

# ISOLASI DAN KARAKTERISASI YEAST AMILOLITIK DARI RAGI TAPE

## ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF AMYLOLYTIC YEAST FROM RAGI TAPE

Edhi Nurhartadi<sup>1)</sup> dan Endang Sutriswati Rahayu<sup>2)</sup>

1) Staf Pengajar Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian UNS Surakarta

2) Staf Pengajar Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Program Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada

### ABSTRACT

The demand of sugar increases every year caused by people growth. Indonesia has starchy materials like tapioca and for long time used to produce food by traditional fermentation with ragi tape. Ragi tape contains many amylolytic and fermentative microbial. The object of this study was to isolate amylolytic yeast from ragi tape, which could be used to produce amylolytic enzymes as an alternative source of amylolytic enzyme from microbial origin. Isolation was done by dilution and spread plate methods on peptone glucose yeast extract soluble starch (PGYS) agar medium, incubated 30 °C, for 2 days and purified with same medium. The isolates were then identified based on morphology and physiology profiles. Selection of the strongest isolate with high amylolytic potent was done with amylolytic activity. The chosen isolate was then used to produce amylolytic enzyme in yeast extract malt extract soluble starch (YMS) medium with variation of soluble starch content. 15 amylolytic yeast isolates have been isolated, and then identified with taxonomic keys were suspected as *Debaryomyces vanriji* (4 isolates), *Saccharomycopsis fibuligera* (3 isolates), and *Pichia burtonii* (8 isolates). They could grow well on starch medium. The result of selection based on amylolytic activity showed that *S. fibuligera* E-3 was the strongest among the others. From the fermentation, this research obtained the cells content increased or obtained logarithmic phase in 1<sup>st</sup> day of fermentation, and after 2<sup>nd</sup> day reached stationary phase medium. The reduction sugar content increased in 1<sup>st</sup> day of fermentation, after 2<sup>nd</sup> day was increased slowly. The soluble starch content was decreased rapidly in 1<sup>st</sup> day, after 2<sup>nd</sup> day was decreased slowly. The glucoamylase activity was high at 1<sup>st</sup> day, but in 2<sup>nd</sup> day was low. *S. fibuligera* had glucoamylase activity 44.13 mg glucose/L/min/1 ml enzyme solution.

Key words: amylolytic yeast, ragi tape, soluble starch, *S. fibuligera* E-3

### PENDAHULUAN

Ragi tape merupakan inokulan berisi kultur mikrobia yang bersifat amilolitik dan fermentatif. Produksi ragi pada umumnya dilakukan pada industri kecil. Ragi dibuat dari campuran tepung beras dengan beberapa bumbu antara lain bawang putih, merica, laos, cabe, kayu manis, cabe rawit, sedikit air jeruk nipis dan sepotong kecil tebu. Jenis inokulum yang sama dengan ragi di Indonesia adalah bubod dari Filipina, luk pang dari Thailand, peh chu dari China, bakhar; mucha; ranu; u-y-iat dari India, jui paing dari Malaysia dan nooruk dari Korea (Kasmidjo, 1983).

Mikrobia amilolitik dan fermentatif yang telah berhasil diisolasi oleh para peneliti dari berbagai merk ragi tape dari berbagai tempat dan pasar di Indonesia merupakan kombinasi dari *Amylomyces rouxii*, *Rhizopus oryzae*, *Endomycopsis burtonii*, *Mucor* sp, *Candida utilis*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Saccharomyces cerevisiae* dan beberapa bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum* dan *L. fermentum*

(Gandjar 2003; Ko, 1972; Ko, 1977; Ko, 1986; Saono *et al.*, 1974; Steinkraus, 1996; Uchimura *et al.*, 1998). Peneliti dari Filipina, Malaysia, Thailand dan Vietnam juga menemukan spesies mikrobia yang sama pada inokulum di wilayah mereka.

Kebutuhan gula pasir (sukrosa) untuk digunakan sebagai bahan pemanis dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Hal tersebut terjadi karena jumlah penduduk yang semakin meningkat, demikian juga dengan industri yang memerlukan gula pasir sebagai bahan pemanis untuk produknya mengalami perkembangan yang cepat. Meski kebutuhan gula pasir di Indonesia meningkat, namun produksi pabrik gula tebu cenderung menurun Akibatnya pemerintah melakukan impor untuk memenuhi kebutuhan gula pasir dalam negeri.

Sirup fruktosa sering disebut *High Fructose Syrup* (HFS) merupakan salah satu jenis pemanis yang banyak digunakan dalam industri minuman. Bahan pemanis ini dapat dibuat dari pati misalnya pati ubi kayu dengan dilakukan hidrolisis dan isomerisasi dengan enzim tertentu. Peluang penggunaan sirup fruktosa dalam industri sangat besar

mengingat kebutuhan gula yang meningkat seperti telah disebut di atas dan biaya investasi pabrik pengolahan sirup fruktosa jauh lebih murah dibandingkan biaya investasi pabrik gula tebu. Sukrosa dibandingkan dengan glukosa dan fruktosa mempunyai kemanisan yang lebih tinggi (Suhardi, 1992).

Indonesia sendiri kaya bahan berpati dari golongan sereal dan umbi-umbian seperti beras, ubi kayu, sagu dan lainnya. Bahan berpati tersebut telah lama digunakan untuk produksi makanan melalui proses fermentasi tradisional menggunakan ragi. Prinsip dasar fermentasi pangan berpati adalah degradasi komponen pati menjadi dekstrin dan gula, selanjutnya gula diubah menjadi alkohol atau asam, sehingga makanan hasil fermentasinya berasa manis alkoholik dan sedikit asam atau manis sedikit asam. Dalam proses fermentasi tape, pati mentah digelatinisasi dengan dimasak, kemudian dilikuiifikasi dengan  $\alpha$ -amilase dan akhirnya disakarifikasi menjadi glukosa oleh glukoamilase. Beras ketan berubah menjadi lunak dan selama proses fermentasi terbentuk beberapa asam organik. Asam organik bereaksi dengan alkohol menghasilkan aroma khas tape.

Pati merupakan campuran dua polimer unit D-glukosil rantai lurus (amilosa dengan ikatan  $\alpha$ -1,4) dan bercabang (amilopektin, dengan ikatan  $\alpha$ -1,4 dan  $\alpha$ -1,6). Proses likuifikasi dan sakarifikasi pati dapat dilakukan dengan menggunakan mikrobia penghasil enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase. Mikrobia yang digunakan untuk proses sakarifikasi adalah mikrobia yang bersifat amilolitik, mampu menghasilkan enzim amilase, terutama  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase. Mikrobia amilolitik yang mampu menghidrolisis pati segar dan telah banyak diteliti terutama dari golongan jamur dan yeast. Enzim  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -1,4 glukon 4-glukanohidrolase) adalah endoenzim yang beraksi memutus ikatan  $\alpha$ -1,4 secara acak di bagian dalam molekul baik pada amilosa maupun amilopektin (Whitaker, 1994). Glukoamilase (1,4- $\alpha$ -D-glukan glukohidrolase) adalah enzim yang membebaskan glukosa dari pati melalui sisi gugus non reduksi. Enzim ini bersifat

eksoamilase, yaitu dapat memutus rantai pati pada ikatan  $\alpha$ -1,4 dan  $\alpha$ -1,6 menjadi molekul-molekul glukosa pada bagian non reduksi dari molekul amilosa maupun amilopektin (Tani *et al.*, 1986).

Peranan yeast amilolitik pada fermentasi tradisional sangat besar yaitu bersama dengan jamur amilolitik akan mempercepat proses degradasi pati menjadi gula sederhana, gula sederhana yang dihasilkan akan diubah menjadi asam organik dan alkohol membentuk aroma khas dari tape, sehingga kemampuan amilolitiknya dapat menjadi hal yang menarik dan mempunyai potensi untuk keperluan praktis.

Penelitian ini dapat menjadi suatu langkah awal dalam mendapatkan enzim amilolitik yang dihasilkan oleh isolat yeast amilolitik dari ragi tape sehingga dapat menjadi sumber enzim amilolitik alternatif. Jika enzim amilolitik dari isolat yeast dari ragi tape mempunyai potensi besar untuk proses likuifikasi dan sakarifikasi dari bahan pangan berpati yang jumlahnya melimpah, maka dapat digunakan untuk membuat sirup tinggi fruktosa, sehingga kebutuhan bahan pemanis dapat terpenuhi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi yeast amilolitik yang terdapat dalam ragi tape.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Sampel yang digunakan adalah empat macam merk ragi yaitu NKL, MK, 66, tanpa merk.

Media yang digunakan untuk isolasi adalah PGYS (pepton glukosa yeast ekstrak soluble starch). Media untuk pengujian adalah YM (yeast ekstrak malt ekstrak) dan YMS (yeast ekstrak malt ekstrak soluble starch).

Bahan kimia pendukung adalah chloromycetin, lugol iodine, cat safranin, anilin kristal violet, gliserol 20%, indikator bromothymol blue, NaOH 0,6 N, HCl 1N, buffer Asetat 0,2 M pH 5,4, kit API 20 C AUX (Biomerieux, Prancis).

## Peralatan

Peralatan yang dipakai pada penelitian ini meliputi inkubator, autoklaf, sentrifuge, pH meter, timbangan analitik, vortex, waterbath, oven pengering, pipetmen, mikroskop, spektrofotometer, tabung reaksi, cawan Petri, tabung Eppendorf, tabung Erlenmeyer dan lain-lain.

## Metode

### Isolasi yeast amilolitik

Metode yang digunakan untuk isolasi adalah metode pengenceran (*dilution*) dan dilanjutkan dengan plating secara *spread plate*. Media yang digunakan untuk isolasi adalah PGYS ditambah chloromycetin, inkubasi dilakukan pada 30°C selama 2 hari. Koloni yeast yang membentuk zona hidrolisis (zona jernih) selanjutnya diisolasi, kemudian dimurnikan dengan metode goresan (*streak plate*) pada media yang sama. Isolat murni yang diperoleh disimpan dalam gliserol 20% pada suhu -40°C.

### Karakterisasi dan identifikasi yeast

Identifikasi isolat yeast amilolitik didasarkan pada karakteristik morfologi (bentuk dan ukuran sel, pembentukan reproduksi vegetatif, pembentukan askospora, pembentukan pseudomiselium atau true miselium, pertumbuhan pada media PGY cair dan PGY agar) dan fisiologis (fermentasi dan pembentukan asam, pertumbuhan pada 50% glukosa dan 10% NaCl-5% glukosa, pertumbuhan pada berbagai suhu, pertumbuhan pada media cair tanpa vitamin, urease test, asimilasi senyawa nitrogen dan asimilasi senyawa karbon dengan kit API 20C AUX (Biomerieux, Prancis)). Selanjutnya hasil karakterisasi morfologi dan fisiologis dicocokkan dengan kunci genus dan spesies dari Kreger van Rij (1984).

### Aktivitas amilolitik

Masing-masing isolat yeast ditumbuhkan pada media YMS agar sebagai titik diinokulasi pada permukaan agar soluble starch (2% soluble starch, 0,3% yeast ekstrak, 0,3% malt ekstrak, 1,5% agar) pada 3 posisi sebagai ulangan. Setelah diinkubasi 30°C, selama 2 hari, ditetesi dengan larutan

lugol iodine (1 g I<sub>2</sub>, 2 g KI dalam 300 ml aquadest) dan diukur diameter zona jernih dan diameter koloni. Aktivitas amilolitik ditunjukkan sebagai rasio diameter zona jernih terhadap diameter koloni (Dinu, *et al.*, 2001).

### Pengukuran Biomassa

Pengukuran biomassa dilakukan dengan metode berat sel kering dan metode spektrofotometri. Pengukuran dengan metode spektrofotometri, kultur setiap interval waktu tertentu diukur absorbansinya pada  $\lambda$ 660nm. Pengukuran dilakukan setelah 10 kali pengenceran untuk memperoleh nilai absorbansi di bawah 0,4. Pengukuran dengan metode berat sel kering yaitu dengan memisahkan sel dari cairannya dan dikeringkan pada oven suhu 105°C, selama 24 jam lalu ditimbang sampai beratnya konstan.

### Uji aktivitas enzim glukoamilase (Masayuki, *et al.*, 1993)

Supernatan hasil sentrifugasi cairan kultur digunakan sebagai sumber enzim kasar. Diambil 1,0 ml cairan enzim kemudian ditambah 1,0 ml pati 1% (1 g soluble starch dalam 100 ml aquadest) dan 3,0 ml buffer asetat 0,2 M pH 5,4. Diinkubasi 37°C, selama 15 menit. Penghentian aktivitas enzim dilakukan dengan cara menambahkan 0,5 ml NaOH 0,6 N. kemudian campuran tersebut dianalisa gulanya dengan metode Nelson-Somogyi. Satu unit aktivitas enzim glukoamilase didefinisikan dengan 1 mg glukosa yang dihasilkan setiap menit pada kondisi tersebut.

### Analisa kadar pati terlarut

Jumlah pati terlarut dalam kultur diukur dengan metode iodine yaitu 1,0 ml supernatan yang diperoleh dari sentrifugasi kultur ditambah 1,0 ml larutan iodine (1,0 g I<sub>2</sub>:5,0 g KI dalam 100 ml aquaest) ditambah 8,0 ml aquadest kemudian ditera absorbansinya pada  $\lambda$  590 nm terhadap larutan blanko. Jumlah pati dihitung dengan menggunakan larutan standar pati yang diperlakukan sama.

## Analisa gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji dkk, 1984)

Gula reduksi yang terbentuk diukur pada supernatan dari hasil sentrifugasi, kemudian dianalisa dengan metode Nelson-Somogyi ditera absorbansinya dengan spektrofotometer dengan  $\lambda$  540 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan identifikasi yeast amilolitik dari ragi tape

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran (*dilution*) dilanjutkan dengan plating secara *spread plate*, diperoleh 15 isolat yeast amilolitik dari tiga merk ragi tape (NKL, 66, tanpa merk), dari ragi MK tidak berhasil diperoleh isolat yeast amilolitik. Identifikasi dilakukan dengan menurut kunci genus dan spesies dari *The Yeast: a taxonomic study*, 3<sup>rd</sup> edition (Kreger van Rij, 1984) menyatakan bahwa isolat yang diperoleh dari tiga merk ragi tape diduga adalah *Debaryomyces vanriji* (4 isolat), *Saccharomycopsis fibuligera* (3 isolat), dan *Pichia burtonii* (8 isolat) (**Tabel 1**). Dari hasil tersebut diketahui bahwa *S. fibuligera* dan *P. burtonii* terdapat pada semua merk ragi. Hasil ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan dengan penelitian-penelitian sebelumnya meskipun dengan nama genus yang berbeda. Kreger van Rij (1984) menyebutkan bahwa *S. fibuligera* sebelumnya disebut *Endomycopsis fibuligera*, dimasukkan ke dalam genus *Saccharomycopsis*, sehingga namanya menjadi *Saccharomycopsis fibuligera*. Oleh Dwidjoseputro (1970) nama *S. fibuligera* disebut *Candida lactosa*. *Pichia burtonii* sebelumnya pernah termasuk genus *Endomycopsis*., namun oleh van der Walt dan Schoot menyampaikan bahwa *Endomycopsis* menjadi sinonim dari *Saccharomycopsis* dan mentransfer banyak spesies *Endomycopsis* ke *Saccharomycopsis*, tapi *P. burtonii* tidak. Kemudian von Arx dan van der Walt memasukkan *P. burtonii* ke genus baru *Hypopichia*. Namun pada perkembangan sekarang, spesies *P. burtonii* tetap termasuk dalam genera *Pichia*. *D. vanriji* mempunyai dua varietas yaitu *D.*

*vanriji* var. *vanriji* dan *D. vanriji* var. *yarrowii*, perbedaannya adalah *D. vanriji* var *vanriji* dapat tumbuh pada 37°C dan memfermentasi pati (starch), sedangkan *D. vanriji* var *yarrowii* tidak.

### Aktivitas amilolitik dari isolat yeast yang diperoleh dari ragi tape

Hasil pengujian aktivitas amilolitik (**Tabel 2**) menunjukkan bahwa isolat E-3 (*S. fibuligera*) mempunyai aktivitas yang terbesar pada media pati agar, yaitu 3,80, yang merupakan rasio diameter zona jernih dan diameter koloni. Sedangkan isolat yeast lainnya mempunyai aktivitas amilolitik lebih rendah daripada isolat E-3. *D. vanriji* yang tidak biasa terdapat dalam ragi, karena mempunyai habitat di tanah, dalam pengujian aktivitas amilolitik mempunyai aktivitas 2,53-3,06. *P. burtonii* mempunyai aktivitas amilolitik 1,56-3,18. Aktivitas amilolitik yang besar dari *S. fibuligera* berhubungan dengan peranan dari yeast ini dalam ragi tape pada hidrolisis pati menjadi gula sebagaimana telah ditunjukkan oleh banyak peneliti.

### Aktivitas enzim glukoamilase dari isolat E-3 pada media dengan variasi pati terlarut

Isolat E-3 berdasarkan aktivitas amilolitik merupakan isolat yang paling besar aktivitasnya, sehingga digunakan untuk memproduksi enzim glukoamilase pada media dengan variasi pati terlarut yaitu 0,5%; 1,0%; 1,5% dan 2,0%. Hasil pengujian ditunjukkan oleh **Gambar 1**. **Gambar 1** menunjukkan hubungan kadar sel, kadar pati terlarut, kadar gula reduksi dan aktivitas enzim glukoamilase selama fermentasi 3 hari.

**a. Kadar sel.** Sel akan menggunakan substrat pati terlarut untuk pertumbuhannya. Pati terlarut merupakan polisakarida yang harus dihidrolisis oleh enzim glukoamilase menjadi gula-gula sederhana. Sel yang diinokulasi pada media akan mengalami pola fase pertumbuhan mikrobial umumnya yaitu fase adaptasi, fase lag, fase eksponensial (fase logaritmik), fase stasioner. Dari **Gambar 1** dapat dilihat bahwa pada

**Tabel 1.** Karakteristik Morfologi dan Kultur Dari Isolat Yeast yang Diisolasi dari Ragi Tape

Karakteristik		Isolat															
		E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	E-6	E-8	E-9	E-10	E-12	E-13	E-15	E-16	E-17	E-18	
Morfologi	Bentuk sel	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	
	Ukuran sel (µm)	us1	us1	us2	us1	us1	us3	us3	us3	us3	us3	us2	us3	us3	us2	us3	
	Reproduksi Vegetatif	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	m.b	
	Askospora	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Pseudomiselium	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	True miselium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Pertumbuhan pd PGY cair	Pellicle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ring	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pertumbuhan pd PGY agar	Edge	s	s	f	s	s	s	s	s	s	f	s	s	f	s	s
		Elevation	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
Color	Surface	r	r	h	r	r	r	r	r	r	h	r	r	h	r	r	
	Color	y	y	w	y	y	y	y	y	y	w	y	y	w	y	y	
	Color	y	y	w	y	y	y	y	y	y	w	y	y	w	y	y	
Fisiologi	Fermentasi Sumber Karbon	Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		Galaktosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sukrosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Laktosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Rafinosa	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
	Asimilasi Sumber Karbon	Soluble starch	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Glycerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Ca-2-Keto Gluconate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		L-Arabinose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
		D-Xylose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
		Adonitol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Xylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		D-Galactose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
		Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		D-Sorbitol	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Me-α-D-Glucoside	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		N-Acetyl-Glucosamine	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		D-Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	D-Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	D-Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	D-Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	D-Trehalose	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	D-Melezitose	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
	D-Raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Asimilasi Sumber Nitrogen	KNO <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		NaNO <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lysin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pertumbuhan	Vitamin-free	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	
	50% Glucose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	
	10% NaCl-5% Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	20°C	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Urease test	37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	50°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Urease test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Dugaan spesies		<i>D.v</i>	<i>D.v</i>	<i>S.f</i>	<i>D.v</i>	<i>D.v</i>	<i>P.b</i>	<i>P.b</i>	<i>P.b</i>	<i>P.b</i>	<i>S.f</i>	<i>P.b</i>	<i>P.b</i>	<i>S.f</i>	<i>P.b</i>		

Keterangan: + positif; - negatif; o oval; m.b multipolar budding; s smooth; f fringed; c convex; r rough; h hairy; y yellowish  
w white; us1 (3-8)x(3-18)µm; us2 (4-8)x(6-18)µm; us3 (2-8)x(6-8)µm  
*D.v* *Debaryomyces vanrijii*; *S.f* *Saccharomyces fibuligera*; *P.b* *Pichia burtonii*

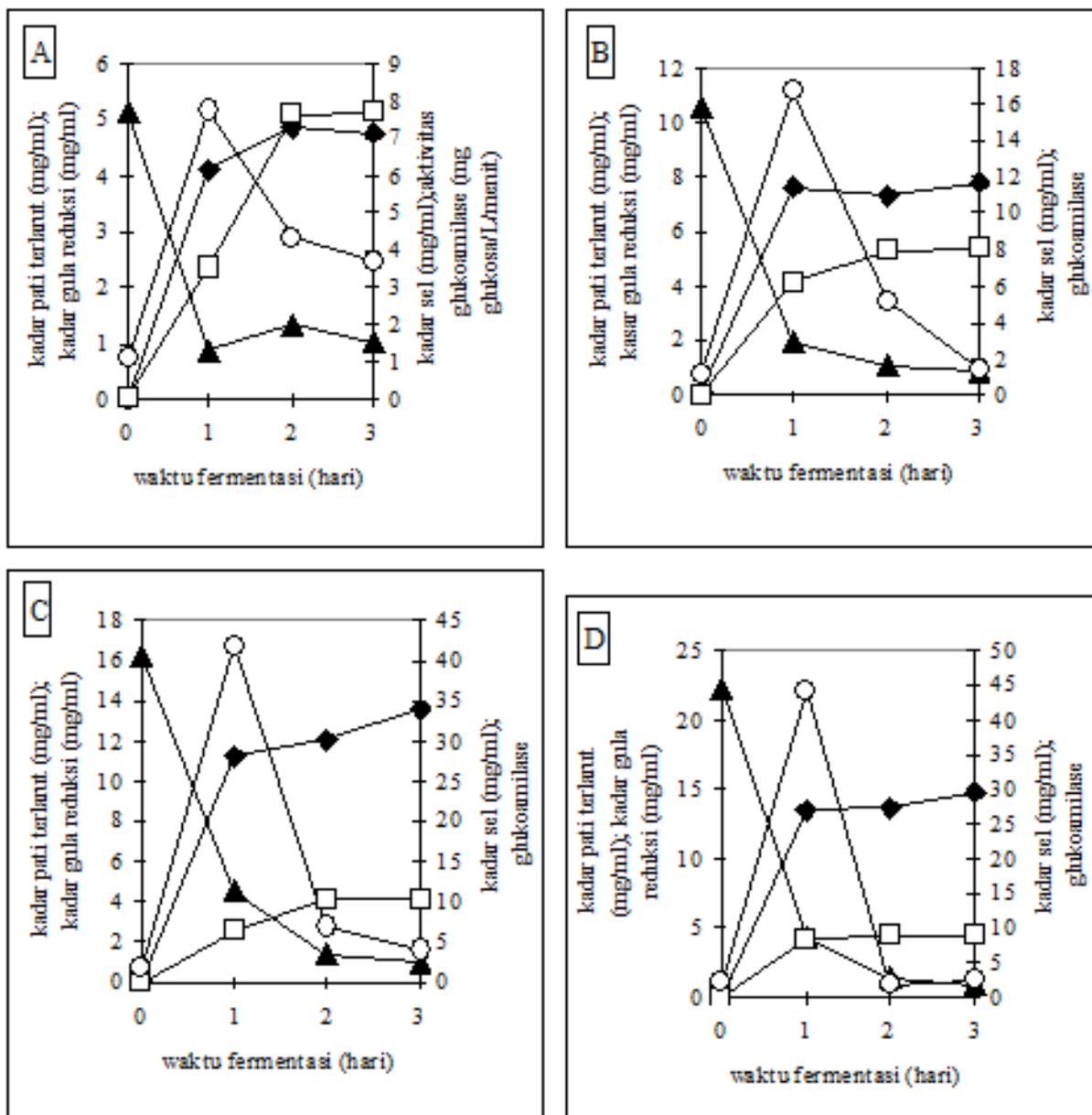
**Tabel 2.** Kode Isolat Yeast, Dugaan Spesies Dan Aktivitas Amilolitik

Sumber Ragi merk	Kode Isolat Yeast	Dugaan spesies	Aktivitas amilolitik (diameter zona jernih/diameter koloni)
NKL-1	E-1	<i>D. vanriji</i>	2.63
	E-2	<i>D. vanriji</i>	3.06
	E-3	<i>S. fibuligera</i>	3.80
NKL-2	E-4	<i>D. vanriji</i>	2.53
	E-5	<i>D. vanriji</i>	2.56
	E-6	<i>P. burtonii</i>	1.56
NKL-3	E-8	<i>P. burtonii</i>	2.83
	E-9	<i>P. burtonii</i>	2.90
	E-10	<i>P. burtonii</i>	2.67
66	E-12	<i>P. burtonii</i>	2.89
	E-13	<i>S. fibuligera</i>	2.50
Tanpa Merk	E-15	<i>P. burtonii</i>	3.18
	E-16	<i>P. burtonii</i>	2.72
	E-17	<i>S. fibuligera</i>	2.75
	E-18	<i>P. burtonii</i>	2.20

semua media kadar sel meningkat tajam (fase logaritmik) pada 0-1 hari, tapi memasuki fase stasioner pada 1-3 hari.

- b. Kadar pati terlarut.** Kadar pati terlarut pada semua media mengalami penurunan jumlahnya, karena dihidrolisis oleh enzim amilolitik yang dihasilkan oleh sel, sehingga terbentuk gula reduksi yang jumlahnya meningkat pada 0-1 hari. Pada 1-3 hari kadar gula reduksi tidak meningkat lagi, kemungkinan pati terlarut sudah habis dihidrolisis.
- c. Kadar gula reduksi.** Gula reduksi merupakan produk dari hidrolisis pati terlarut oleh enzim amilolitik sel. Kadar gula reduksi meningkat karena pati terhidrolisis enzimatis. Gula reduksi dapat digunakan oleh sel untuk metabolisme lebih lanjut.
- d. Aktivitas enzim glukoamilase.** Enzim amilolitik dari sel berupa enzim glukoamilase yang akan menghidrolisis pati dari ujung non reduksi, dengan hasil utama berupa molekul glukosa. Pada 0 hari, tidak terdapat aktivitas enzim, diperkirakan sel masih adaptasi. Tapi pada 1 hari, aktivitas enzimnya tinggi yaitu 44.13 mg glukosa/L/menit/1 ml larutan enzim yang digunakan untuk menghidrolisis pati. Selanjutnya pada 2-3 hari menurun aktivitasnya, diperkirakan substrat pati sudah habis, sehingga tidak

ada yang dihidrolisis. Enzim glukoamilase merupakan salah satu enzim amilolitik yang mungkin dihasilkan oleh isolat *S. fibuligera* E-3. Menurut Agusmanto dan Kusnandar (1995), akan terjadi proses sinergisme enzim amilolitik yang dapat terjadi dengan diawali oleh enzim glukoamilas menghidrolisis permukaan dari granula. Setelah itu bagian dalam akan dihidrolisis oleh enzim  $\alpha$ -amilase dengan dihasilkan senyawa oligosakarida dan dekstrin. Dua senyawa ini selanjutnya akan menjadi substrat glukoamilase. Sehingga kecepatan hidrolisis pati yang ditunjukkan oleh produk gula reduksi menjadi lebih tinggi. Menurut Whitaker (1994),  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -1,4 D-glucan glucanohydrolase) merupakan endoenzim yang beraksi memutus ikatan  $\alpha$ -1,4 secara acak di bagian dalam molekul baik amilosa dan amilopektin. Karena tidak mampu memotong ikatan  $\alpha$ -1,6, pati terhidrolisis menghasilkan dekstrin dengan panjang rantai 6-10 unit glukosa, jika waktu diperpanjang, dekstrin akan dipotong-potong lagi menjadi glukosa, maltosa dan ikatan lain yang lebih panjang.



**Gambar 1.** Hubungan kadar sel, kadar pati terlarut, kadar gula reduksi dan aktivitas enzim glucoamilase selama fermentasi 3 hari.

□: kadar sel (mg/ml); ◆: kadar gula reduksi (mg/ml)

▲: kadar pati terlarut (mg/ml);

○: aktivitas enzim glucoamilase

A : pati terlarut 0,5%; B: pati terlarut 1,0%

C: pati terlarut 1,5%; D: pati terlarut 2,0%

## KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa umumnya isolat yeast amilolitik yang terdapat pada ragi tape adalah *S. fibuligera* dan *P. burtonii*. Isolat E-3 (*S. fibuligera*) menunjukkan aktivitas amilolitik paling besar di antara isolat yeast amilolitik yang diperoleh. Sifat ini berhubungan dengan

peranan yeast ini dalam hidrolisis pati. Isolat yeast *S.fibuligera* E-3 dapat mempunyai potensi sebagai sumber enzim amilolitik alternatif yang berasal dari mikrobial. Untuk itu perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai kemungkinan produksinya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusmanto dan Koesnandar. 1995. Amilolisis pati segar (Amylolysis of raw starch). *Bul. Tek. dan Ind. Pangan*, 6 (2): 72-92.
- Dinu, L.D., S. Jurcoane, E. Vamanu, M. Burcea, and G.H. Campeanu. 2001. Studies for Enhancement of Alkaline Amylase Production to The Strain *Bacillus* sp ICCF 276. *Roum Biotechnol. Lett.* Vol. 6. No. 2:111-118.
- Gandjar, I. 2003. Tapai from Cassava and Cereals. Paper presented at the First International Symposium and Workshop on Insight to the World of Indigenous Fermented Foods for Technology Development and Food Safety, Kasetsart University, August 13-17, 2003.
- Kasmidjo, R.B. 1983. Mikrobiologi Ragi. PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Ko, S.D. 1972. Tape fermentation. *Applied Microbiol.*, 23:976-978.
- Ko, S. D. 1977. Indonesian Ragi. Symposium on Indigenous Fermented Foods. Bangkok, Thailand.
- Ko, S.D. 1986. Indonesian Fermented Foods not based on soybeans. In: Hesseltine & Wangs (ed). *Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin*. Mycologia Memoir no. 11. J. Cramer, Stuttgart.
- Kreger van Rij, N. J. W., 1984. *The Yeast: A Taxonomic Study*. 3<sup>rd</sup> Revised and Enlarged Edition. Elsevier Science Publisher B. V. Amsterdam.
- Masayuki, F., O. Takahira, and F. Hideo. 1993. Scale up of glucoamylase production by *Saccharomycopsis fibuligera*. *J. Ferm and Bioeng.* Vol. 76, No. 5: 419-422.
- Saono, S., I. Gandjar, T. Basuki, and H. Karsono. 1974. Mycroflora of ragi and some other traditional fermented foods from Indonesia. *Annales Bogoriensis V*: 187-204.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. *Prosedur analisis untuk bahan makanan dan pertanian*, Liberty, Yogyakarta.
- Suhardi. 1992. *Pengolahan dan analisa karbohidrat*. PAU-Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta.
- Tani, Y., V. Vongsuvanlert, and J. Kumnuanta. 1986. Raw cassava starch-digestive glucoamylase of *Aspergillus* sp N-2 isolated from cassava chips. *J. Ferm. Technol.*, 64:57-65.
- Steinkraus, K.H. (editor). 1996. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Uchimura, T., E.S. Rahayu, and K. Komagata. 1998. Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from a Chinese Starter, ragi, in Indonesia. In *Proceeding of International Conference on Asian Network on Microbial Researches*. 23<sup>th</sup>-25<sup>th</sup> February, Yogyakarta.
- Whitaker, J. R. 1994. *Priciples of enzymology for the food science*. Marcell Dekker, Inc. New York.