

**POTENSI KHAMIR DARI TANAH PERAKARAN BAMBU
SEBAGAI FERMENTOR LIMBAH BUAH APEL**

Oleh
NANDA ULFA RIZKI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2017**

**POTENSI KHAMIR DARI TANAH PERAKARAN BAMBU
SEBAGAI FERMENTOR LIMBAH BUAH APEL**

**OLEH
NANDA ULFA RIZKI
125040201111241**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2017**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Potensi Khamir dari Tanah Perakaran Bambu sebagai
Fermentor Limbah Buah Apel
Nama Mahasiswa : Nanda Ulfa Rizki
NIM : 125040201111241
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 2013 04841014 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Penguji II

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 2013 04841014 1 001

Penguji III

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji IV

Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS.
NIP. 19550522 198103 1 006

Tanggal Lulus :

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Januari 2017

Nanda Ulfa Rizki
125040201111241



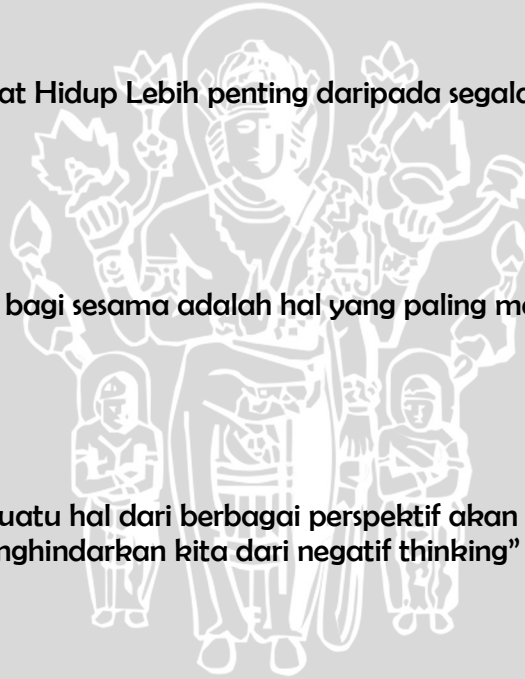
**Skripsi ini kupersembahkan untuk
orang-orang tercinta dan paling berpengaruh yaitu
kedua orang tua dan adik-adikku, serta segenap
keluarga besar**

**“Antara putus asa dan pasrah adalah dua hal yang hampir tidak ada
pembatasnya”**

“Semangat Hidup Lebih penting daripada segalanya”

“Hidup bermanfaat bagi sesama adalah hal yang paling membahagiakan”

**“Memandang suatu hal dari berbagai perspektif akan membantu
menghindarkan kita dari negatif thinking”**



RINGKASAN

Nanda Ulfa Rizki. 125040201111241. Potensi Khamir dari Tanah Perakaran Bambu sebagai Fermentor Limbah Buah Apel. Dibawah Bimbingan Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. Sebagai Pembimbing Utama, dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. Sebagai Pembimbing Pendamping.

Limbah buah apel dapat digunakan sebagai substrat fermentasi karena mengandung karbohidrat. Khamir berpotensi untuk digunakan sebagai fermentor bahan organik karena memiliki kemampuan dapat melakukan fermentasi. Tanah perakaran tanaman bambu menjadi tempat yang berpotensi dilakukan kajian keberadaan khamir di dalam karena diketahui banyak terdapat simbiosis mikroorganisme bermanfaat. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi khamir yang terdapat di tanah perakaran bambu beserta sifatnya. Selain itu, untuk mengidentifikasi hubungan antara sifat khamir dengan proses fermentasi, dan mendapatkan khamir yang mampu bertindak sebagai fermentor limbah buah apel.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juni 2016. Limbah buah apel diperoleh dari wilayah Jalan Raya Dadaprejo Kecamatan Junrejo Kota Batu (07° 90' 63.96" LS, 112° 57' 77.39" BT). Contoh tanah diperoleh dari perakaran tanaman bambu di tiga lokasi yaitu Jalan Mertojoyo Kelurahan Merjosari Kecamatan Lowokwaru (07° 94' 53.56" LS, 112° 60' 17.02" BT), Jalan Sasando Kelurahan Tunggulwulung Kecamatan Lowokwaru (07° 92' 48.25" LS, 112° 60' 67.88" BT), dan Jalan Kembang Kertas Kelurahan Jatimulyo Kecamatan Lowokwaru (07° 94' 26.29" LS, 112° 61' 80.36" BT).

Khamir yang berhasil diisolasi dari ketiga lokasi pengambilan contoh diantaranya *Protomyces* sp, *Agaricostilbum* sp1, *Agaricostilbum* sp2, *Agaricostilbum* sp3, *Debaryomyces* sp1, *Debaryomyces* sp2, *Debaryomyces* sp3, *Trigonopsis* sp1, *Trigonopsis* sp2, *Udeniomyces* sp1, *Udeniomyces* sp2, *Ascoidea hylecoeti*, and *Komagataella* sp. Hasil uji pertumbuhan media cair menunjukkan bahwa terdapat khamir yang bersifat fermentatif obligat, fermentatif fakultatif, dan oksidatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sifat khamir sangat berpengaruh pada proses fermentasi. Selain itu, seluruh khamir yang berhasil diisolasi dari tanah perakaran bambu mampu bertindak sebagai fermentor limbah buah apel.

SUMMARY

Nanda Ulfa Rizki. 125040201111241. Yeast potential from Soil Bamboo Roots as Fermenter Apple Fruit Waste. Supervised by Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.

Apple fruit waste can be used as a substrate for fermentation because carbohydrates content. Yeast has the potential to be used as a fermentor organic material because it has the ability can ferment. Soil bamboo plant roots into a potentially do a study where the wild yeast because it is known there are many beneficial symbiotic microorganisms. This study aims to identify the yeast contained in soil bamboo roots and the yeast's characteristic. In addition, to identify the relationship between the yeast's characteristic with fermentation process, and get a yeast has capable of acting as a fermenter apple fruit waste.

The research was conducted at the Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya. Research was conducted in February and June 2016. Apple fruit waste obtained from the Dadaprejo Street Junrejo District Batu City (07° 90' 63.96" S, 112° 57' 77.39" EL). Soil samples obtained from soil bamboo roots in three locations: Mertojoyo Street Merjosari Village Lowokwaru District (07° 94' 53.56" S, 112° 60' 17.02" EL), Sasando Street Tunggulwulung Village Lowokwaru District (07° 92' 48.25" S, 112° 60' 67.88" EL), and Paper Flower Street Jatimulyo Village Lowokwaru District (07° 94' 26.29" S, 112° 61' 80.36" EL).

Yeasts were isolated from three sampling sites include *Protomyces* sp, *Agaricostilbum* sp1, *Agaricostilbum* sp2, *Agaricostilbum* sp3, *Debaryomyces* sp1, *Debaryomyces* sp2, *Debaryomyces* sp3, *Trigonopsis* sp1, *Trigonopsis* sp2, *Udeniomyces* sp1, *Udeniomyces* sp2, *Ascoidea hylecoeti*, and *Komagataella* sp. The results yeast's growth in liquid medium test indicates that yeast from soil bamboo roots have fermentative obligate, facultative fermentatif, and oxidative characteristics. The results fermentation test indicates that the yeast's characteristics is very influential in the fermentation process. In addition, all yeasts isolated from bamboo soil roots are able to act as a fermenter apple fruit waste.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Surabaya, 28 Mei 1994 sebagai putri pertama dari Bapak Sudibyo dan Ibu Suyatmi. Penulis merupakan tiga bersaudari dengan adik bernama Sukma Arsyah Hidayah dan Yuni Ayu Christanty. Saat ini penulis menetap di kota Nganjuk.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Pesudukuh dan lulus pada tahun 2006. Penulis melanjutkan pendidikan di SMP N 6 Nganjuk pada tahun 2006 dan lulus pada tahun 2009. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA N 1 Berbek, kabupaten Nganjuk pada tahun 2009 dan lulus pada tahun 2012. Tahun 2012 penulis melanjutkan pendidikan sebagai mahasiswa Strata-I program studi Agroekoteknologi jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur melalui jalur SNMPTN dengan beasiswa Bidik Misi.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Statistika, Teknologi Pupuk dan Pemupukan, Irigasi dan Drainase, Manajemen Agroekosistem, Teknologi Produksi Benih pada tahun 2015-2016, Manajemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Ilmu Hama Tumbuhan, serta Peramalan Hama dan Epidemiologi Penyakit. Penulis pernah melaksanakan magang kerja di PT. Perkebunan Nusantara X Jember.

Penulis pernah mengikuti organisasi dan beberapa kepanitiaan ditingkat Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penulis pernah menjadi Divisi Konsumsi di kepanitiaan RANTAI IV yang diselenggarakan oleh FORKANO, Divisi Transportasi, Akomodasi, dan Perlengkapan di kepanitiaan Kreasi Ilmiah yang diselenggarakan oleh HIMAPTA, anggota Majelis Permusyawaratan Mahasiswa (MPM) delegasi HIMAPTA periode 2015-2016, serta Divisi Transportasi, Akomodasi, dan Perlengkapan dan Divisi Protektor di kepanitiaan PROTEKSI yang diselenggarakan oleh HIMAPTA.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Potensi Khamir dari Tanah Perakaran Bambu sebagai Fermentor Limbah Buah Apel”.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis.
2. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas arahan dan fasilitas yang telah diberikan kepada penulis.
3. Kedua orang tua, adik-adik, dan keluarga besar atas do'a, bantuan, kasih sayang, pengetahuan, motivasi, dan dukungan yang diberikan kepada penulis.
4. Rekan-rekan Jl. Sumpersari 225 K Gg IV, HIMAPTA, dan teman-teman HPT angkatan 2012 atas do'a, bantuan, semangat, dan dukungan yang diberikan kepada penulis.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Malang, Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Hipotesis	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Khamir	4
2.2 Fermentasi oleh Khamir	5
2.4 Bambu	8
2.5 Buah Apel	9
III. METODOLOGI	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	12
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	12
3.3 Rancangan Penelitian	13
3.4 Pelaksanaan Penelitian	13
3.4.1 Pengambilan Contoh Tanah	13
3.4.2 Isolasi dan Purifikasi Khamir	13
3.4.3 Identifikasi Khamir	14
3.4.4 Uji Pertumbuhan Khamir pada Media Cair	14
3.4.5 Pembuatan Substrat Fermentasi	14
3.4.6 Pembuatan Starter Khamir	15
3.4.7 Uji Fermentasi	15
3.5 Variabel Pengamatan	15
3.6 Analisis Data	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Genus Khamir dari Tanah Perakaran Bambu	17
4.2 Sifat Khamir dari Tanah Perakaran Bambu	29
4.3 Hubungan Sifat Khamir dengan Fermentasi	33
4.4 Fermentasi oleh Khamir Menggunakan Limbah Buah Apel	36
V. PENUTUP	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	49



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kenampakan Mikroskopis Sel Khamir	4
2.	Bambu	8
3.	<i>Protomyces</i> sp	17
4.	<i>Debaryomyces</i> sp1	19
5.	<i>Agaricostilbum</i> sp1	20
6.	<i>Agaricostilbum</i> sp2	20
7.	<i>Debaryomyces</i> sp2	21
8.	<i>Trigonopsis</i> sp1	22
9.	<i>Udeniomyces</i> sp1	23
10.	<i>Ascoidea hylocieti</i>	24
11.	<i>Komagataella</i> sp	25
12.	<i>Udeniomyces</i> sp2	26
13.	<i>Agaricostilbum</i> sp3	27
14.	<i>Debaryomyces</i> sp3	28
15.	<i>Trigonopsis</i> sp2	29
16.	Uji Pertumbuhan Media Cair Isolat Lokasi Pertama	30
17.	Uji Pertumbuhan Media Cair Isolat Lokasi Kedua	31
18.	Uji Pertumbuhan Media Cair Isolat Lokasi Ketiga	32
19.	Grafik Kadar Alkohol setelah Fermentasi selama 72 Jam	34
20.	Grafik Perubahan pH pada Substrat Fermentasi	39
21.	Grafik Perubahan Suhu pada Substrat Fermentasi	41
22.	Grafik Perubahan Nilai OD pada Substrat Fermentasi	42

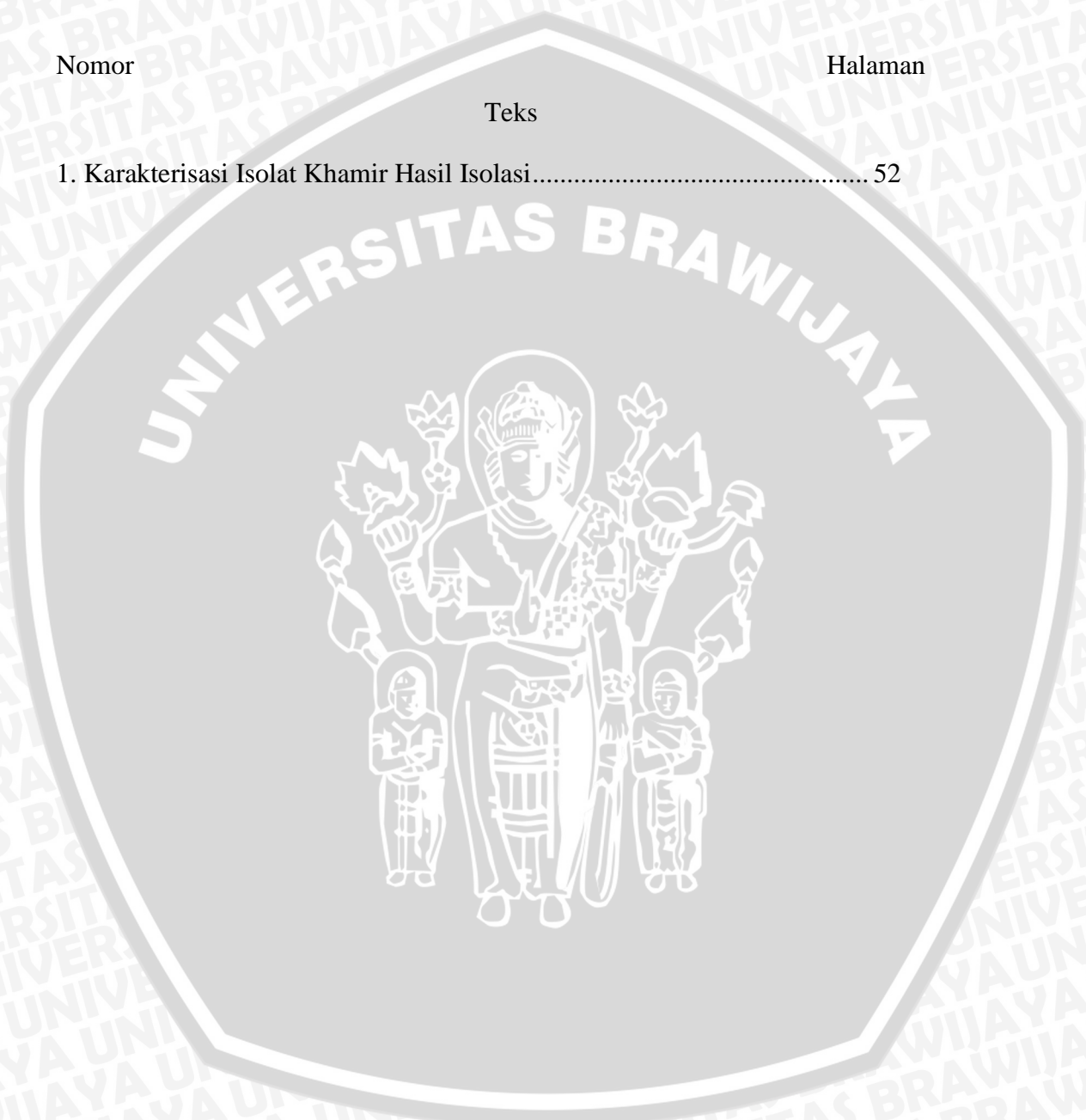
Nomor	Lampiran	Halaman
1.	Pelaksanaan Isolasi Khamir	50
2.	Pelaksanaan Pembuatan Substrat Fermentasi	50
3.	Pelaksanaan Pembuatan Starter Khamir	51
4.	Pelaksanaan Persiapan Substrat Uji Fermentasi	51



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kandungan Gizi Buah Apel per 100 g	10

Nomor	Teks	Halaman
1.	Karakterisasi Isolat Khamir Hasil Isolasi.....	52



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Limbah buah apel dapat digunakan sebagai substrat fermentasi karena beberapa kandungannya salah satunya yaitu karbohidrat (Basmal, 2010). Hal tersebut berkaitan dengan jumlah tanaman apel di Malang yang mencapai 1.974.366 pohon dengan produksi sebesar 842,80 kuintal per tahun. Jumlah produksi selalu diikuti dengan jumlah kerusakan buah yang mencapai 10% dari total produksi (840 kg), sehingga berpotensi menjadi limbah (Anonim, 2010). 100 gram buah apel mengandung energi 58,00 kal, karbohidrat 14,90 gram, *kalsium* 6,00 mg, *fosfor* 10,00 mg, besi 1,30 mg, serat 0,70 mg, vitamin A 24,00 rpe (Bambang, 1997 dalam Subagyo *et al.*, 2010).

Khamir memiliki keunggulan dapat memfermentasi bahan organik (Balla, 2004). Khamir dalam proses fermentasi pupuk organik diketahui dapat berfungsi sebagai pelarut fosfat, sehingga dapat memenuhi kebutuhan fosfat tanaman (Ashliha *et al.*, 2014). *Trichosporon pullulans* adalah salah satu khamir yang diketahui mempunyai aktivitas *fosfatase* dan *ligninase* yang sangat bermanfaat dalam proses fermentasi bahan organik (Slavikova *et al.*, 2002). Sedikitnya jenis khamir yang diketahui dan rentang habitat khamir di alam yang sangat luas, menjadikan perlu adanya kajian mengenai keberadaan khamir di alam. Kajian keberadaan khamir di alam dapat dilakukan di tanah perakaran tanaman. Hal ini dikarenakan khamir yang hidup didaerah perakaran tanaman menjadi salah satu pemegang peranan penting dalam fermentasi bahan organik karena komponen tubuhnya yang terdiri dari enzim-enzim penting seperti *selulase*, *fosfatase*, *lipase*, dan *proteinase* (Spencer *et al.*, 1997).

Bambu merupakan tanaman yang tergolong rumput-rumputan dan mudah dijumpai di Indonesia (Batubara, 2002). Akar tanaman bambu diketahui terdapat mikroorganisme dekomposer seperti *Pseudomonas flourescens* dan *Bacillus polymixa* yang dapat membantu dalam proses fermentasi (Styorini, 2010). Selain itu, *P. flourescens* dan *B. polymixa* dapat menghasilkan enzim dan hormon yang mampu memicu pertumbuhan tanaman, serta mampu menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan mikroba yang bersifat patogenik (Efendi, 2012). Seresah daun bambu dilaporkan terdapat beberapa

mikroorganisme yang dapat mendekomposisi bahan organik melalui proses fermentasi. Mikroorganisme tersebut diantaranya *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus* sp, dan *Aspergillus* sp (Subba, 1994 dalam Sigit *et al.*, 2014).

Fermentor adalah mikroorganisme yang dapat melakukan proses fermentasi. Mikroorganisme fermentor sangat bermanfaat khususnya dibidang pertanian untuk mempercepat proses pengomposan bahan organik melalui proses fermentasi (Saptoadi, 2003 dalam Subandriyo, 2013). fermentasi yaitu proses yang melibatkan mikroorganisme dalam merubah senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Anonim, 2015). Yeast fermentor yang banyak digunakan masyarakat untuk pengolahan dibidang pertanian, industri, peternakan, dan pengolahan makanan yaitu *S. cerevisiae*.

Khamir yang digunakan sebagai probiotik diketahui berpengaruh dalam proses fermentasi cairan rumen dan dapat digunakan sebagai pakan imbuhan untuk meningkatkan produktivitas ternak ruminansia (Sugoro, 2005; Wina, 1999; Kamm *et al.*, 2004). *S. boulardii*, *Yarrowia lipolytica*, *Geotrichum candidum*, dan *Aerobasidium pullulans* adalah khamir yang ditemukan dalam tempe dan diduga berperan dalam proses pembuatan tempe melalui fermentasi (Kustyawati, 2009). *S. cerevisiae* diketahui mampu meningkatkan kadar alkohol melalui proses fermentasi dengan nira swalayan dan buah jambu mete sebagai substrat (Eka *et al.*, 2012; Santi *et al.*, 2008; Widayanti *et al.*, 2013). Khamir yang diisolasi dari wine buah palm diketahui dapat digunakan untuk memproduksi wine melalui proses fermentasi dengan kombinasi buah nanas dan jeruk sebagai bahan bakunya (Archibong *et al.*, 2015). *Candida magnoliae* sebagai khamir osmotoleran diketahui dapat memfermentasi sari buah (Medeiros, 2014). Ekstrak dinding sel khamir dari hasil samping fermentasi bir diketahui yang diaplikasikan pada pertanaman tomat diketahui mampu mengurangi gugurnya bunga, meningkatkan jumlah buah, dan berat buah (Hamasaki *et al.*, 2014). Penelitian-penelitian tersebut menunjukkan pentingnya peran khamir dibidang pertanian, industri, peternakan, dan pengolahan makanan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan guna memperoleh khamir dari tanah perakaran bambu yang mampu melakukan fermentasi dengan limbah buah apel sebagai substrat.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk:

1. Mengidentifikasi khamir dari tanah perakaran bambu.
2. Mengidentifikasi sifat khamir dari tanah perakaran bambu.
3. Mengidentifikasi hubungan sifat khamir dari tanah perakaran bambu dengan proses fermentasi.
4. Mendapatkan khamir dari tanah perakaran bambu yang mampu bertindak sebagai fermentor limbah buah apel.

1.3 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu:

1. Terdapat khamir pada tanah perakaran tanaman bambu.
2. Terdapat khamir yang bersifat fermentatif atau oksidatif pada tanah perakaran bambu.
3. Terdapat hubungan antara sifat khamir dengan proses fermentasi.
4. Terdapat khamir dari tanah perakaran bambu yang mampu bertindak sebagai fermentor limbah buah apel.

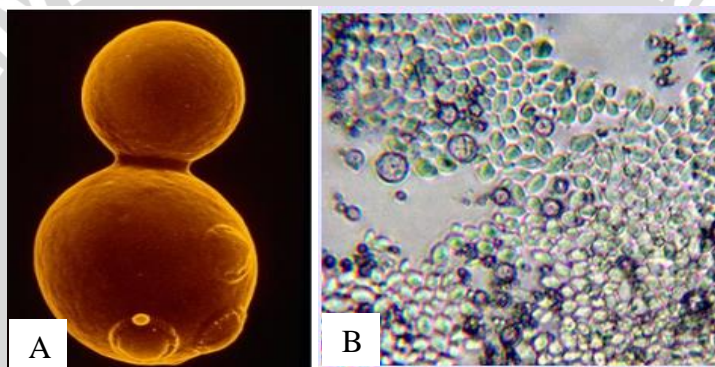
1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi mengenai khamir dari tanah perakaran bambu yang mampu bertindak sebagai fermentor limbah buah apel, sehingga dapat digunakan untuk pengembangan ilmu dibidang pertanian, industri, peternakan, dan pengolahan makanan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme golongan fungi yang berbentuk *uniseluler*, bersifat *eukariotik*, dan hidup sebagai *saprofit* atau *parasit*. Khamir dapat berbentuk bulat, *oval*, *silinder* (batang), segitiga melengkung, *apikulat* (lemon), serta dapat membentuk *pseudomiselium* (Gambar 1). Khamir dapat tumbuh pada larutan pekat misalnya larutan gula, asam, dan garam. Khamir bersifat antimikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Khamir memiliki sifat tahan terhadap cekaman lingkungan, sehingga dapat bersaing dengan mikroorganisme lain (Widiastutik *et al.*, 2014).



Gambar 1. Kenampakan Mikroskopis sel khamir (A) Sel tunggal khamir yang melakukan pertunasan (Ceceri, 2009), (B) Koloni sel khamir dibawah mikroskop (Williams, 2014).

Khamir spesies *Candida intermedia* secara *in vitro* diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Colletotrichum graminicola* dan *Colletotrichum sublineolum* penyebab penyakit antraknosa pada tanaman sorgum dan jagung (Rosa *et al.*, 2011 dalam Fitriati *et al.*, 2013). Khamir hasil isolasi dari daun dan buah cabai secara *in vitro* diketahui mampu menghambat pertumbuhan *Colletotrichum acutatum* penyebab penyakit antraknosa pada buah cabai (Wilia *et al.*, 2012). Selain itu, khamir yang diisolasi dari buah avokad secara *in vitro* diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab penyakit antraknosa pada buah avokad (Fitriati *et al.*, 2013).

Dibidang pertanian khamir dapat digunakan sebagai *Biofertilizer* yang berfungsi sebagai pelarut *fosfat* dan pendekomposisi bahan organik (Ashliha *et al.*, 2014). Khamir dapat memfermentasi bahan organik karena komponen

tubuhnya yang terdiri dari enzim-enzim penting seperti *selulase*, *fosfatase*, *lipase*, dan *proteinase* (Spencer *et al.*, 1997). Kanti (2006) menyebutkan bahwa genus khamir yang dapat melarutkan *fosfat* antara lain *Candida*, *Pichia*, dan *Rhodotorula*. *Candida* merupakan salah satu genus khamir yang umumnya ditemukan dalam tanah dengan kandungan bahan organik tinggi. Selain itu, *candida* memiliki diversitas fisiologi cukup tinggi dan mempunyai jenis cukup banyak (Lanchance *et al.*, 1998).

2.2 Fermentasi oleh Khamir

Fermentasi adalah suatu aktivitas mikroba dalam kondisi anaerob. Faktor yang dapat berpengaruh dalam fermentasi adalah lama fermentasi. Lama fermentasi dapat berpengaruh secara langsung dan tidak langsung. Lama fermentasi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu substrat, suhu, pH, oksigen, karbondioksida, dan mikroorganisme yang digunakan (Kunaepah, 2008).

Azizah *et al.* (2012) menyebutkan bahwa faktor-faktor yang dapat mempengaruhi lama fermentasi oleh khamir dijelaskan sebagai berikut.

1. Substrat fermentasi

Substrat fermentasi menjadi bahan baku yang dibutuhkan dalam fermentasi. Substrat mengandung nutrien-nutrien untuk memacu pertumbuhan mikroba dan memacu mikroba untuk menghasilkan suatu produk. Karbohidrat menjadi sumber karbon utama bagi mikroba yang berfungsi sebagai penghasil energi, sedangkan nutrien lain hanya dibutuhkan dalam jumlah sedikit yang salah satu contohnya yaitu protein.

Khamir membutuhkan glukosa sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Pemanfaatan suatu senyawa karbon menjadi salah satu penciri suatu genus khamir. Pemanfaatan glukosa oleh khamir akan menghasilkan produk samping berupa alkohol dan karbondioksida (Kurtzman *et al.*, 1998). Karbohidrat akan dikonversi menjadi gula dan dikonversi kembali menjadi alkohol dan karbondioksida dengan bantuan enzim. *S. cerevisiae* diketahui mampu mengonversi gula menjadi alkohol karena adanya enzim *invertase* dan *zymase*. Enzim *invertase* digunakan untuk menghidrolisis *disakarida* menjadi *monosakarida*. Enzim *zymase* digunakan untuk mengubah *monosakarida* menjadi

alkohol dan karbondioksida. Alkohol yang dihasilkan dalam fermentasi hanya berasal dari glukosa.

2. Suhu

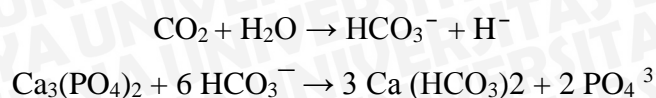
Pertumbuhan mikroba sangat dipengaruhi oleh suhu lingkungan fermentasi, sehingga suhu fermentasi secara tidak langsung dapat berpengaruh terhadap lama fermentasi. Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda-beda yang salah satunya dipengaruhi oleh suhu. *S. cerevisiae* memiliki kisaran suhu pertumbuhan antara 20-30°C, dan dapat tumbuh optimal pada suhu 30-35°C serta dapat memproduksi alkohol dalam jumlah optimal pada suhu 33°C (Kumalasari, 2011; Fardiaz, 1992). Suhu yang terlalu rendah dapat berpengaruh pada lambatnya fermentasi, sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat berpengaruh pada kematian *S. cerevisiae* sehingga fermentasi akan terhenti bahkan tidak berlangsung.

3. Derajat keasaman (pH)

pH suatu substrat yang digunakan akan berpengaruh pada pertumbuhan khamir yang nantinya akan berpengaruh pula pada produksi alkohol, sehingga pemilihan substrat dengan pH tertentu hendaknya perlu diperhatikan. Nilai pH dalam substrat fermentasi dapat dipengaruhi pula oleh produk samping yang dihasilkan suatu jenis mikroba. Khamir dalam melakukan fermentasi dapat menghasilkan produk samping berupa alkohol dan karbondioksida. Karbondioksida merupakan hasil respirasi oleh sel khamir, sehingga perubahan pH pada substrat fermentasi dapat menjadi indikator adanya metabolisme sel (Kartohardjono *et al.*, 2007).

pH akan menurun dengan cepat pada awal dilakukan inkubasi dan perlahan akan menurun pada akhir inkubasi. Penurunan pH memicu terjadinya pelarutan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (*kalsium fosfat*) menjadi *orthofosfat*. Penurunan pH dapat dipicu adanya produksi asam organik seperti *sitrat*, *propionat*, dan *laktat* yang merupakan hasil metabolisme glukosa (Nakase *et al.*, 1998). Penurunan pH yang terjadi selama fermentasi bahan organik oleh khamir mengakibatkan adanya *fosfat* terlarut dalam substrat. Selain itu, karbondioksida yang terlarut dalam air juga

akan berkontribusi dalam keasaman suatu media fermentasi. Hal ini dijelaskan oleh Tate (1984) dalam Kanti (2006) sebagai berikut:



4. Oksigen dan Karbondioksida

Khamir tertentu dapat menghasilkan alkohol pada kondisi anaerob, sehingga oksigen sangat berpengaruh pada produk hasil fermentasi. *S. cerevisiae* diketahui dapat menghidrolisis gula menjadi alkohol dan karbondioksida jika dalam keadaan anaerob. Karbondioksida sebagai produk samping fermentasi oleh *S. cerevisiae* dapat dihasilkan lebih cepat apabila fermentasi berlangsung pada kondisi aerob. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak produksi karbondioksida yang dihasilkan, namun semakin sedikit alkohol yang diproduksi. Hal ini dikarenakan adanya gas karbondioksida selama fermentasi dapat menghentikan pertumbuhan khamir, namun khamir tetap masih dalam keadaan hidup. Khamir dapat menghasilkan alkohol kembali apabila karbondioksida dihilangkan. Oleh karena itu, oksigen dan karbondioksida dapat berpengaruh pada lama fermentasi.

5. Jenis Mikroorganisme

Jenis mikroorganisme sangat berpengaruh pada fermentasi karena peranannya sebagai perombak bahan organik. Fermentasi alkohol umumnya menggunakan mikroorganisme golongan khamir karena kemampuannya yang dapat mengonversi gula menjadi alkohol dengan adanya enzim *zymase*. Jenis khamir yang berbeda akan berpengaruh pada produk hasil fermentasi yang berbeda pula. Hal ini juga dipengaruhi oleh waktu yang dibutuhkan suatu khamir dalam menghasilkan suatu produk. *S. cerevisiae* dapat mengonversi gula lebih cepat dari pada *Kluyveromyces fragilis*. *S. cerevisiae* dapat menghasilkan alkohol hingga 2% dalam waktu 72 jam, sedangkan *K. fragilis* membutuhkan waktu hingga 1 minggu untuk dapat memproduksi alkohol hingga 2%. *S. cerevisiae* lebih banyak menggunakan glukosa sebagai sumber karbonnya dibandingkan dengan galaktosa (Rubio *et al.*, 2005).

Fase pertumbuhan mikroba yang berlangsung dalam fermentasi dibagi menjadi empat tahap yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan cepat, fase *stasioner*, dan fase kematian. Fase adaptasi yaitu fase yang menunjukkan mikroba beradaptasi dengan lingkungan tumbuhnya dan belum terjadi pertumbuhan. Fase adaptasi pada kurva digambarkan dengan garis kurva yang menunjukkan angka nol dan kemudian sedikit ada kenaikan. Fase pertumbuhan cepat ditunjukkan dengan kondisi mikroba yang mengalami pertumbuhan sangat cepat karena terjadi pemecahan gula dalam jumlah banyak untuk memenuhi kebutuhan mikroba dalam pertumbuhannya. Proses pemecahan gula oleh khamir dalam keadaan anaerob akan menghasilkan produk berupa alkohol dan pada fase pertumbuhan cepat inilah alkohol diproduksi dalam jumlah tinggi. Fase *stasioner* ditunjukkan dengan jumlah mikroba yang mati sebanding dengan jumlah mikroba yang hidup dan digambarkan dengan garis yang mendatar pada kurva. Fase kematian ditunjukkan dengan peningkatan jumlah mikroba yang mati dan digambarkan oleh garis yang menurun pada kurva (Nakase *et al.*, 1998).

2.3 Bambu

Bambu adalah salah satu tanaman dari golongan rumput-rumputan yang mudah ditemui khususnya di pulau Jawa dan di Indonesia (Gambar 2) (Batubara, 2002). Tanaman bambu tersebar luas di benua Asia khususnya Indonesia, India, Cina, dan Jepang. Tanaman bambu dapat tumbuh pada wilayah beriklim kering hingga wilayah beriklim basah di dataran rendah hingga dataran tinggi (Lopez *et al.*, 2004). Batubara (2002) menyebutkan bahwa tanaman bambu pada umumnya tumbuh pada tempat-tempat terbuka dan bebas dari genangan air.



Gambar 2. Bambu (A) dan Akar Bambu (B) (Amijaya, 2016; Andoko, 2000).

Tanah disekitar perakaran tanaman bambu diketahui memiliki bermacam-macam jenis mikroba yang berperan dalam menghambat pertumbuhan patogen tanah dan dapat menghasilkan zat tumbuh bagi tanaman. Susetyo (2013) menyebutkan bahwa PGPR yang ditemukan pada perakaran bambu dapat melakukan fermentasi bahan organik melalui suatu mekanisme. Mekanisme tersebut yaitu mikroba mengeluarkan suatu cairan yang mampu melarutkan mineral, sehingga dapat menghasilkan unsur hara dalam bentuk yang lebih mudah untuk diserap oleh tanaman. *Bacillus polymixa* dan *Pseudomonas flourensens* yang ditemukan di perakaran bambu dapat mengeluarkan suatu enzim serta hormon yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk memacu proses pertumbuhannya. Selain itu, bakteri tersebut juga mampu mengeluarkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan mikroba yang bersifat patogenik.

Asniah *et al.* (2013) menjelaskan bahwa terdapat jamur endofit yang berhasil diisolasi dari tanah perakaran tanaman bambu yang berpotensi sebagai agen pengendali patogen penyebab penyakit akar gada pada tanaman brokoli. Jamur tersebut antara lain *Aspergillus* sp, *Mortierella* sp, *Paecylomyces* sp, dan *Chaetomium globosum*. Subba (1994) dalam Sigit *et al.* (2014) menyebutkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus* sp, serta *Aspergillus* sp merupakan mikroba yang dapat ditemukan pada seresah daun bambu yang berpotensi dikembangkan untuk biodekomposer sampah organik. Setyorini (2010) menjelaskan bahwa akar bambu mengandung bakteri *Bacillus polymixa* dan *Pseudomonas flourensens* yang dapat berperan dalam fermentasi bahan organik.

2.4 Buah Apel

Limbah buah merupakan golongan bahan organik yang biasanya digunakan untuk pembuatan pupuk organik. Limbah buah dapat berupa kulit buah, daging buah, dan biji buah. Limbah buah biasanya terdiri dari buah-buah yang memiliki masa simpan yang pendek dan mudah rusak contohnya jeruk, nanas, apel, melon, anggur, kopi, dan sebagainya.

Apel menjadi salah satu buah yang banyak dijumpai dalam bentuk limbah buah. Hal tersebut berkaitan dengan jumlah tanaman apel di Malang yang mencapai 1.974.366 pohon dengan produksi sebesar 842,80 kuintal per tahun. Jumlah produksi selalu diikuti dengan jumlah kerusakan buah yang mencapai 10% dari total produksi (840 kg) (Anonim, 2010). Hal ini menjadikan limbah buah apel berpotensi sebagai bahan baku pembuatan pupuk organik cair.

Tabel 1. Kandungan Buah Apel per 100 gram

Kandungan Gizi	Jumlah	Kandungan Gizi	Jumlah
Energi	218 kJ (52 kkal)	Asam pantotenat	0,061 mg
Karbohidrat	13,81 g	Vitamin B6	0,041 mg
Gula	10,39 g	Folat (Vitamin B9)	3 mg
Serat diet	2,4 g	Vitamin C	4,6 mg
Lemak	0,17 g	Kalsium	6 mg
Protein	0,26 g	Zat besi	0,12 mg
Air	85,56 g	Magnesium	5 mg
Vitamin A	3 mg	Fosfor	11 mg
Tiamin (vitamin B)	0,017 mg	Kalium	107 mg
Riboflavin (vitamin B2)	0,126 mg	Seng	0,04 mg
Niasin (vitamin B3)	0,09 mg		

Sumber: Anonim, 2016

Buah apel mengandung mineral dan karbohidrat yang dapat juga dimanfaatkan oleh mikroorganisme (Tabel 1). umumnya mengandung beberapa vitamin seperti vitamin A, B1, B2, B3, B5, B6, B9, dan Vitamin C, serta mengandung beberapa mineral seperti *kalsium*, *magnesium*, *potasium*, *zat besi*, dan *zink*. Kandungan lain buah apel berupa *fitokimian*, serat *tanin*, *baron*, *flavoid*, *asam D-glucaric*, *quercetin*, dan *asam tartar* (Irsyadul *et al.*, 2011 dalam Melliawati *et al.*, 2015). Apel berkulit diketahui mengandung 30 µg *alpha caroten* yang berguna bagi kesehatan tubuh manusia dan kesehatan tubuh hewan apabila digunakan sebagai pakan ternak (Andriani, 2011). 100 gram buah apel mengandung energi 58,00 kal, karbohidrat 14,90 gram, *kalsium* 6,00 mg, *fosfor* 10,00 mg, besi 1,30 mg, serat 0,70 mg, vitamin A 24,00 rpe (Bambang, 1997 dalam Subagyo *et al.*, 2010). Selain itu, ampas buah apel mengandung pektin 15-20% dari berat ampas dan kulit buah mengandung pektin 4-7% dari berat kulit (Suardi, 1997 dalam Subagyo *et al.*, 2010). Sitompul (2009) menjelaskan bahwa buah apel mengandung *fosfor* dengan kadar yang berbeda-beda pada kulit buah

yang memiliki warna berbeda. Buah apel yang berkulit merah tua memiliki kadar fosfor tertinggi yaitu 165,05 mcg/g, jika dibandingkan dengan buah apel berkulit merah jambu yaitu 153,32 mcg/g dan buah apel berkulit hijau yaitu 153,04 mcg/g.



III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juni 2016. Limbah buah apel diperoleh dari wilayah Jalan Raya Dadaprejo Kecamatan Junrejo Kota Batu ($07^{\circ} 90' 63.96''$ LS, $112^{\circ} 57' 77.39''$ BT). Contoh tanah diperoleh dari perakaran tanaman bambu di tiga lokasi yaitu Jalan Mertojoyo Kelurahan Merjosari Kecamatan Lowokwaru ($07^{\circ} 94' 53.56''$ LS, $112^{\circ} 60' 17.02''$ BT), Jalan Sasando Kelurahan Tunggulwulung Kecamatan Lowokwaru ($07^{\circ} 92' 48.25''$ LS, $112^{\circ} 60' 67.88''$ BT), dan Jalan Kembang Kertas Kelurahan Jatimulyo Kecamatan Lowokwaru ($07^{\circ} 94' 26.29''$ LS, $112^{\circ} 61' 80.36''$ BT).

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi nampan plastik, kompor *Oxone*, panci, pisau, cetok, cawan Petri, botol media *Duran Schott*, gelas ukur *Pyrex*, tabung Erlenmeyer *Duran Schott*, *beaker glass Duran Schott*, *object glass* dan *cover glass Sail Brand Microscope slides 23 Cat No 7101*, pipet tetes, mikropipet *Vit Lab 100 μ L*, jarum ose, timbangan *Ohaus Gent-0-gram balance 311 g*, tabung reaksi, pengaduk kaca, bunsen, mikroskop *Olympus BX 41+* kamera *OP 26*, *handsprayer*, *autoklave Hirayama*, *orbital shaker Protech*, *Laminar Air Flow Cabinet (LAFC)*, spektrofotometer *UV-VIS*, *Spektroquant Pharo 300*, pH meter *Trans Instrumen T1 900 Walk Lab a microcomputer technology*, botol fermentasi, *blender Miyako*, dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi media YMA (*Khamir Malt Agar*), media YMB (*Khamir Malt Broth*), media SB (*Saboroud Broth*), alkohol 70%, NaOCl, aquades steril, spiritus, air, korek api, kertas label, kantong plastik, kapas, *aluminium foil*, plastik *wrapping*, tisu, contoh tanah komposit, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, H_2SO_4 , dan limbah buah apel.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan khamir yang berhasil diisolasi dari tanah perakaran bambu. Uji fermentasi disesuaikan dengan jumlah khamir yang ditemukan ditambah dengan satu perlakuan kontrol.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari Pengambilan contoh tanah, isolasi dan purifikasi khamir, Identifikasi khamir, uji pertumbuhan media cair, pembuatan substrat fermentasi, pembuatan starter khamir, serta uji fermentasi. Tahap pengambilan contoh hingga identifikasi khamir menurut Ashliha *et al.* (2014) adalah sebagai berikut.

3.4.1 Pengambilan Contoh Tanah

Metode eksplorasi dilakukan untuk mendapatkan isolat khamir dengan mengambil contoh tanah secara komposit dari perakaran. Contoh tanah diambil dengan kedalaman kurang lebih 15 cm. Pengambilan contoh tanah dilakukan pada tiga titik disekitar tanaman bambu dan dikompositkan. Selanjutnya contoh tanah tersebut dimasukkan kedalam plastik ukuran 0,5 kg.

3.4.2 Isolasi dan Purifikasi Khamir

Contoh tanah ditimbang 10 gram dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer berisi 90 ml aquades. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dan diendapkan selama ± 5 menit. Supernatan yang terbentuk diambil 10 ml dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 40 ml media YMB. Kemudian diinkubasi di atas *Orbital shaker* pada suhu ruang selama tiga hari. Pengenceran bertingkat dilakukan dengan cara diambil 1 ml suspensi dari erlenmeyer berisi isolat dari YMB, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 ml, sehingga didapatkan seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} . Setelah itu, pengambilan dilakukan sebanyak 0,1 ml suspensi dan ditanam pada media YMA melalui metode sebar. Khamir yang ditumbuhkan pada media YMA diinkubasi pada suhu ruang kurang lebih selama 3 hari. Setelah itu purifikasi

dilakukan hingga memperoleh koloni murni. Pengamatan dilakukan terhadap karakteristik makroskopis koloni yang tumbuh pada media.

3.4.3 Identifikasi Khamir

Isolat khamir diidentifikasi hingga tingkat genus dengan mengacu pada buku panduan identifikasi "*The Yeast a Taxonomic Study*". Pengamatan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis didasarkan pada kenampakan dari morfologi koloni pada saat isolasi dan purifikasi meliputi bentuk, tekstur, warna, permukaan, elevasi, dan tepi. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada sel khamir meliputi bentuk sel, ukuran, tipe pertunasan, ada tidaknya hifa atau *pseudohifa*, dan tipe spora yang yang diperoleh dari isolat (Widiastutik *et al.*, 2014). Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara membuat preparat biakan di atas kaca obyek dan dilihat karakter mikroskopisnya dengan bantuan mikroskop.

3.4.4 Uji Pertumbuhan Khamir pada Media Cair

Uji pertumbuhan khamir pada media cair ditujukan untuk mekanisme pemanfaatan karbohidrat oleh khamir. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan khamir pada media SB. Sebanyak satu *ose* koloni dari YMA dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 10 ml media SB dan ditumbuhkan selama 24 jam. Khamir oksidatif pada media SB ditandai dengan terbentuknya lapisan (film) atau pelikel pada permukaan media, sedangkan khamir fermentatif ditandai dengan terbentuknya lapisan (film) atau pelikel pada dasar media (Jumiyati *et al.*, 2012).

3.4.5 Pembuatan Substrat Fermentasi

Buah apel sebanyak 5 kg dicuci bersih dengan air mengalir. Kemudian buah apel dihancurkan menggunakan blender dengan menambahkan air perbandingan 2:1 (b/v). Buah apel yang telah halus kemudian diperas untuk memisahkan serat dan sari buahnya. Selanjutnya sari buah dilakukan pasteurisasi dengan suhu 65-70° C selama 15-20 menit. Proses pasteurisasi adalah proses pemanasan dengan suhu yang relatif rendah dan bertujuan untuk menginaktifkan enzim dan menonaktifkan mikroorganisme pembusuk yang terdapat dalam sari buah.

Pasteurisasi dilakukan pada produk olahan yang umumnya asam, sehingga mikroba menjadi lebih sensitif terhadap panas (Sari *et al.*, 2012). Selanjutnya sari buah dilakukan penambahan 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (v/b) dan 10% gula (v/b) dari keseluruhan sari buah. Kemudian sari apel dilakukan penambahan H_2SO_4 atau NaOH untuk mengatur pH hingga kisaran 4,5-5 untuk menyesuaikan pertumbuhan optimum khamir (Sari *et al.*, 2012; Sigit *et al.*, 2014).

3.4.6 Pembuatan Starter Khamir

Sari buah apel disiapkan dalam tabung Erlenmeyer untuk diencerkan hingga 100 ml. Sari buah hasil pengenceran selanjutnya ditambahkan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 1% (v/b) dan dipanaskan sampai sari buah apel mendidih dan didinginkan dalam keadaan tertutup. Sari buah kemudian dilakukan penambahan H_2SO_4 atau NaOH untuk mengatur pH hingga mencapai kondisi optimum pertumbuhan khamir. Selanjutnya sari buah apel dimasukkan kedalam tabung Erlenmeyer sesuai jumlah khamir yang berhasil dieksplorasi masing-masingnya sebanyak 20 ml. Setelah itu, sari buah dilakukan penambahan isolat khamir sebanyak satu *ose* yang diambil dari perbanyakkan pada media YMA dan diinkubasi diatas *orbital shaker* selama 24 jam (Santi, 2008).

3.4.7 Uji Fermentasi

Substrat sebanyak 94 ml dimasukkan kedalam botol fermentasi. Kemudian dilakukan penambahan starter khamir sehingga substrat mencapai 100 ml atau sebanyak 6 % dari keseluruhan larutan. Botol fermentasi kemudian ditutup dengan *aluminium foil* untuk meniadakan kontaminasi oleh mikroba lain. Fermentasi dilakukan selama 72 jam. Jumlah botol fermentasi disesuaikan dengan jumlah perlakuan dan ulangan (Sigit *et al.*, 2014).

3.5 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan berupa sifat biologi dilakukan dengan mengukur nilai OD (*Optical Density*). Pengukuran nilai OD dilakukan dengan mengambil contoh substrat pada awal fermentasi dan setiap 24 jam sekali yang masing-masingnya

sebanyak 3 ml. Jumlah sel dihitung dengan metode turbidimetri menggunakan Spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 600 nm (Sholikah *et al.*, 2012).

Variabel sifat kimia berupa pH serta sifat fisik berupa suhu dilakukan menggunakan alat T1 900. Pengamatan tersebut dilakukan dengan cara memasukkan elektroda dan stik pengukur kedalam substrat. Pengamatan pH dan suhu dilakukan selama 24 jam sekali (Widayanti, 2013 dimodifikasi).

Variabel sifat kimia berupa kadar alkohol dilakukan menggunakan metode konvensional dengan memanfaatkan titik didih alkohol yang lebih rendah dibandingkan dengan substrat. Kadar alkohol diukur dengan cara mendidihkan substrat pada suhu 78-80° C. Sebelum dan sesudah substrat dididihkan, substrat diukur volumenya menggunakan gelas ukur dengan tujuan untuk mengetahui kehilangan volume dari substrat setelah dididihkan. Pengamatan kadar alkohol dilakukan sebelum fermentasi dan setelah 72 jam fermentasi (Widayanti, 2013 dimodifikasi).

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji fermentasi dengan macam-macam khamir yang ditemukan dari tanah perakaran bambu kemudian dianalisis secara diskriptif menggunakan grafik.

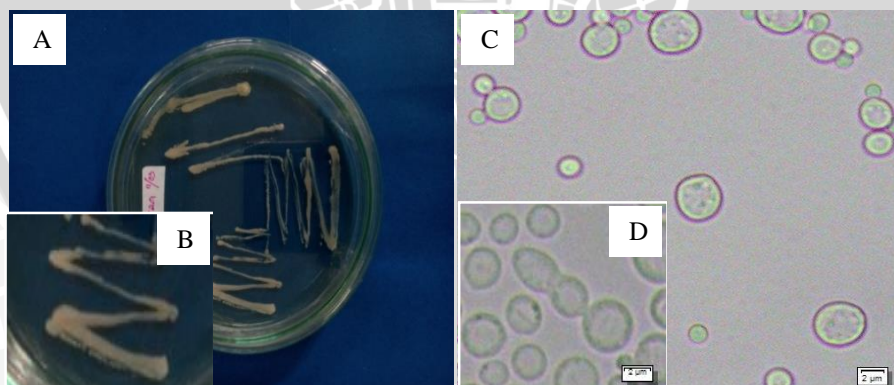
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Genus Khamir dari Tanah Perakaran Bambu

Hasil identifikasi khamir menunjukkan bahwa dari lokasi pertama dengan titik koordinat pengambilan $07^{\circ} 94' 53.56''$ LS, $112^{\circ} 60' 17.02''$ BT ditemukan tiga genus khamir yaitu *Protomyces* sp, *Agaricostilbum* sp1, dan *Debaryomyces* sp1. Lokasi kedua dengan titik koordinat pengambilan $07^{\circ} 92' 48.25''$ LS, $112^{\circ} 60' 67.88''$ BT ditemukan enam genus khamir yaitu *Trigonopsis* sp1, *Debaryomyces* sp2, *Udeniomyces* sp1, *Ascoidea hylocieti*, *Agaricostilbum* sp2, dan *Komagataella* sp. Lokasi ketiga dengan titik koordinat pengambilan $07^{\circ} 94' 26.29''$ LS, $112^{\circ} 61' 80.36''$ BT ditemukan empat genus khamir yaitu *Udeniomyces* sp2, *Agaricostilbum* sp3, *Trigonopsis* sp2, dan *Debaryomyces* sp3.

Protomyces sp

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran, berwarna kuning gading dengan tekstur padat, beberapa butiran, dan tepian rata (Gambar 3). Bagian bawah koloni berwarna kuning gading pada bagian tengah dan membias bening pada bagian tepi. Koloni memiliki elevasi agak cembung serta permukaan yang halus dan warna mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.



Gambar 3. *Protomyces* sp (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) perkembangbiakan sel khamir secara seksual.

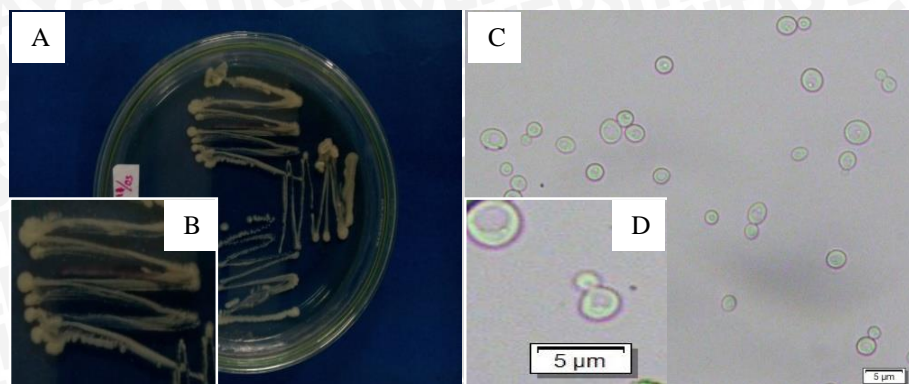
Mikroskopis. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 3). Reproduksi aseksual dilakukan dengan pertunasan multipolar, dan reproduksi seksual terbentuk dari satu kutub bertumpukan yang berbentuk menyerupai gada dari kumpulan sel berbentuk semi bulat dan bulat telur. Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,47-4,14 μm . Ciri-ciri morfologi khamir tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Kurtzman *et al.* (1998) mendeskripsikan bahwa khamir tergolong dalam genus *Protomyces* apabila memiliki sel dengan tipe pertunasan multilateral, namun seringkali dari pertunasan terbentuk dari satu sisi sel. Perkembangbiakan secara seksual ditunjukkan dengan terbentuknya sel bertumpukan menyerupai gada.

Debaryomyces sp1

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran tidak beraturan, berwarna putih lilin dengan tekstur padat, beberapa butiran, dan tepian nampak bergelombang (Gambar 4). Bagian bawah koloni berwarna putih kekuningan dengan warna lebih pekat dipusat koloni. Koloni memiliki elevasi agak cembung dengan pusat lebih tinggi dari bagian sekitar koloni. Koloni memiliki permukaan yang halus dengan warna kusam namun agak mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas, namun hanya nampak filamen pada tepian koloni. Filamen tersebut berdasarkan pengamatan mikroskopis adalah miselium semu yang terbentuk dari gabungan antara sel khamir sehingga nampak seperti untaian rantai. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, tunas berbentuk bulat, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 4). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,06-4,42 μm . Ciri-ciri tersebut sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendiskripsikan bahwa khamir yang tergolong genus *Debaryomyces* akan

memiliki sel dengan pertunasan bertipe multilateral, sel tunas terkadang nampak seperti hasil konjugasi yang disebut asci.

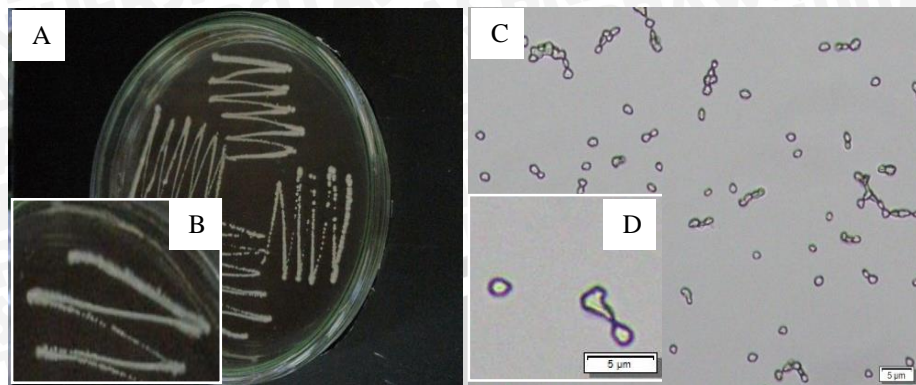


Gambar 4. *Debaromyces* sp1 (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Agaricostilbum sp1

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran tidak beraturan, berwarna putih susu dengan tekstur padat, beberapa butiran, dan tepian nampak bergerigi (Gambar 5). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah dan membias bening pada bagian tepi. Koloni memiliki elevasi agak cembung, serta permukaan yang halus dengan warna kusam namun nampak mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas, namun hanya nampak filamen pada tepian koloni. Filamen tersebut berdasarkan pengamatan mikroskopis adalah miselium semu yang terbentuk dari gabungan antara sel khamir sehingga nampak seperti untaian rantai. Khamir membutuhkan waktu satu hari untuk membentuk garis padat.

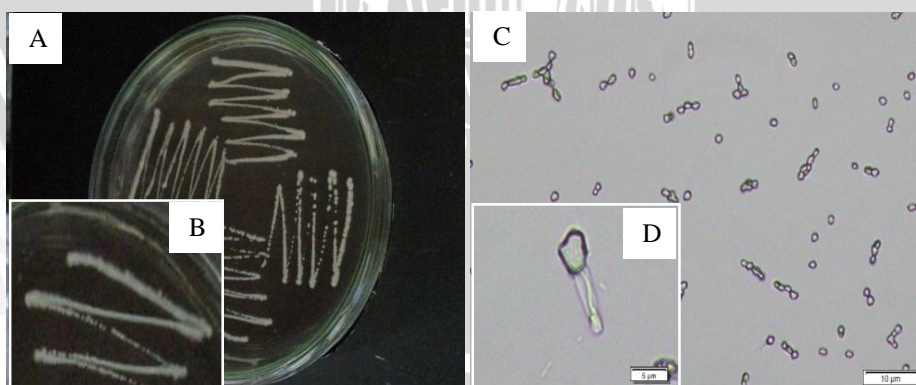
Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk membulat, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, terdapat embelan pada tunas yang bentuknya tidak tegas (*angular*), serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 5). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,12-3,4 µm. Ciri-ciri ini sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendiskripsikan bahwa khamir tergolong dalam genus *Agaricostilbum* jika memiliki sel berbentuk bulat hingga bulat berembelan, dan tipe pertunasan tergolong monopolar.



Gambar 5. *Agaricostilbum* sp1 (A) koloni murni khamir umur satu hsi pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Agaricostilbum sp2

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran tidak beraturan, berwarna putih susu dengan tekstur padat, beberapa butiran, dan tepian nampak bergerigi (Gambar 6). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah dan membias bening pada bagian tepi. Koloni memiliki elevasi agak cembung, serta permukaan yang halus dengan warna kusam namun nampak mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas, namun hanya nampak filamen pada tepian koloni. Filamen tersebut berdasarkan pengamatan mikroskopis adalah miselium semu yang terbentuk dari gabungan antara sel khamir sehingga nampak seperti untaian rantai. Khamir membutuhkan waktu dua hari untuk membentuk garis padat.

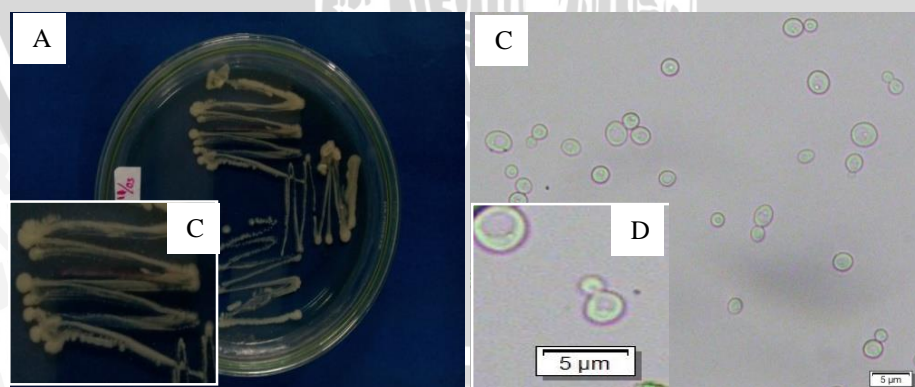


Gambar 6. *Agaricostilbum* sp2 (A) koloni murni khamir umur dua hsi pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk membulat, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, terdapat embelan pada tunas (*allantoidal*), serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 6). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,16-3,42 μm . Ciri-ciri ini sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendiskripsikan bahwa yeasst tergolong dalam genus *Agaricostilbum* jika memiliki sel berbentuk bulat hingga bulat berembelan, dan tipe pertunasan tergolong monopolar.

Debaryomyces sp2

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran tidak beraturan, berwarna putih lilin dengan tekstur padat, beberapa butiran, dan tepian nampak bergelombang (Gambar 7). Bagian bawah koloni berwarna putih kekuningan dengan warna lebih pekat dipusat koloni. Koloni memiliki elevasi agak cembung dengan pusat lebih tinggi dari bagian sekitar koloni. Koloni memiliki permukaan yang halus dengan warna kusam namun agak mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas, namun hanya nampak filamen pada tepian koloni. Filamen tersebut berdasarkan pengamatan mikroskopis adalah miselium semu yang terbentuk dari gabungan antara sel khamir sehingga nampak seperti untaian rantai. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.

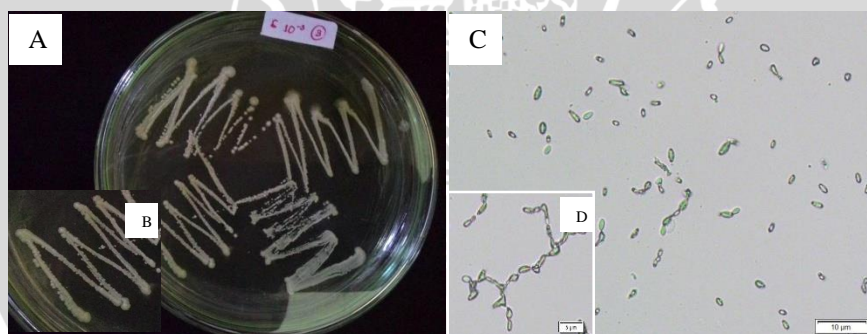


Gambar 7. *Debaryomyces* sp2 (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, tunas berbentuk bulat, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 7). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,09-4,42 μm . Ciri-ciri tersebut sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendiskripsikan bahwa khamir yang tergolong genus *Debaryomyces* akan memiliki sel dengan pertunasan bertipe multilateral, sel tunas terkadang nampak seperti hasil konjugasi yang disebut asci.

Trigonopsis sp1

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran, berwarna putih lilin kekuningan, bertekstur padat, beberapa butiran, dan tepian rata (Gambar 8). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah koloni dan membias bening pada tepi koloni. Koloni memiliki elevasi datar dan permukaan yang halus dengan warna kusam. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.



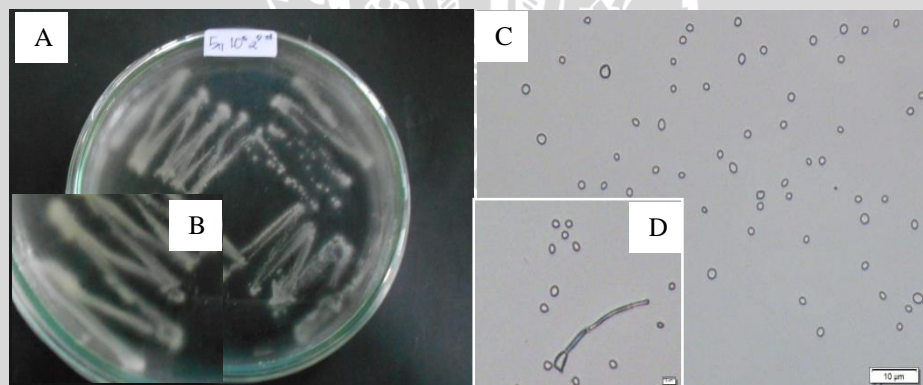
Gambar 8. *Trigonopsis sp1* (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi segitiga dan tabung, warna hialin, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 8). Tipe pertunasan tergolong multilateral dan simpodial, tunas berbentuk semi segitiga dan tabung yang beberapa dari kumpulan sel memiliki bentuk memanjang. Hasil pengukuran menunjukkan sel khamir berukuran (1,05 x 1,95) - (1,07 x 2,85) μm . Ciri-ciri

morfologi khamir tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Kurtzman *et al.* (1998) yang mendeskripsikan bahwa genus *Trigonopsis* memiliki ciri khusus yaitu tipe pertunasan tergolong multilateral dengan pertunasan dari tiga sisi sel, sel berbentuk triangular, ketika proses pertunasan terjadi sel induk dan tunasnya akan membentuk segitiga, serta tidak adanya hifa sejati.

Udeniomyces sp1

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran, berwarna putih lilin mengarah ke kuning gading, bertekstur padat, beberapa butiran, dan tepian rata (Gambar 9). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah hingga tepi koloni. Koloni memiliki elevasi datar hingga agak cembung dan permukaan yang halus dengan warna kusam. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.

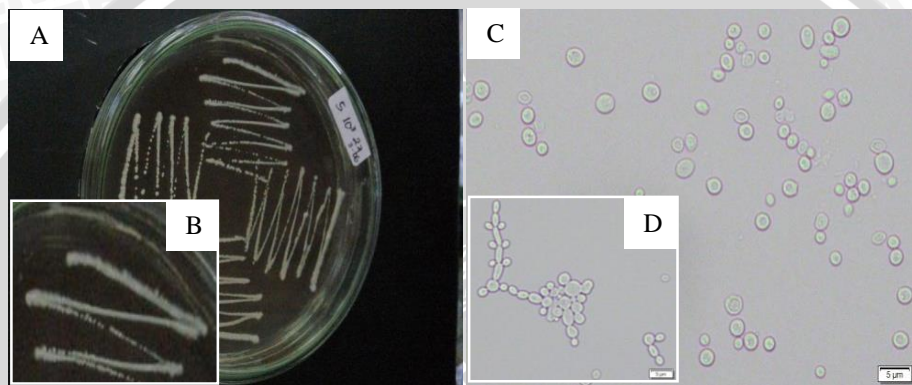


Gambar 9. *Udeniomyces* sp1 (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, tunas berbentuk tabung memanjang, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 9). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,05-1,54 µm. Ciri-ciri ini sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendeskripsikan bahwa suatu khamir tergolong dalam genus *Udeniomyces* apabila memiliki sel berbentuk membulat, bulat telur pendek atau memanjang, silindris memanjang yang dihasilkan dari proses pertunasan.

Ascoidea hylecoeti

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran, berwarna putih lilin kekuningan, bertekstur padat, beberapa butiran, dan tepian rata (Gambar 10). Bagian bawah koloni berwarna putih susu pada bagian tengah dan membias bening pada bagian tepi. Koloni memiliki elevasi datar dan permukaan yang halus dengan warna kusam. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.

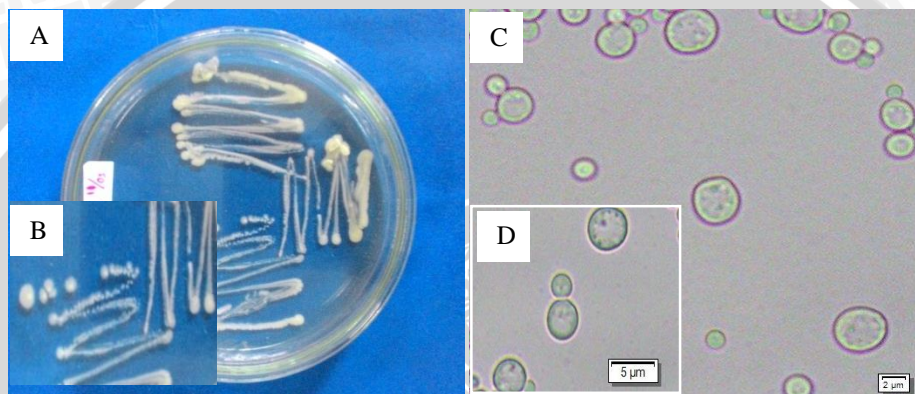


Gambar 10. *Ascoidea hylecoeti* (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, tipe pertunasan multipolar, tunas berbentuk semi bulat, bulat hingga tabung memanjang, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 10). Sel berpasangan yang menunjukkan pertunasan simpodial akan terbentuk seperti untaian rantai yang terdiri dari sel berbentuk tabung dan bulat hingga bulat telur dengan membentuk percabangan dari dua sisi disetiap pembatas antar sel. Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,04-6,85 μm . Ciri-ciri morfologi khamir tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Kurtzman *et al.* (1998) yang mendeskripsikan bahwa genus *Ascoidea* memiliki kenampakan koloni yang halus, terdapat miselium berserabut ditepian koloni, tipe pertunasan multilateral dan membentuk blastoconidia.

Komagataella sp

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran, berwarna putih lilin, bertekstur padat, beberapa butiran, dan tepian rata (Gambar 11). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah dan membias bening pada bagian tepi. Koloni memiliki elevasi datar dan permukaan yang halus dengan warna mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.



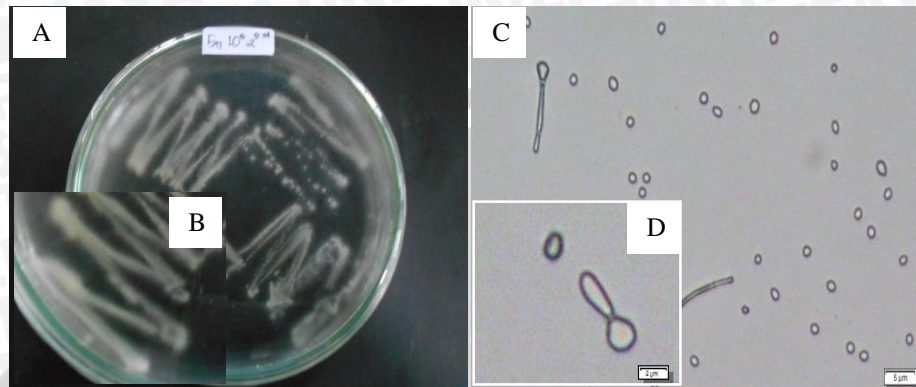
Gambar 11. *Komagataella sp* (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, tipe pertunasan multipolar, tunas berbentuk semi bulat hingga bulat, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 11). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,04-6,85 µm. Ciri-ciri ini sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendeskripsikan bahwa khamir yang tergolong dalam genus *Komagataella* akan memiliki tipe pertunasan multilateral, bentuk sel bulat hingga bulat telur, dan tidak adanya kenampakan hifa sejati.

Udeniomyces sp2

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran, berwarna putih lilin mengarah ke kuning gading, bertekstur padat, beberapa butiran, dan tepian rata (Gambar 12). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah hingga tepi koloni. Koloni memiliki elevasi datar hingga agak cembung dan

permukaan yang halus dengan warna kusam. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.



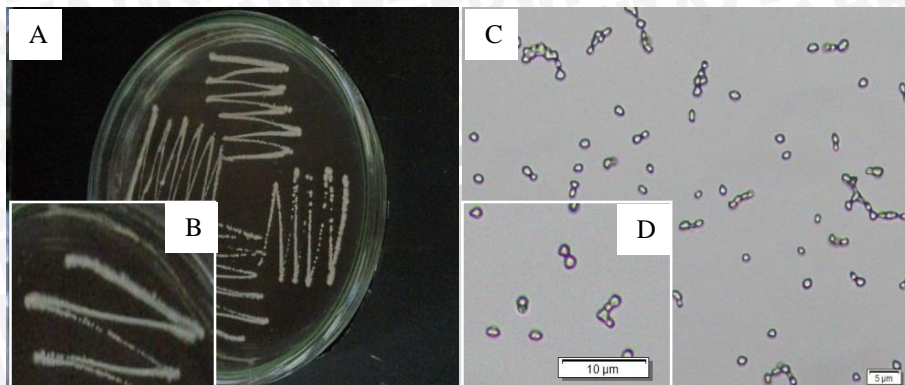
Gambar 12. *Udeniomyces* sp2 (A) koloni murni khamir umur tiga hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, tunas berbentuk tabung memanjang, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 12). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,05-1,53 μm dengan tunas mencapai panjang 19,53 μm . Ciri-ciri ini sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendeskripsikan bahwa suatu khamir tergolong dalam genus *Udeniomyces* apabila memiliki sel berbentuk membulat, bulat telur pendek atau memanjang, silindris memanjang yang dihasilkan dari proses pertunasan.

Agaricostilbum sp3

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran tidak beraturan, berwarna putih susu dengan tekstur padat, beberapa butiran, dan tepian nampak bergerigi (Gambar 13). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah dan membias bening pada bagian tepi. Koloni memiliki elevasi agak cembung, serta permukaan yang halus dengan warna kusam namun nampak mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas, namun hanya nampak filamen pada tepian koloni. Filamen tersebut berdasarkan pengamatan mikroskopis adalah miselium semu

yang terbentuk dari gabungan antara sel khamir sehingga nampak seperti untaian rantai. Khamir membutuhkan waktu satu hari untuk membentuk garis padat.



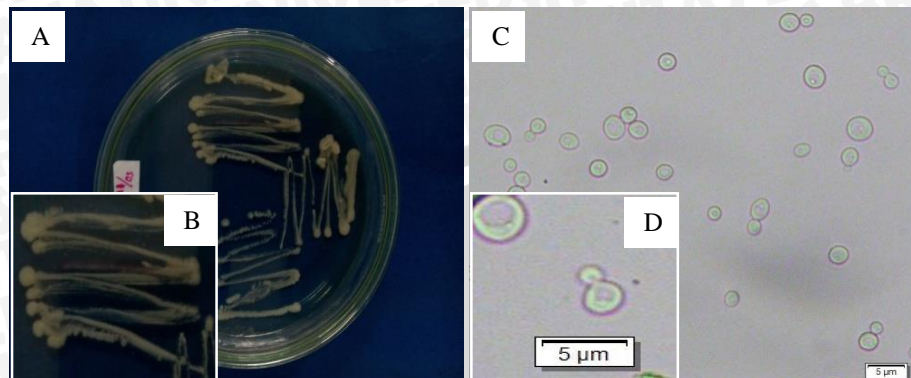
Gambar 13. *Agaricostilbum* sp3 (A) koloni murni khamir umur satu hari pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk membulat, terkadang terdapat bulat agak memanjang, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, tunas berbentuk bulat, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 13). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,16-3,42 µm. Ciri-ciri ini sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendeskripsikan bahwa yeast tergolong dalam genus *Agaricostilbum* jika memiliki sel berbentuk bulat hingga bulat berembelan, dan tipe pertunasan tergolong monopolar.

Debaryomyces sp3

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran tidak beraturan, berwarna putih lilin dengan tekstur padat, beberapa butiran, dan tepian nampak bergelombang (Gambar 14). Bagian bawah koloni berwarna putih kekuningan dengan warna lebih pekat dipusat koloni. Koloni memiliki elevasi agak cembung dengan pusat lebih tinggi dari bagian sekitar koloni. Koloni memiliki permukaan yang halus dengan warna kusam namun agak mengkilap. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas, namun hanya nampak filamen pada tepian koloni. Filamen tersebut berdasarkan pengamatan mikroskopis adalah miselium semu yang terbentuk dari gabungan

antara sel khamir sehingga nampak seperti untaian rantai. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.



Gambar 14. *Debaryomyces* sp3 (A) koloni murni khamir umur 3 hsi pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

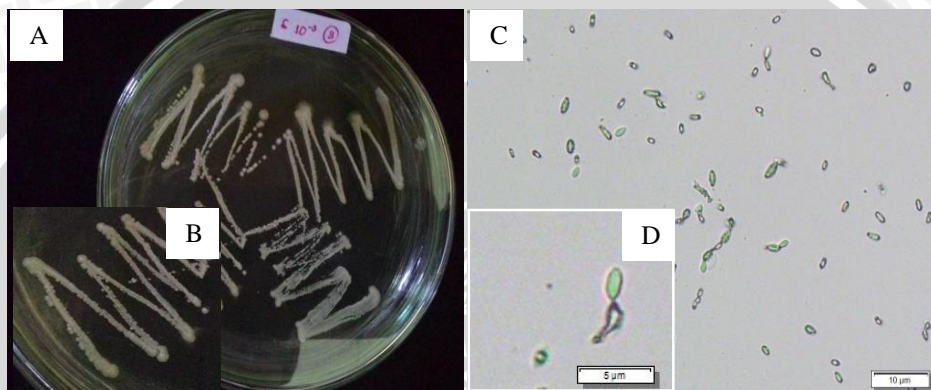
Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi bulat hingga bulat, warna hialin, tipe pertunasan monopolar, tunas berbentuk bulat, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 14). Hasil pengukuran menunjukkan diameter sel khamir berukuran 1,09-4,42 μm . Ciri-ciri tersebut sesuai dengan Kurtzman *et al.* (1998) yang mendiskripsikan bahwa khamir yang tergolong genus *Debaryomyces* akan memiliki sel dengan pertunasan bertipe multilateral, sel tunas terkadang nampak seperti hasil konjugasi yang disebut asci.

Trigonopsis sp2

Makroskopis. Koloni khamir berbentuk lingkaran, berwarna putih lilin kekuningan, bertekstur padat, beberapa butiran, dan tepian rata (Gambar 15). Bagian bawah koloni berwarna putih lilin pada bagian tengah koloni dan membias bening pada tepi koloni. Koloni memiliki elevasi datar dan permukaan yang halus dengan warna kusam. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu tiga hari untuk membentuk garis padat.

Mikroskopis. Dari hasil pengamatan mikroskopis sel khamir berbentuk semi segitiga dan tabung, warna hialin, serta dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan (Gambar 15). Tipe pertunasan tergolong

multipolar dan simpodial, tunas berbentuk semi segitiga dan tabung yang beberapa dari kumpulan sel memiliki bentuk memanjang. Hasil pengukuran menunjukkan sel khamir berukuran $(1,05 \times 1,95) - (1,07 \times 2,85) \mu\text{m}$. Ciri-ciri morfologi khamir tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Kurtzman *et al.* (1998) yang mendeskripsikan bahwa genus *Trigonopsis* memiliki ciri khusus yaitu tipe pertunasan tergolong multilateral dengan pertunasan dari tiga sisi sel, sel berbentuk triangular, ketika proses pertunasan terjadi sel induk dan tunasnya akan membentuk segitiga, serta tidak adanya hifa sejati.



Gambar 15. *Trigonopsis* sp2 (A) koloni murni khamir umur 3 hsi pada media YMA, (B) tepian dan tekstur koloni khamir, (C) koloni sel khamir di bawah mikroskop, dan (D) pertunasan sel khamir.

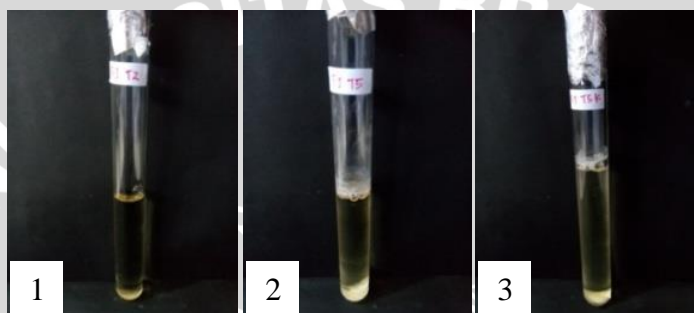
4.2 Sifat Khamir dari Tanah Perakaran Bambu

Sifat khamir diketahui dari uji pertumbuhan media cair yang bertujuan untuk mengetahui mekanisme suatu mikroorganisme dalam memanfaatkan karbohidrat. Mekanisme tersebut dibagi menjadi dua yaitu fermentatif dan oksidatif. Hasil uji pertumbuhan media cair terhadap 13 khamir yang ditemukan menunjukkan bahwa terdapat khamir yang memiliki sifat fermentatif dan oksidatif. Data tersebut akan digunakan untuk mengetahui seberapa berpengaruh suatu sifat khamir ketika melakukan fermentasi.

Khamir fermentatif dibagi menjadi tiga yaitu fermentatif obligat, fermentatif fakultatif, dan fermentatif *aerotoleran*. Khamir tergolong bersifat fermentatif obligat apabila pada media SB yang diujikan pada tabung reaksi terbentuk endapan pada dasar media. Khamir tergolong bersifat fermentatif *aerotoleran* apabila terdapat endapan yang cukup tebal dan membentuk suatu film yang menyebar pada setidaknya setengah bagian dari media. Khamir tergolong bersifat

fermentatif fakultatif apabila pada media SB yang diujikan pada tabung reaksi terbentuk endapan pada dasar media atau terdapat suatu film yang menyebar pada setidaknya setengah bagian dari media, dan terbentuk film dipermukaan media. Khamir tergolong bersifat oksidatif apabila pada media SB yang diujikan pada tabung reaksi terbentuk film dipermukaan media (Lindquist, 2001).

Protomyces sp yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan yang tidak terlalu tebal di dasar media (Gambar 16). Film tidak terbentuk dari dasar dan permukaan media. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir bersifat fermentatif obligat.



Gambar 16. Uji Pertumbuhan Media Cair Isolat Lokasi Pertama (1) *Protomyces* sp, (2) *Agaricostilbum* sp1, dan (3) *Debaryomyces* sp1.

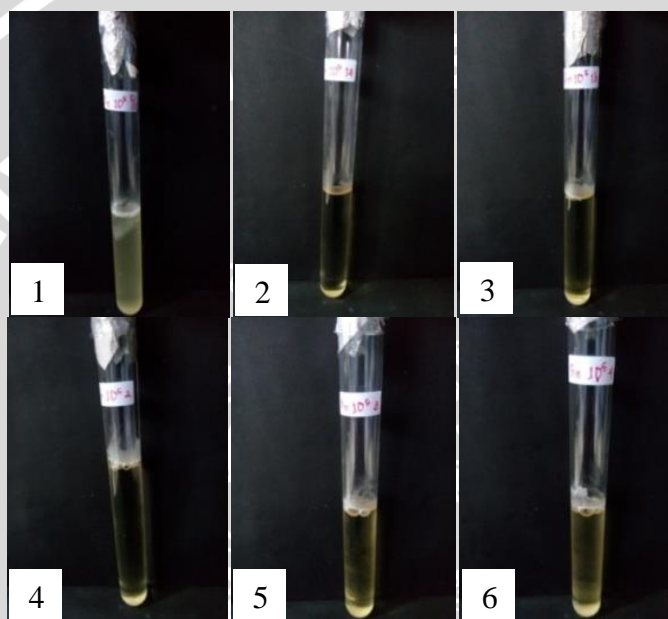
Agaricostilbum sp1 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan yang cukup tebal di dasar media dan adanya film tipis yang nampak dari dasar media menuju ke hampir sepertiga bagian media. Film yang cukup tebal tampak di permukaan media (Gambar 16). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

Debaryomyces sp1 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media yang cukup tebal. Film terbentuk di permukaan media namun tidak terlalu tebal (Gambar 16). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

Trigonopsis sp1 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media yang cukup tebal, serta terbentuk film di permukaan media. Endapan yang terbentuk pada dasar media membentuk film yang mengarah ke bagian atas media hingga menyebabkan warna media menjadi keruh (Gambar 17). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

Debaryomyces sp2 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media. Film yang sangat tipis tampak di permukaan media (Gambar 17). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

Udeniomyces sp1 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media dan film di permukaan media yang cukup tebal. Film terbentuk dari dasar media namun sangat tipis (Gambar 17). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir bersifat fermentatif fakultatif.



Gambar 17. Uji Pertumbuhan Media Cair Isolat Lokasi Kedua (1) *Trigonopsis* sp1, (2) *Debaryomyces* sp2, (3) *Udeniomyces* sp1, (4) *Ascoidea hylocieti*, (5) *Agaricotilbum* sp2, dan (6) *Komagataella* sp.

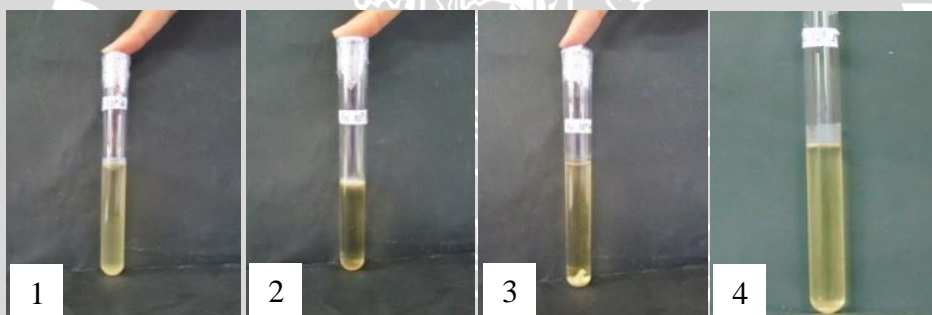
Ascoidea hylocieti yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media dan film di permukaan media yang cukup tebal. Endapan yang terbentuk di dasar media membentuk film sangat tipis dan tumbuh menuju ke bagian atas media, namun tidak mencapai sepertiga bagian media (Gambar 17). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

Agaricotilbum sp2 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media dan film di permukaan media yang cukup tebal. Film tipis terbentuk dari dasar media menuju ke bagian atas media, namun tidak mencapai

sepertiga bagian media (Gambar 17). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

Komagataella sp yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan tipis di dasar media dan terbentuk film yang menyebar hingga permukaan media. Film tipis nampak dari dasar media menuju ke hampir sepertiga bagian media (Gambar 17). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

Udeniomyces sp2 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media dan film di permukaan media yang tidak terlalu tebal. Endapan yang terbentuk pada dasar media nampak membentuk film yang mengarah ke bagian atas media hingga menyebabkan warna media menjadi keruh (Gambar 18). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki dua sifat yaitu fermentatif fakultatif.



Gambar 18. Uji Pertumbuhan Media Cair Isolat Lokasi Ketiga (1) *Udeniomyces* sp2, (2) *Agaricostilbum* sp3, (3) *Trigonopsis* sp2, dan (4) *Debaryomyces* sp3.

Agaricostilbum sp3 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media yang sangat tipis (Gambar 18). Film yang cukup tebal tampak di permukaan media. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat oksidatif.

Trigonopsis sp2 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan yang cukup tebal pada permukaan media. Film tidak terbentuk di dasar dan di permukaan media (Gambar 18). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir bersifat fermentatif obligat.

Debaryomyces sp3 yang ditumbuhkan pada media cair menunjukkan adanya endapan di dasar media dan film di permukaan media yang cukup tipis. Endapan yang terbentuk di dasar media tidak nampak membentuk film yang tumbuh

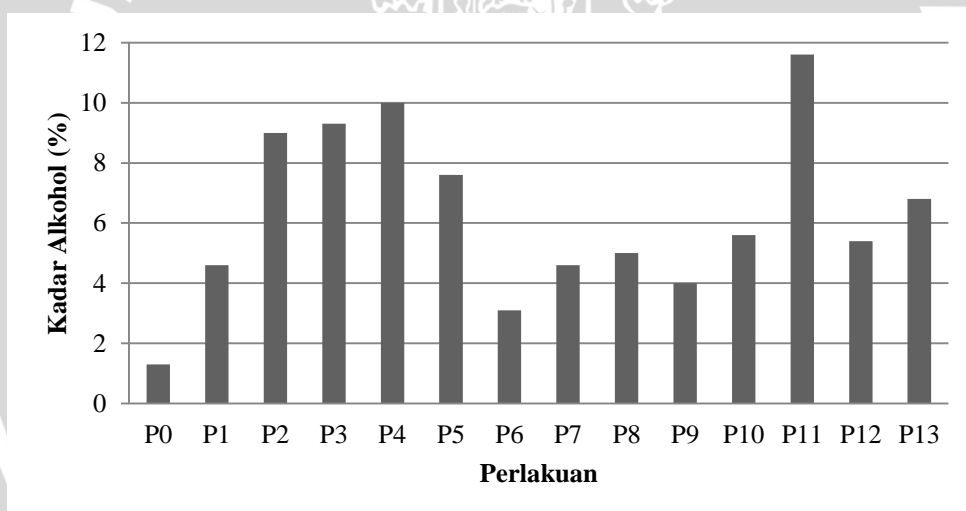
menuju ke bagian atas media (Gambar 18). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa khamir memiliki sifat fermentatif fakultatif.

4.3 Hubungan Sifat Khamir dengan Fermentasi

Khamir hasil isolasi dari perakaran tanaman bambu memiliki sifat fermentatif obligat, fermentatif fakultatif, dan oksidatif. Sifat khamir ini diduga berkaitan erat dengan kondisi fermentasi yang sangat dipengaruhi oleh sifat dari mikroorganisme. Eka *et al.* (2012) menyebutkan proses fermentasi dibagi menjadi dua yaitu fermentasi dalam kondisi aerob dan anaerob. Fermentasi aerob yaitu fermentasi yang dilakukan pada kondisi terbuka atau terjadi apabila dalam kondisi oksigen tersedia. Fermentasi anaerob yaitu fermentasi yang dilakukan dalam kondisi tertutup atau terjadi apabila dalam kondisi tanpa adanya oksigen. Proses fermentasi yang terjadi erat kaitannya dengan sifat mikroorganisme yang berperan didalamnya. Khamir dalam melakukan proses fermentasi akan menghasilkan alkohol dengan kadar tertentu yang dipengaruhi oleh adanya oksigen dan karbondioksida, sehingga alkohol dapat mengindikasikan bahwa suatu khamir tertentu mampu melakukan proses fermentasi.

Isolat khamir yang memiliki sifat fermentatif obligat adalah *Protomyces* sp (P₁), dan *Trigonopsis* sp₂ (P₁₂). Khamir dengan sifat fermentatif obligat dalam fermentasi menghasilkan alkohol secara berturut-turut yaitu 4,6%, dan 5,4%. Isolat khamir yang memiliki sifat fermentatif fakultatif adalah *Agaricostilbum* sp₁ (P₂), *Debaryomyces* sp₁ (P₃), *Trigonopsis* sp₁ (P₄), *Debaryomyces* sp₂ (P₅), *Udeniomyces* sp₁ (P₆), *Ascoidea hylocieti* (P₇), *Agaricostilbum* sp₂ (P₈), *Komagataella* sp (P₉), *Udeniomyces* sp₂ (P₁₀), *Debaryomyces* sp₃ (P₁₃). Khamir dengan sifat fermentatif fakultatif dalam fermentasi menghasilkan alkohol secara berturut-turut yaitu 9%, 9,3%, 10%, 7,4%, 3,1%, 4,6%, 5%, 4%, 5%, dan 6,8%. Isolat khamir yang memiliki sifat oksidatif adalah *Agaricostilbum* sp₃ (P₁₁) dan dalam fermentasi menghasilkan alkohol sebesar 11,6% (Gambar 19). Hal ini menunjukkan bahwa fermentasi sangat dipengaruhi oleh sifat dan kondisi mikroorganisme dalam memanfaatkan sumber nutrisi. Azizah *et al.* (2012) menyatakan bahwa aktivitas khamir sangat dipengaruhi oleh oksigen dan karbondioksida.

Fermentasi yang dilakukan menggunakan isolat *Protomyces* sp dan *Trigonopsis* sp2 yang bersifat fermentatif obligat menghasilkan kadar alkohol yaitu 4,6% dan 5,4%. Kadar alkohol yang dihasilkan tergolong tidak terlalu tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini dikarenakan proses buka tutup botol fermentasi yang dilakukan ketika pengamatan pH dan suhu, mengakibatkan oksigen masuk ke dalam botol fermentasi. Mikroorganisme yang bersifat fermentatif obligat pada umumnya akan terhambat metabolismenya apabila terdapat oksigen, sehingga berpengaruh pada kadar alkohol yang dihasilkan. Azizah *et al.*, (2012) menyebutkan bahwa alkohol akan dihasilkan lebih banyak pada kondisi aerob pada beberapa jenis khamir. Hal ini menunjukkan pula bahwa adanya oksigen selama proses fermentasi akan berpengaruh pada rendahnya kadar alkohol yang dihasilkan dari khamir fermentatif obligat.



Gambar 19. Grafik Kadar Alkohol setelah Fermentasi selama 72 Jam.

Fermentasi yang dilakukan menggunakan isolat *Agaricostilbum* sp1, *Debaryomyces* sp1, *Trigonopsis* sp1, *Debaryomyces* sp2, *Udeniomyces* sp1, *Ascoidea hylocieti*, *Agaricostilbum* sp2, *Komagataella* sp, *Udeniomyces* sp2, dan *Debaryomyces* sp3 yang semuanya bersifat fermentatif fakultatif dapat menghasilkan kadar alkohol 3,1-10%. Kadar alkohol yang dihasilkan tergolong variatif. Hal ini dapat dipengaruhi pula oleh proses buka tutup botol fermentasi yang dilakukan ketika pengamatan pH dan suhu.

Kadar alkohol yang rendah dapat dipengaruhi oleh karbondioksida atau oksigen dalam jumlah tertentu pada botol fermentasi, sehingga dapat menghambat atau mendukung proses metabolisme khamir. Khamir fakultatif pada umumnya dapat memanfaatkan karbohidrat dalam kondisi anaerob, namun masih dapat melakukan metabolisme pada kadar oksigen tertentu atau sebaliknya. Hal ini yang menyebabkan kadar alkohol yang dihasilkan oleh khamir yang bersifat fermentatif fakultatif bervariasi. Kadar oksigen dan karbondioksida tertentu yang mempengaruhi aktivitas khamir dalam menghasilkan alkohol tidak dapat dipastikan, karena tidak adanya pengukuran kadar oksigen dan karbondioksida. Kunaepah (2008) menjelaskan bahwa pada beberapa jenis khamir akan tumbuh lebih baik pada kondisi aerob, namun akan menghasilkan alkohol lebih banyak pada kondisi anaerob. Sehingga pengamatan kadar oksigen dan karbondioksida dalam botol fermentasi selama proses fermentasi sangat penting dilakukan.

Fermentasi menggunakan isolat *Agaricostilbum* sp3 yang bersifat oksidatif menghasilkan kadar alkohol tertinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 11,6%. Hal ini diduga karena oksigen yang masuk pada botol fermentasi ketika dilakukan pengukuran pH dan suhu dimanfaatkan dengan baik oleh khamir dalam melakukan aktivitasnya. Sifat khamir yang oksidatif menandakan bahwa fermentasi akan berjalan lebih baik apabila terdapat oksigen. Sehingga fermentasi menggunakan khamir yang bersifat oksidatif hendaknya dilakukan secara terbuka.

Kondisi fermentasi hendaknya disesuaikan dengan sifat mikroorganisme yang digunakan. Fermentasi menggunakan isolat *Agaricostilbum* sp3 dapat dikatakan sesuai karena oksigen yang terpenuhi akibat proses buka tutup fermentasi, sehingga kadar alkohol yang dihasilkan juga tinggi. Hal ini berbeda dengan fermentasi menggunakan isolat khamir yang bersifat fermentatif obligat karena kondisi ketika fermentasi tidak sesuai dengan sifat khamir, sehingga kadar alkohol yang dihasilkan tidak setinggi yang dihasilkan *Agaricostilbum* sp3. Berbeda lagi dengan fermentasi menggunakan khamir yang bersifat fermentatif fakultatif, karena kadar oksigen dan karbondioksida tertentu harus diketahui terlebih dahulu sebelum dilaksanakan fermentasi untuk diketahui kadar optimal pertumbuhan khamir.

4.4 Fermentasi oleh Khamir Menggunakan Limbah Buah Apel

Pertumbuhan dan perkembangan khamir dalam proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh substrat fermentasi sebagai sumber nutrisi. Nutrisi dalam bahan baku atau penambahan bahan tertentu dalam substrat fermentasi akan sangat berpengaruh pada aktivitas khamir dalam melakukan fermentasi. Kebutuhan khamir terhadap nutrisi tertentu akan mempengaruhi proses fermentasi. Substrat fermentasi yang digunakan yaitu limbah buah apel yang telah disari dengan penambahan *amonium sulfat* dan gula sebagai sumber nutrisi tambahan. Perubahan secara fisik, kimia, dan biologi pada substrat fermentasi dapat mengindikasikan bahwa suatu khamir tertentu mampu melakukan proses fermentasi.

Kadar alkohol dan nilai OD yang meningkat, serta perubahan suhu dan pH pada seluruh perlakuan fermentasi menunjukkan bahwa seluruh khamir yang berhasil diisolasi dari tanah perakaran bambu mampu melakukan metabolisme sel dengan substrat limbah buah apel. Hal tersebut dikarenakan limbah buah apel mengandung karbohidrat dan mineral-mineral lain yang dibutuhkan untuk metabolisme sel khamir. Selain itu, penambahan *amonium sulfat* dan gula pada substrat fermentasi diduga berpengaruh pula pada metabolisme sel khamir. Adanya metabolisme sel tersebut yang mengindikasikan bahwa khamir mampu melakukan fermentasi pada suatu substrat fermentasi.

Karbohidrat yang terkandung dalam buah apel diduga sangat berpengaruh terhadap aktivitas fermentasi oleh khamir. Sari *et al.*, (2012) menyebutkan bahwa suatu mikroorganisme dapat menghidrolisis karbohidrat melalui aktivitas yang dilakukannya guna memperoleh energi. Hal ini menunjukkan bahwa gula dan karbohidrat yang terkandung dalam buah apel sebagai substrat fermentasi akan dihidrolisis menjadi alkohol yang larut. Karbohidrat akan direduksi menjadi glukosa menggunakan enzim *maltase*, kemudian direduksi kembali menjadi asam piruvat dengan bantuan enzim *glukonase*. Reduksi asam piruvat akan menghasilkan asam laktat yang berpengaruh pada penurunan pH substrat. Asam laktat akan mengalami *dekarbonasi* membentuk *asetaldehid* yang selanjutnya hasil reduksinya membentuk alkohol (Susanto, 2011).

Mineral lain yang terkandung dalam buah apel diduga berpengaruh pula pada aktivitas fermentasi oleh khamir. Siregar (2013) menyebutkan bahwa beberapa jenis mineral dapat dimanfaatkan oleh khamir untuk pertumbuhannya. Apel mengandung beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, potasium, zat besi, dan zink (Irsyadul *et al.*, 2011 dalam Melliawati *et al.*, 2015).

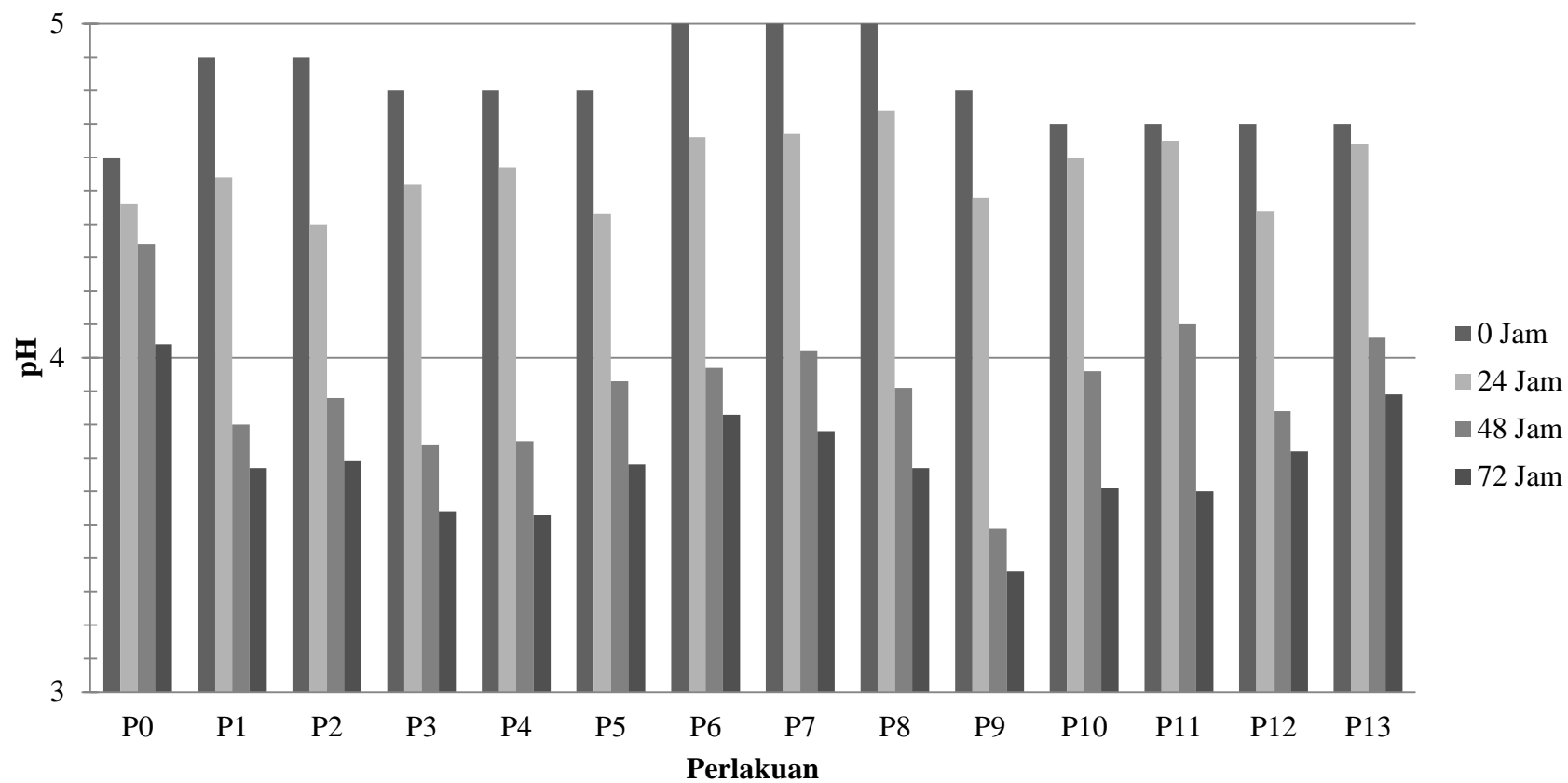
Penambahan *amonium sulfat* pada substrat fermentasi diduga sangat berpengaruh pada tingginya kadar alkohol pada keseluruhan perlakuan dengan penambahan isolat khamir. Widayanti *et al.* (2013) menjelaskan bahwa penambahan *amonium sulfat* akan berpengaruh pada peningkatan kadar alkohol pada substrat fermentasi. Semakin tinggi konsentrasi *amonium sulfat* yang ditambahkan pada substrat fermentasi, maka semakin tinggi pula kadar alkohol yang dihasilkan. Egbosimba *et al.*, (1987) menambahkan bahwa *amonium sulfat* berperan sebagai sumber nitrogen yang digunakan dalam pembentukan asam amino, asam nukleat, dan protein sel. *Amonium sulfat* akan meningkatkan ion *amonium* pada substrat fermentasi. Nitrogen dalam bentuk *amonium* inilah yang dimanfaatkan oleh sel khamir.

Penambahan gula dalam substrat fermentasi diduga turut berpengaruh pada tingginya kadar alkohol yang dihasilkan pada keseluruhan perlakuan dengan penambahan isolat khamir. Hal ini dikarenakan sel khamir akan memanfaatkan gula sebagai sumber karbon untuk melakukan metabolisme sel dalam proses fermentasi. Hal ini didukung oleh Judoamidjojo *et al.* (1989) yang menyatakan bahwa khamir dapat menghasilkan alkohol dengan cara memfermentasi gula. Gula akan diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana oleh enzim *invertase*, dan selanjutnya dikonversi kembali menjadi etanol dengan adanya enzim *zymase*. Gula disakarida akan diubah menjadi gula monosakarida menggunakan enzim *invertase*. Setelah itu, enzim *zymase* akan mengubah gula monosakarida menjadi alkohol dan karbondioksida. Hambali *et al.* (2008) menjelaskan bahwa satu molekul glukosa yang tersedia akan dipecah oleh *S. cerevisiae* menjadi dua molekul alkohol dan dua molekul gas karbondioksida, sehingga akan berpengaruh pula pada penurunan pH pada substrat.

Archibong *et al.* (2015) menyatakan bahwa fermentasi oleh khamir dengan substrat tertentu dapat diketahui dari penurunan pH. Perlakuan yang diujikan secara keseluruhan menunjukkan adanya penurunan pH hingga kisaran 3-3,5. pH yang menurun dari seluruh perlakuan yang diujikan menandakan bahwa substrat mengalami fermentasi. Nilai jangkauan tertinggi penurunan pH antara pengamatan 0 jam ke pengamatan 24 jam ditunjukkan pada perlakuan P₂ yaitu substrat fermentasi dengan penambahan aktivator *Agaricostilbum* sp1. Perlakuan tersebut menunjukkan pH awal substrat fermentasi yaitu 4,9 dan menurun menjadi 4,4 pada pengamatan 0 jam. Nilai jangkauan tertinggi penurunan pH antara pengamatan 24 jam ke pengamatan 48 jam ditunjukkan pada perlakuan P₉ yaitu substrat fermentasi dengan penambahan aktivator *Komagataella* sp. Perlakuan tersebut menunjukkan pH awal substrat fermentasi yaitu 4,48 dan menurun menjadi 3,49. Nilai jangkauan tertinggi penurunan pH antara pengamatan 48 jam ke pengamatan 72 jam ditunjukkan pada perlakuan P₅ yaitu substrat fermentasi dengan penambahan aktivator *Debaryomyces* sp2. Perlakuan tersebut menunjukkan pH awal substrat fermentasi yaitu 3,93 dan menurun menjadi 3,68 pada pengamatan 24 jam. Secara keseluruhan nilai jangkauan tertinggi penurunan pH pada pengamatan 0 jam hingga pengamatan 72 jam ditunjukkan pada perlakuan P₉ yaitu substrat fermentasi dengan penambahan aktivator *Komagataella* sp. Perlakuan tersebut mampu menurunkan pH hingga 3,36 dengan pH awal substrat fermentasi yaitu 4,8 (Gambar 20).

Penurunan pH selama fermentasi dapat dipengaruhi oleh hasil samping fermentasi oleh khamir berupa karbondioksida yang bersifat asam. Karbondioksida merupakan salah satu hasil dari aktivitas metabolisme sel khamir, sehingga selama aktivitas sel khamir masih berlangsung maka penurunan pH akan terus terjadi pada substrat fermentasi (Kartohardjono, 2007). Waktu penurunan pH secara tidak langsung dipengaruhi oleh substrat fermentasi sebagai penyedia nutrisi bagi khamir untuk melakukan metabolisme sel.

Penurunan pH selama fermentasi dapat pula dipengaruhi oleh adanya penambahan *amonium sulfat* pada substrat fermentasi. *Amonium sulfat* digunakan oleh sel khamir sebagai sumber nitrogen yang kemudian diubah menjadi NH₄⁺. Molekul NH₄⁺ akan berikatan dengan sel sebagai R-NH₃. Selama terjadinya



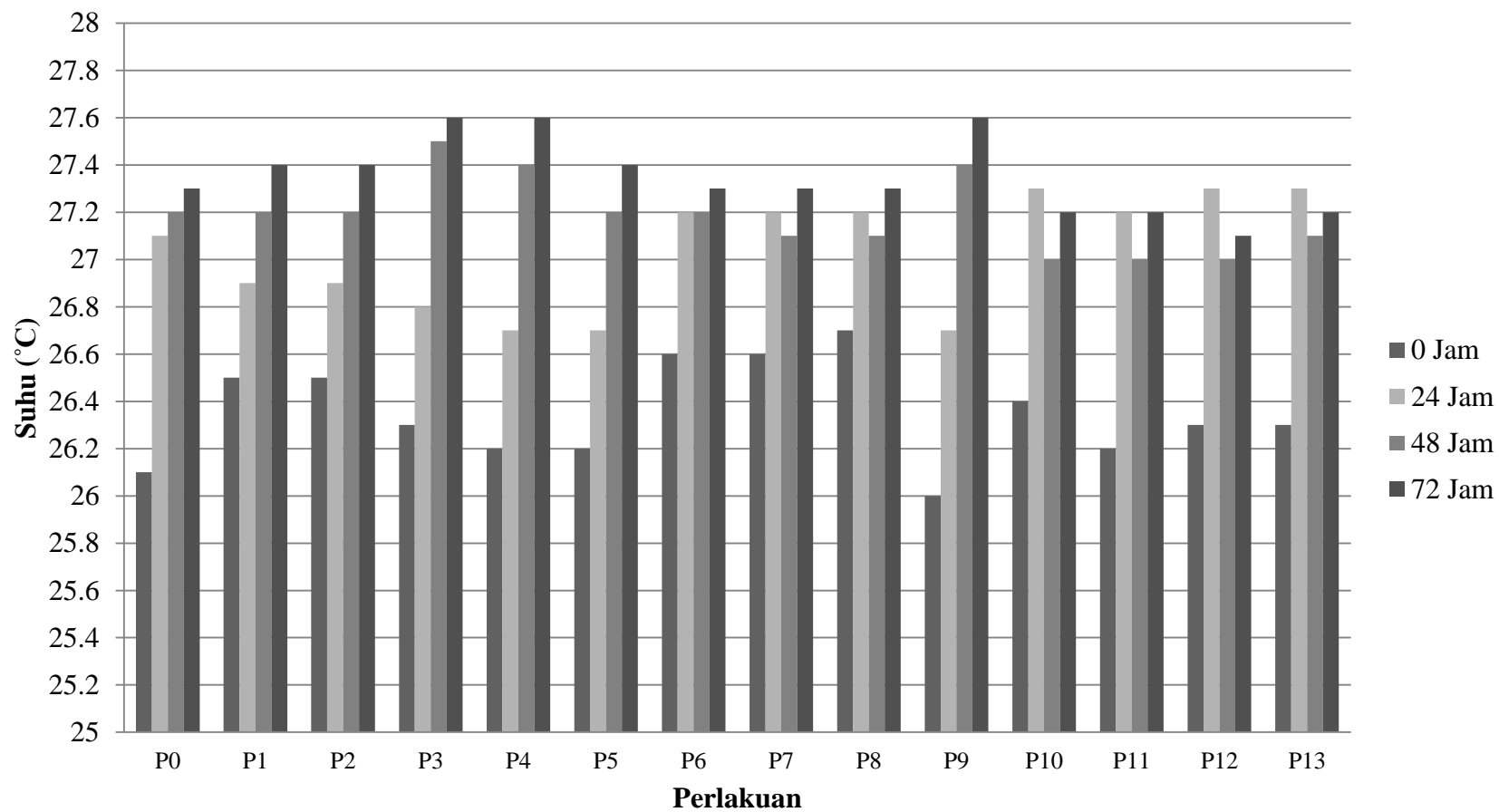
Gambar 20. Grafik perubahan pH pada Substrat Fermentasi.

proses tersebut H^+ akan ditinggalkan dalam substrat fermentasi, sehingga semakin lama waktu fermentasi maka semakin rendah pH pada substrat fermentasi (Judoamdjojo *et al.*, 1989).

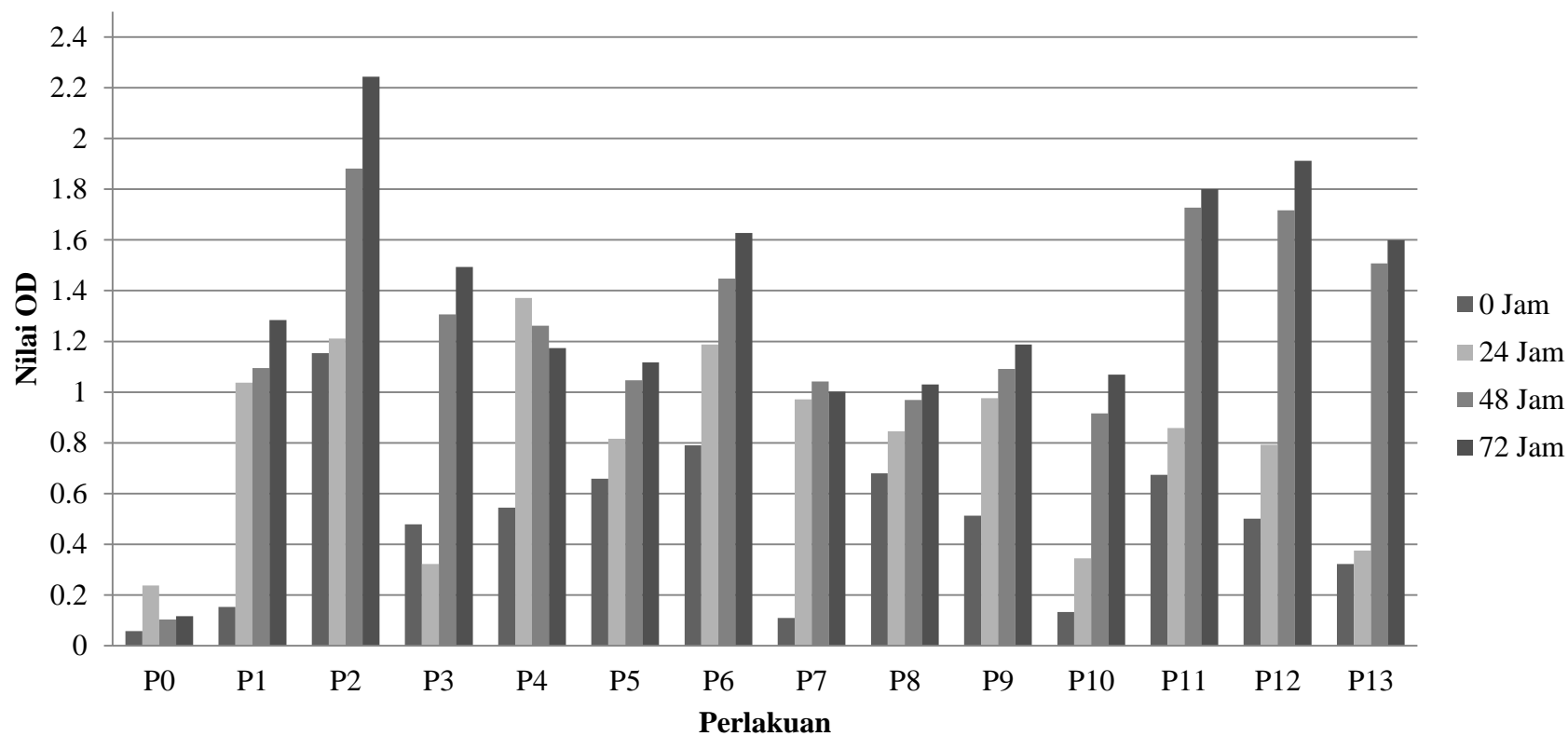
Penurunan pH selama fermentasi dimungkinkan pula karena terbentuknya metabolit-metabolit akibat adanya aktivitas sel khamir. Selama terjadinya fermentasi akan terbentuk asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat, dan asam piruvat yang dapat memberikan kontribusi dalam penurunan pH pada substrat fermentasi (Reed *et al.*, 1973). Nakase *et al.* (1998) menjelaskan pula bahwa penurunan pH dapat dipicu adanya produksi asam organik seperti *sitrat*, *propionat*, dan *laktat* yang merupakan hasil metabolisme glukosa.

Proses fermentasi juga tidak terlepas dari adanya perubahan suhu. Perlakuan kontrol atau P_0 menunjukkan kenaikan suhu sama dengan perlakuan dengan penambahan isolat khamir lainnya. Perlakuan P_1 , P_2 , P_3 , P_4 , P_5 , P_6 , dan P_9 yaitu fermentasi dengan penambahan aktivator *Protomyces* sp, *Agaricostilbum*, *Debaryomyces* sp1, *Trigonopsis* sp1, *Debaryomyces* sp2, *Udeniomyces* sp1, dan *Komagataella* sp menunjukkan peningkatan suhu hingga pada pengamatan 72 jam. Perbedaan ditunjukkan pada perlakuan P_7 , P_8 , P_{10} , P_{11} , P_{12} , P_{13} yaitu fermentasi dengan penambahan isolat *Ascoidea hylocieti*, *Agaricostilbum* sp2, *Udeniomyces* sp2, *Agaricostilbum* sp3, *Trigonopsis* sp2, dan *Debaryomyces* sp3 yang menunjukkan fluktuasi suhu hingga 72 jam (Gambar 21).

Suhu hasil fermentasi pada perlakuan yang diujikan sesuai dengan Santi (2008) yang menyebutkan bahwa beberapa jenis khamir masih dapat beraktivitas pada kisaran suhu 4-32°C. Eka *et al.* (2012) menyebutkan pula bahwa suhu optimum fermentasi oleh khamir pada umumnya yaitu berkisar antara 27-32°C. Hal tersebut mengindikasikan bahwa seluruh khamir yang digunakan lebih aktif pada tahap penghangatan dalam proses fermentasi. Dahono (2012) menjelaskan bahwa selama tahap awal fermentasi, oksigen dan senyawa-senyawa yang mudah terdegradasi akan segera dimanfaatkan oleh mikroba mesofilik. Suhu pada proses fermentasi akan meningkat hingga 50-70°C. Hal ini didukung pula oleh nilai OD yang menunjukkan khamir masih pada tahap pertumbuhan cepat setelah dilakukan fermentasi selama 72 jam (Gambar 22).



Gambar 21. Grafik Perubahan Suhu pada Substrat Fermentasi.



Gambar 22. Grafik Perubahan Nilai OD pada Substrat Fermentasi.

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Genus khamir yang berhasil diisolasi dari tanah perakaran bambu meliputi *Protomyces* sp, *Agaricostilbum* sp1, dan *Debaryomyces* sp1, *Trigonopsis* sp1, *Debaryomyces* sp2, *Udeniomyces* sp1, *Ascoidea hylocieti*, *Agaricostilbum* sp2, dan *Komagataella* sp, *Udeniomyces* sp2, *Agaricostilbum* sp3, *Trigonopsis* sp2, dan *Debaryomyces* sp3.
2. *Protomyces* sp dan *Trigonopsis* sp2 memiliki sifat fermentatif obligat. *Agaricostilbum* sp1, *Debaryomyces* sp1, *Trigonopsis* sp1, *Debaryomyces* sp2, *Udeniomyces* sp1, *Ascoidea hylocieti*, *Agaricostilbum* sp2, *Komagataella* sp, *Udeniomyces* sp2, *Agaricostilbum* sp3, *Debaryomyces* sp3 memiliki sifat fermentatif fakultatif. *Agaricostilbum* sp3 memiliki sifat oksidatif.
3. Sifat khamir berhubungan erat dengan proses fermentasi.
4. Seluruh khamir yang berhasil diisolasi dari tanah perakaran bambu mampu bertindak sebagai fermentor limbah buah apel.

5.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pengukuran kadar oksigen dan karbondioksida selama proses fermentasi, sehingga diketahui kadar tertentu yang baik untuk fermentasi oleh khamir dengan masing-masing sifatnya.
2. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan mengenai fermentasi oleh khamir dari tanah perakaran bambu untuk pengembangan ilmu dibidang industri, pertanian, peternakan, dan pengolahan pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agamy, R., M. Hashem, S. Alamri. 2013. Effect of Soil Amandment with Yeasts as Bio-Fertilizers on the Growth and Productivity of Sugar Beet. *African Journal of Agricultural Research* 8(1): 46-56.
- Amijaya, N. 2016. Jenis Tanaman Bambu Hias di Indonesia. Diunduh dari Nurarmijaya.com pada Tanggal 24 Maret 2016.
- Andoko, A. 2000. *Budidaya Bambu Rebung*. Kanisius. Yogyakarta.
- Andriani, M. 2011. Pengolahan Limbah Sari Buah dengan Filtrat Air Abu Sekam dan Pemanfaatannya dalam Ransum Broiler. Artikel. Program Pasca Sarjana, Universitas Andalas.
- Anonim. 2010. *Statistika Indonesia*. Badan Pusat Statistika. Jakarta.
- Anonim. 2015. Pelatihan Teknis Budidaya Jagung bagi Penyuluh Pertanian dan Babinsa: Pembuatan Pupuk Organik. Artikel. Badan Penyuluhan dan Pengembangan SDM Pertanian.
- Anonim. 2016. United States Department of Agriculture: Nutrient Database Raw Apple. Diunduh dari <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/> pada Tanggal 30 Oktober 2016.
- Archibong, E.J., C.C. Ezemba, I.C. Chukwujama, U.E. Archibong. 2015. Production of Wine from Mixed Fruits: Pineapple (*Ananas comosus*) and Orange (*Citrus sinensis*) Using Khamir Isolated from Palm Wine. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 4(8): 126-136.
- Ashliha I.N., N.H. Alami. 2014. Karakterisasi Khamir dari Pulau Poteran Madura. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* 3(2).
- Asniah, Widodo, S. Wiyono. 2013. Potensi Cendawan Asal Tanah Perakaran Bambu sebagai Endofit dan Agen Biokontrol Penyakit Akar gada pada Tanaman Brokoli. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 13(1): 61-68.
- Azizah, N., A.N. Al-Baarri, S. Mulyani. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Subtitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2(2).
- Balla, R.L. 2004. Potensi dan Prospek Yeast (Khamir) dalam Meningkatkan Diversitas Pangan di Indonesia. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Ilmu Mutu Pangan. Fakultas Peternakan, Universitas Padjajaran.
- Basmal, J. 2010. Teknologi Pembuatan Pupuk Organik Cair Kombinasi Hidrolisat Rumpun Laut *Sargassum* sp. dan Limbah Ikan. *Jurnal Squalen* 5(2): 59-66.

- Batubara, R. 2002. Pemanfaatan Bambu di Indonesia. Artikel. Fakultas Pertanian, Program Ilmu Kehutanan, Universitas Sumatera Utara.
- Ceceri, K. 2009. Microbiology. Diunduh dari <http://homebiology.blogspot.co.id> pada Tanggal 24 Maret 2016.
- Dahono. 2012. Pembuatan Kompos dan Pupuk Cair Organik dari Kotoran dan Urin Sapi. Loka Pengkajian Teknologi Pertanian (LPTP). Kepulauan Riau.
- Efendi, M.H. 2012. PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Diunduh dari humairafarm.blogspot.com pada Tanggal 10 Desember 2016.
- Egbosimba, E.E., J.C. Slaughter. 1987. The Influence of Ammonium Permease Activity and Carbon Source on The Uptake of Ammonium from Simple Defined Media by *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of General Microbiology 133: 375-379.
- Eka, A.P., A. Halim. 2012. Pembuatan Bioetanol dari Nira Siwalan secara Fermentasi Fase Cair Menggunakan Fermipan. Jurnal Teknik Kimia.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fitriati Y., S. Wiyono, I.O. Sumarauw. 2013. Khamir antagonis untuk Pengendalian Penyakit Antraknosa pada Buah Avokad selama Penyimpanan. Jurnal Fitopatologi Indonesia 9(5).
- Hambali, E.S., A.H. Mujdalipah, A.H. Tambunan. A.W. Pattiwiri, R. Hendroko. 2008. Teknologi Bioenergi. Agromedia. Jakarta.
- Hamasaki, T., T. Kitagawa, T. Yasuhara. 2014. Efficacy of Yeast Cell Wall Extract, a Byproduct of Beer Brewing, in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Culture. Journal of International Conference on Sustainable Environment and Agriculture 76(5): 21-25.
- Judoamidjojo, R.M., E.G. Sa'id, L. Hartoto. 1989. Biokonversi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Dirjen Dikti, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Jumiyati, S.H., Bintari, I. Mubarok. 2012. Isolasi dan Identifikasi Khamir secara Morfologi di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. Jurnal Biosantifika 4(1).
- Kamm, K., S. Hoppe, G. Breves, B. Schroder, M. Schemann. 2004. Effect of the Probiotic Yeast *S. boulardii* on the Neurochemistry of Myenteric Neurons in Pig jejunum. Journal of Neurogastroenterol Motil 16: 53-60.
- Kanti, A. 2004. Identifikasi Jenis Khamir yang Diisolasi dari Tanah Gambut Taman Nasional Bukit Duabelas Jambi. Jurnal Biosmart 6(1): 10-14.

- Kartohardjono, S., Anggara, Subihi, Yuliusma. 2007. Absorpsi CO₂ dari Campurannya dengan CH₄ atau N₂ Melalui Kontaktor Membran Serat Berongga Menggunakan Pelarut Air. *Jurnal Teknologi* 11 (2): 97-102.
- Katit, A. 2006. Marga Candida, Khamir Tanah Pelarut Fosfat yang Diisolasi dari Tanah Kebun Biologi Wamena Papua. *Jurnal Biodiversitas* 7(2):105-108.
- Kumalasari, I.J. 2011. Pengaruh Variasi Suhu Inkubasi terhadap Kadar Etanol Hasil Fermentasi Kulit dan Bonggol Nanas (*Ananas sativus*). Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Kurtzman, C.P., J.W. Fell. 1998. *The Khamir: A Taxonomic Study*. Elsevier. New York.
- Kustiyawati, M.E. 2009. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. *Jurnal Agritech* 29(2): 64-70.
- Lanchance, A., W.T. Starmer. 1998. *Khamir and Ecology*. Marcel Dekker. New York.
- Lindquist, J. 2001. *Differential Media: Oxygen Relationships and The Use of Thioglycollate Medium*. Diunduh dari <http://www.jlindquist.net> pada Tanggal 5 Oktober 2016.
- Madi, K.Z.E. 2014. Manfaat dan Kandungan Buah Apel. Diunduh dari <http://mediaima.blogspot.co.id> pada Tanggal 24 Maret 2016.
- Medeiros, A.S.S. 2014. *Fermentation of Fruit Juices by the Osmotolerant Yeast Candida magnoliae*. Dissertation. Faculty of Biotechnology University of Nova de Lisboa.
- Melliawati R., Nuryati, L. Maghfiroh. 2015. Pengolahan Limbah Kulit Buah-buahan menjadi Selulosa oleh Bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 1(2): 300-305.
- Nakase, T., S. Matofumi. 1998. Biochemical Studies in The Khamir Genus *Candida*. *Journal of Cellular and Molecular Biology* 30 (3): 291-301.
- Reed, G., H.J. Peepler. *Khamir Technology*. The AVI Publishing Co. New York.
- Rubio, M.A. Texeira. 2005. Comparative Analysis of The Gal Genetic Switch Between Not-So-Distant Cousins: *Saccharomyces cerevisiae* Versus *Kluyveromyces fragilis*. *FEMS Khamir Res* 5: 1115-1128.

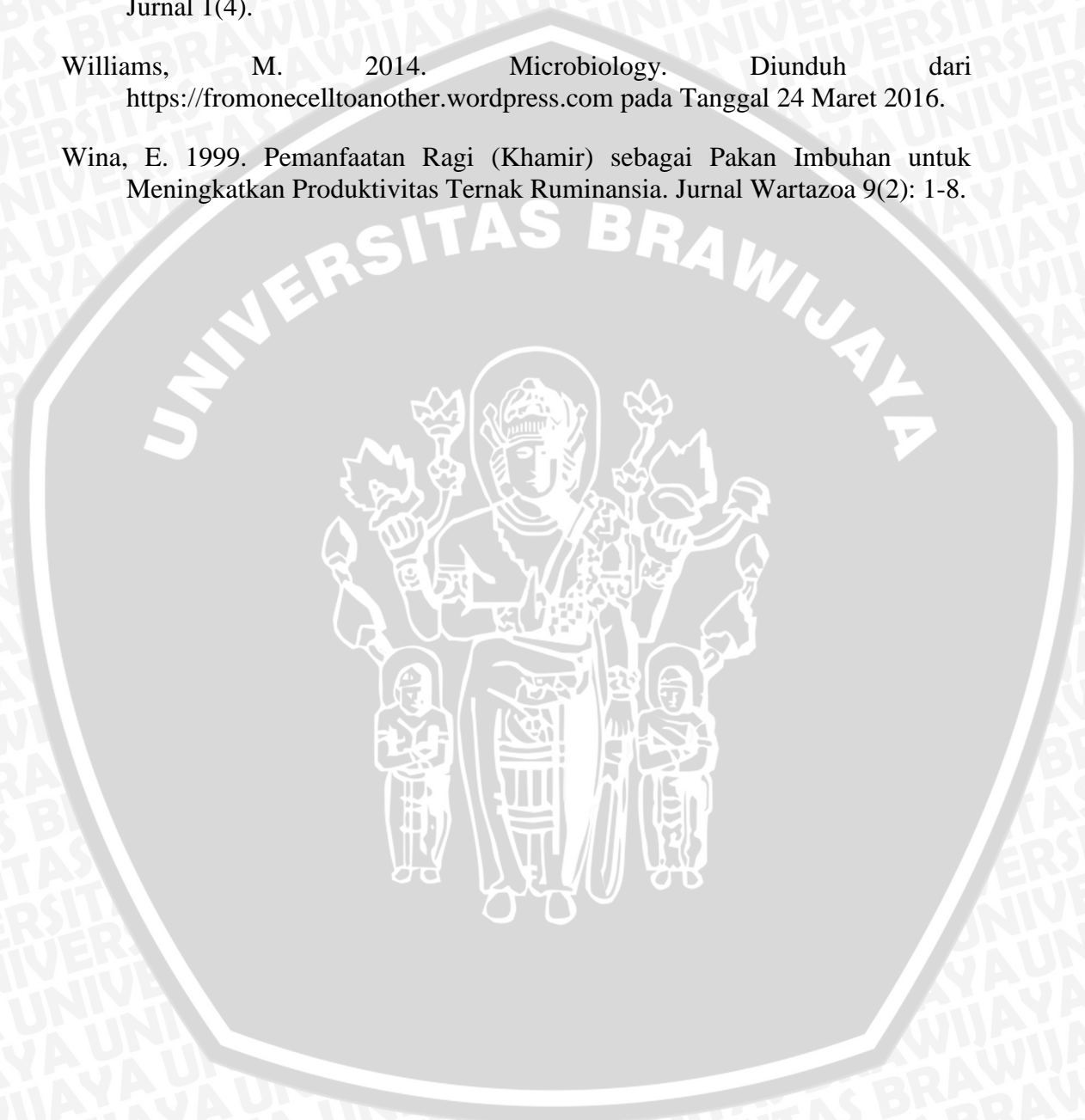
- Santi, S.S. 2008. Pembuatan Alkohol dengan Proses Fermentasi Buah Jambu Mete Oleh Khamir *Sacharomyces cerevisiae*. Jurnal Penelitian Ilmu Teknik 8(2):104-111.
- Sari E.K.N., B. Susilo, S.H. Sumarlan. 2012. Proses Pengawetan Sari Buah Apel (*Mallus sylvestris* Mill) secara Non Termal Berbasis Teknologi Oscillating Magneting Field (OMF). Jurnal Teknologi Pertanian 13(2): 78-87.
- Styorini. 2010. Konsep Usaha Tani Organik PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Artikel. Universitas Negeri Semarang.
- Sigit I.M.I., M. N. Sangadji, Andrianton. 2014. Uji Efektivitas Mikroba Rumpun Bambu terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). Jurnal Agroteknologi dan Bisnis 2(3): 230-236.
- Sitompul, K. 2009. Penetapan Kadar Fosfor dalam Buah Apel (*Malus domestica* Borkh.) secara Spektrofotometri Sinar Tampak. Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Slavikova E., B. Kosikova, M. Mikulasova. 2002. Biotransformation of Waste Lignin Products by the Soil Inhabiting Yeast *Trichosporon pullulans*. Canadian Journal of Microbiology 48(3): 200-203.
- Spencer, J.F.T., D.M Spencer. 1997. Khamir in Natural and Artificial Habitats. Spinger Verlag. Berlin.
- Subagyo P., Z. Achmad. 2010. Pemungutan Pektin dari Kulit dan Ampas Apel secara Ekstraksi. Jurnal Eksergi 10(2).
- Subandriyo. 2013. Optimasi Pengomposan Sampah Organik Rumah Tangga Menggunakan Kombinasi Aktivator EM4 dan Aktivator Mikroorganisme Lokal (MOL). Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sugoro, I., I. Gobel, N. Lelaningtyas. 2005. Pengaruh Probiotik Khamir terhadap Fermentasi dalam Cairan Rumen secara In Vitro. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Susanto, W. Hadi, B. Rakhmad. 2011. Pengaruh Varietas Apel (*Malus sylvestris*) dan Lama Fermentasinya oleh Khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Perlakuan Pra Pengelolaan Terhadap Karakteristik Sirup. Jurnal Teknologi Pertanian 12 (3): 135-142.
- Susetyo, N.A. 2013. Pemanfaatan Urin Sapi sebagai POC (Pupuk Organik Cair) dengan Penambahan Akar Bambu melalui Proses Fermentasi dengan Waktu yang Berbeda. Naskah Publikasi Skripsi.
- Widayanti, N.P., W.S. Rita, Y. Ciawi. 2013. Pengaruh Konsentrasi Amonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄) sebagai Sumber Nitrogen terhadap Produksi Bioetanol Berbahan Baku *Glacilaria* sp. Jurnal Kimia 7(1): 1-10.

Widiastutik N., N.H. Alami. 2014. Analisis Kualitas Larutan MOL (Mikroorganisme Lokal) Berbasis Daun Gamal (*Gliricidia sepium*). Jurnal Sains dan Seni Pomits 3(1).

Wilia W., Widodo, S. Wiyono. 2012. Potensi Khamir untuk Mengendalikan Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum acutatum* L.) pada Tanaman Cabai. Jurnal 1(4).

Williams, M. 2014. Microbiology. Diunduh dari <https://fromonecelltoanother.wordpress.com> pada Tanggal 24 Maret 2016.

Wina, E. 1999. Pemanfaatan Ragi (Khamir) sebagai Pakan Imbuhan untuk Meningkatkan Produktivitas Ternak Ruminansia. Jurnal Wartazoa 9(2): 1-8.





LAMPIRAN





A



B

Lampiran Gambar 1. Pelaksanaan Isolasi Khamir (A) Menghomogenkan Contoh Tanah dalam Erlenmeyer berisi Aquades dan (B) Pengenceran.

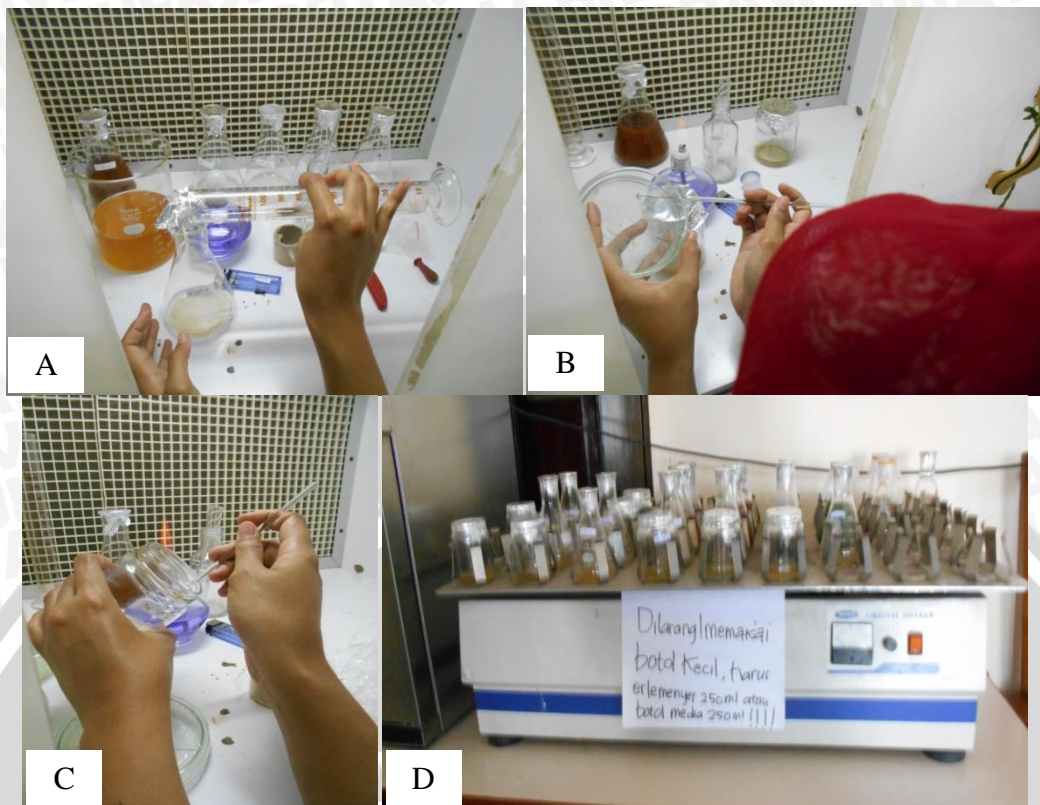


A

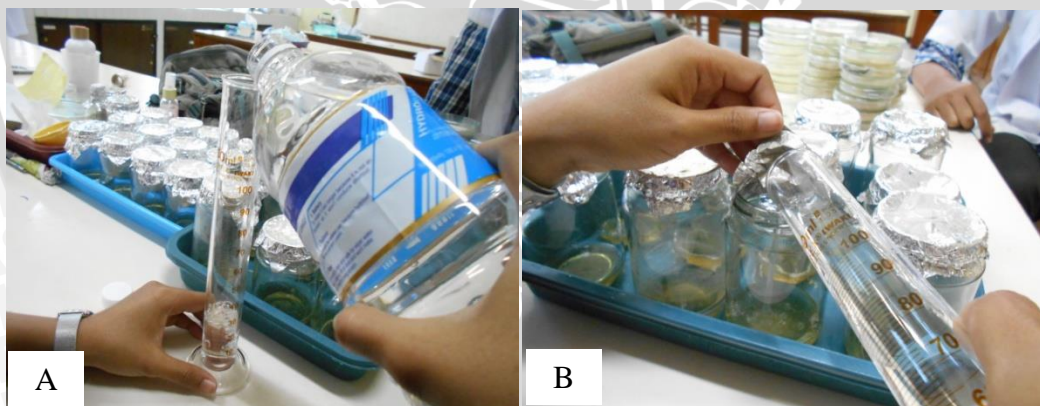


B

Lampiran Gambar 2. Pelaksanaan Pembuatan Substrat (A) Mencuci Buah Apel dan (B) Menimbang Buah Apel.


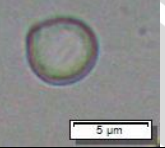
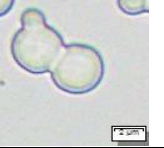

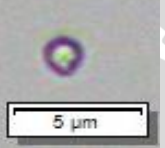
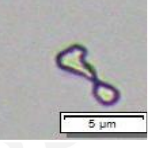

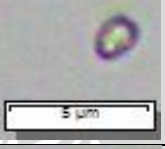


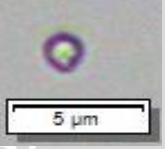
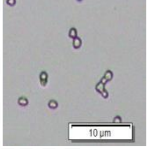


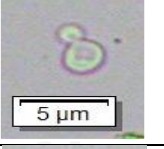

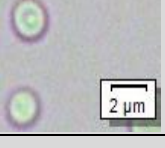
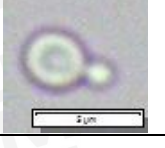


Lampiran Gambar 3. Pelaksanaan Pembuatan Starter Khamir (A) Penyiapan Sari Buah Apel, (B) Pengambilan Isolat Khamir, (C) Isolat Khamir dimasukkan dalam Sari Buah Apel, dan (D) Inkubasi Starter Khamir di atas *Orbital Shaker*.





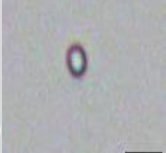


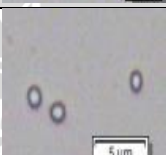
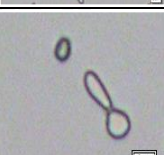





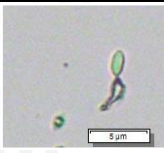





Lampiran Gambar 4. Pelaksanaan Persiapan Substrat Fermentasi (A) Mengukur Aquades dan (B) Mengencerkan Sari Buah Apel.

Lampiran Tabel 1. Karakterisasi Isolat Khamir Hasil Isolasi dari Tiga Lokasi Pengambilan Contoh Tanah

Nama Isolat	Koloni	Tekstur	Elevasi	Bentuk Sel	Ukuran Sel	Pertunasan
<i>Protomyces</i> sp		Padat	Agak cembung		1,47-4,14 µm	
<i>Agaricostilbum</i> sp1		Padat	Agak cembung		1,12-3,4 µm	
<i>Agaricostilbum</i> sp2		Padat	Agak cembung		1,16-3,42 µm	
<i>Agaricostilbum</i> sp3		Padat	Agak cembung		1,16-3,42 µm	
<i>Debaryomyces</i> sp1		Padat	Agak cembung		1,06-4,42 µm	
<i>Debaryomyces</i> sp2		Padat	Agak cembung		1,09-4,42 µm	

Lanjutan Lampiran Tabel 1. Karakterisasi Isolat Khamir Hasil Isolasi dari Tiga Lokasi Pengambilan Contoh Tanah

Nama Isolat	Koloni	Tekstur	Elevasi	Bentuk Sel	Ukuran Sel	Pertunasan
<i>Debaryomyces</i> sp3		Padat	Agak cembung		1,09-4,42 µm	
<i>Udeniomyces</i> sp1		Padat	Datar-agak cembung		1,05-1,54 µm	
<i>Udeniomyces</i> sp2		Padat	Datar-agak cembung		1,05-1,53 µm	
<i>Trigonopsis</i> sp1		Padat	Datar		(1,05 x 1,95) - (1,07 x 2,85) µm	
<i>Trigonopsis</i> sp2		Padat	Datar		(1,05 x 1,95) - (1,07 x 2,85) µm	
<i>Ascoidea hylocieti</i>		Padat	Datar-agak cembung		1,04-6,85 µm	

Lanjutan Lampiran Tabel 1. Karakterisasi Isolat Khamir Hasil Isolasi dari Tiga Lokasi Pengambilan Contoh Tanah

Nama Isolat	Koloni	Tekstur	Elevasi	Bentuk Sel	Ukuran Sel	Pertunasan
<i>Komagataella</i> sp		Padat	Datar		1,04-6,85 µm	

