04 gram KH₂PO₄, 40 gram *soluble starch*, dan 1000 ml akuades dipanaskan diatas hotplat. Campuran bahan tersebut diaduk hingga homogen dan dipanaskan hinga mendidih. Setelah mendidih media produksi enzim dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer sebanyak 20 ml pada masing-masng labu Erlenmeyer. Selanjutnya media produksi disterilisasi menggunakan autoklaf.

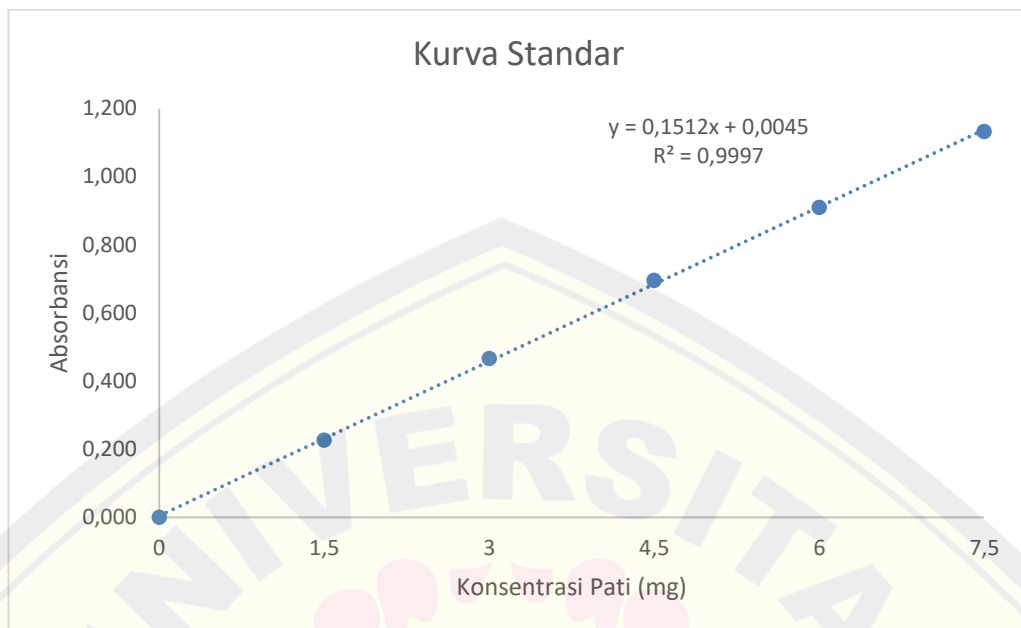
Lampiran 3.6 Pembuatan Substrat Amilum 1%

Komposisi Substrat Amilum 1% :

Komposisi	Komposisi
Amilum	1 % (1 gram)
Akuades	100 ml

Cara pembuatan :

Sebanyak 1 gram amilum ditambahkan 5 ml akuades dan diaduk hingga membentuk pasta. Amilum yang telah membentuk pasta kemudian dimasukkan ke dalam 50 akuades filtrasi yang telah mendidih. Setelah mendidih ditunggu selama 5 menit, kemudian didinginkan. Larutan yang telah didinginkan kemudian ditambahkan 50 ml akuades steril.

Lampiran 3.7 Kurva Standar Amilum

Lampiran 4.1 Rata-Rata Diameter Koloni *Yeast*

Kode Isolat	Diameter koloni (mm)	
	Pengulangan I	Pengulangan II
	S1	5,4
S2	5,5	5,4
S3	5,3	5,4
S4	5,4	5,7
S5	5,5	5,7
D1	5,4	5,6
D2	4,7	5
D3	5	5,4

Lampiran 4.2 Uji Aktivitas Amilolitik 8 Isolat Secara Kuantitatif

Kode Isolat	Aktivitas Enzim (U/ml)
S1	0.272±0.15
S2	0.116±0.03
S3	0.061±0.03
S4	0.111±0.07
S5	0.111±0.05
D1	0.042±0.01
D2	0.035±0.01
D3	0.029±0.02