

ABSTRAK

Judul : **“Optimasi dan Identifikasi Yeast Isolat BL-20 dan PT-20
Sebagai Kandidat Penghasil Enzim Protease”**
Nama : **Bella Octavia**
Program Studi : **Bioteknologi**

Ragi alami didapatkan dari hasil fermentasi buah dan sayur tanpa bahan tambahan buatan. Mikroorganisme dari bahan-bahan alami yang digunakan akan memproduksi glukos dan karbondioksida, aroma alkohol, dan asam-asam organik. Protease termasuk enzim komersil yang banyak digunakan untuk diversifikasi produk pangan. Penelitian ini dilatar belakangi dengan yeast galur BL-20 dan PT 20 yang merupakan yeast yang diisolasi dari ragi alami dari proses fermentasi kismis yang dilakukan sebelumnya. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan isolat yeast potensial dari galur BL-20 dan PT-20 sebagai kandidat penghasil enzim protease. Tahapan- tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu kultur isolat BL-20 dan PT-20, Isolasi DNA isolat BL-20 dan PT-20, Uji kualitatif aktivitas enzim protease, desain primer spesifik gen protease, deteksi gen protease dengan primer spesifik, Identifikasi molekuler menggunakan primer ITS-1 dan ITS-4 dan analisis sekuensing, Hasil Uji kualitatif dengan menggunakan media skim milk menunjukkan zona hambat terbentuk pada isolat BL20. Dari kedua isolat yeast yang digunakan isolat BL-20 terdeteksi memiliki gen protease yang secara molekuler menunjukkan pita DNA teramplifikasi pada ukuran ± 1200 bp dengan menggunakan primer Pu dan Pd, sedangkan menggunakan primer Pro-F dan Pro-R menghasilkan pita DNA pada ukuran ± 1000 bp. Analisis sekuensing isolat yeast BL-20 teridentifikasi sebagai *Candida parapsilosis* namun, secara filogenetik berkerabat dekat dengan *Pichia kudriavzevii*. Sedangkan yeast isolat PT-20 memiliki kekerabatan terdekat dengan *Candida orthopsilosis* dengan homologi 95.91%.

Kata Kunci : Ragi alami, Yeast, Enzim Protease, Primer ITS

ABSTRACT

Title : ***“Optimization and Identification of Yeast Isolates BL-20 and PT-20 As Protease Enzyme Producing Candidates”***

Name : **Bella Octavia**

Study Program : **Biotechnology**

Natural yeast is obtained from fermented fruits and vegetables without artificial additives. Microorganisms from natural ingredients used will produce glucose and carbon dioxide, the aroma of alcohol, and organic acids. Proteases are commercial enzymes that are widely used for the diversification of food products. This research was motivated by yeast strains BL-20 and PT 20 which are yeasts isolated from natural yeast from the raisin fermentation process carried out previously. The purpose of this study was to obtain potential yeast isolates from the BL-20 and PT-20 strains as candidates for protease enzymes. The stages carried out in this study were the culture of BL-20 and PT-20 isolates, DNA isolation of BL-20 and PT-20 isolates, Qualitative test of protease enzyme activity, design of specific primers for protease genes, detection of protease genes with specific primers, Identification molecular using ITS-1 and ITS-4 primers and sequencing analysis. The results of the qualitative test using skim milk media showed an inhibition zone was formed in the BL20 isolate. From the two yeast isolates used, the BL-20 isolate was detected to have a protease gene that molecularly showed amplified DNA bands at a size of ± 1200 bp using Pu and Pd primers, while using Pro-F and Pro-R primers produced DNA bands at ± 1000 bp. Sequencing analysis of yeast isolate BL-20 was identified as *Candida parapsilosis* but, phylogenetically closely related to *Pichia kudriavzevii*. Meanwhile, yeast isolate PT-20 had the closest relationship with *Candida orthopsilosis* with 95.91% homology.

Keywords: *Natural Yeast, Yeast, Protease Enzyme, ITS Primer.*