



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN XILITOL DARI LIMBAH BATANG DAN MALAI
SORGUM MANIS (*Sorghum Bicolor L.*) CTY-33 DENGAN *CANDIDA
FUKUYAMAENSIS* UICC Y-247**

Sri Rahayu Ningsih

NPM: 0806 421 930

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA
KEKHUSUSAN KIMIA HAYATI
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN XILITOL DARI LIMBAH BATANG DAN
MALAI SORGUM MANIS (*Sorghum Bicolor L.*) CTY-33
DENGAN *CANDIDA FUKUYAMAENSIS* UICC Y-247**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh magister sains

Sri Rahayu Ningsih

NPM: 0806 421 930

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA
KEKHUSUSAN KIMIA HAYATI
DEPOK
JULI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Sri Rahayu Ningsih

NPM : 0806 421 930

Tanda Tangan :

Tanggal : 16 Juli 2010

LEMBAR PENGESAHAN

Tesis ini telah disetujui oleh

Dr.Endang Saepudin

Pembimbing

Dr.Budiawan

Ketua Penguji

Dr.Herry Cahyana

Sekretaris Penguji

Dr.Ridla Bakri, M. Phil

Anggota Penguji

Dr.Yoki Yulizar

Anggota Penguji

Program Studi Magister Ilmu Kimia

Program Pascasarjana FMIPA-UI

Ketua

Dr.Endang Saepudin

NIP.195712251986021002

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Sri Rahayu Ningsih
NPM : 0806 421 930
Program Studi : Ilmu Kimia
Judul Tesis : PEMBUATAN XILITOL DARI LIMBAH
BATANG DAN MALAI SORGUM MANIS
(*Sorghum Bicolor L.*) CTY-33 DENGAN
CANDIDA FUKUYAMAENSIS UICC Y-247

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr.Endang Saepudin ()
Penguji : Dr.Budiawan ()
Penguji : Dr.Herry Cahyana ()
Penguji : Dr.Ridla Bakri, M. Phil ()
Penguji : Dr.Yoki Yulizar ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 16 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan karunia-Nya, sehingga tesis ini dapat penulis selesaikan. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains Jurusan Ilmu Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Dalam proses penelitian dan penyusunan tesis ini, penulis banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

- (1) Dr.Endang Saepudin selaku dosen pembimbing tesis dan pembimbing akademis yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan, membimbing penulis dalam penelitian dan penyelesaian tesis ini;
- (2) Direktur SEAMEO BIOTROP dan Dr. Supriyanto yang telah memberi ijin untuk pengambilan sampel penelitian dan memberikan arahnya;
- (3) Prof.Dr.Soeranto peneliti Sorgum BATAN yang telah memberikan pengarahan;
- (4) Para Dosen Departemen Kimia yang memberi masukan dan pengarahan dalam rangka penyempurnaan tesis ini;
- (5) Kepala Dinas Pendidikan DKI Jakarta dan staf yang telah memberikan dukungan perijinan dan dana dalam masa perkuliahan dan penelitian;
- (6) Hery Sucipto, Sukma Sri Sucipto, Jiwo Sri Sucipto, suami dan anak-anak tercinta yang telah memberikan kesempatan, dukungan materiil dan spirituil dalam masa perkuliahan dan penyelesaian tesis ini;
- (7) Teman-teman seperjuangan, para mahasiswa S2 angkatan 2008, terutama bu Wuryaningrum dan Pak Harmanta yang telah memberikan dukungannya;
- (8) Para admin HPLC, Pak Rasyid, Pak Puji, Pak Arya dan teman-temannya, yang telah memberikan dukungannya;
- (9) Ibu Ema, ibu Tri di Lab Biokimia, Departemen Kimia-UI, yang telah memberikan dukungannya;

- (10) Para karyawan Departemen Kimia, Bapak Hadi dan teman-teman, serta Bapak Amin, laboran lab organik di lantai 4 Departemen Kimia-UI, yang telah memberikan bantuannya;
- (11) Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tesis ini.

Akhir kata, saya berharap semoga Allah SWT berkenan membalas segala amal kebaikan semua pihak yang telah membantu, membimbing, dan memberikan dukungannya. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu kimia.

Depok, Juli 2010

Penulis



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sri Rahayu Ningsih
NPM : 0806 421 930
Program Studi : Ilmu Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul : Pembuatan Xilitol Dari Limbah Batang Dan Malai Sorgum Manis (*Sorghum Bicolor L.*) CTY-33 Dengan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 16 Juli 2010
Yang menyatakan

(Sri Rahayu Ningsih)

ABSTRAK

Nama : Sri Rahayu Ningsih
Program Studi : Ilmu Kimia
Judul : Pembuatan Xilitol Dari Limbah Batang Dan Malai Sorgum Manis (*Sorghum bicolor L.*) CTY-33 Dengan *Candida Fukuyamaensis* UICC Y-247.

Penelitian ini dilakukan untuk membuat xilitol dari limbah batang/malai sorgum manis CTY-33. Xilitol dibuat melalui proses fermentasi xilosa menggunakan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 penghasil enzim xilosa reduktase yang mereduksi xilosa menjadi xilitol. Xilosa didapat dari hidrolisis hemiselulosa dalam limbah batang/malai sorgum manis CTY-33 yang telah dilakukan delignifikasi. Hasil xilosa tertinggi dengan 30 ml larutan H_2SO_4 0,3M dicapai pada waktu hidrolisis 35 menit yaitu 22,71% dalam hidrolisat malai sorgum manis CTY-33, dan 15,30% dalam hidrolisat batang sorgum manis CTY-33. Yield xilitol tertinggi dicapai pada fermentasi jam ke-12 yaitu 191,07 ppm dari malai, dan yield xilitol dari batang 31,48 ppm. Penambahan kosubstrat glukosa menaikkan kadar xilitol, hasil tertinggi dicapai pada jam ke-12. Penambahan kosubstrat glukosa 300 ppm pada malai menghasilkan xilitol sebesar 291,17 ppm (konversi xilosa menjadi xilitol 38,86 %). dan penambahan kosubstrat glukosa 150 ppm pada batang sebesar 173,44 ppm (konversi xilosa menjadi xilitol 26,20 %).

Kata Kunci: xilitol, sorgum manis CTY-33, *sweet sorghum* CTY-33, *sorghum bicolor L.*, khamir, *candida fukuyamaensis*, hemiselulosa, xilosa, delignifikasi, hidrolisis, fermentasi, HPLC.

Xvi + 46 halaman; 25 gambar; 7 tabel; 13 lampiran

Bibliografi: (1982- 2010)

ABSTRACT

Producing xylitol from the straw / panicle of sweet sorghum CTY -33 wastes was done. The xylitol produced through the fermentation process of xylose using *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 which reduced xylose to xylitol using xylose reductase enzyme. The hemicellulose in the straw/panicle sweet sorghum CTY-33 wastes was hydrolyzed by 30 mL sulfuric acid 0,3 M after delignification. The highest xylose in the hydrolyzate of panicle during 35 minutes was 22.71 % and from straw was 15.30 %. The highest xylitol yield reached in 12-hours fermentation, panicle xylitol yield was 191.07 ppm and straw xylitol yield was 31.48 ppm. When glucose added as co-substrat, the xylitol yield increased. The panicle xylitol yield became 291.170 ppm (the xylose conversion to xylitol was 38,86 %) when it added glucose 300 ppm, and the straw xylitol yield became 173.44 ppm (the xylose conversion to xylitol was 26,20 %) when it added glucose 150 ppm.

Keywords: xylitol, sweet sorghum CTY-33, sorghum bicolor L, yeast, *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247, hemicelluloses, xylose, delignification, hydrolysis, fermentation, HPLC.

Xvi + 46 pages; 25 pictures; 7 tables; 13 attachments

Bibliografi: (1982 - 2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1.Sorghum Manis (Sorghum Bicolor L) CTY – 33.....	4
2.2.Lignoselulosa.....	5
2.2.1 Selulosa.....	6
2.2.2 Hemiselulosa.....	6
2.2.3 Lignin.....	7
2.3. Xilosa.....	8
2.4. Xilitol.....	8
2.5. Hidrolisis Hemiselulosa.....	10
2.6. Fermentasi.....	12
2.6.1 Khamir.....	12
2.6.2 Candida Fukuyamaensis UICC Y-247.....	13
2.6.3 Metabolisme Pembentukan Xilitol oleh khamir.....	14
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan Kimia	
3.1.1 Alat-alat Yang Digunakan.....	17
3.1.2 Bahan-bahan Kimia Yang Digunakan.....	17
3.1.3 Mikroorganisme Yang Digunakan.....	18
3.2 Prosedur Kerja	
3.2.1 Pembuatan Sampel Batang /Malai Sorghum Manis CTY-33.....	18
3.2.2 Pembuatan Larutan Standar.....	18
3.2.2.1 Larutan Standar Xilosa.....	18
3.2.2.2 Larutan Standar Xilitol.....	19
3.2.2.3 Larutan Standar Glukosa.....	19

3.2.2.4 Larutan Standar Arabinosa.....	19
3.2.3 Delignifikasi sampel.....	19
3.2.4 Pembuatan Hidrolisat.....	20
3.2.5 Penambahan arang aktif.....	20
3.2.6 Fermentasi.....	20
3.2.6.1 Sterilisasi Alat.....	20
3.2.6.2 Penyiapan Inokulum.....	21
3.2.6.3 Penghitungan Jumlah Sel Khamir.....	22
3.2.6.4 Fermentasi Sampel.....	22
3.2.7 Analisis Produk Dengan HPLC.....	23
3.3 Variasi Kondisi.....	24
3.4 Diagram Kerja	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Sampling Limbah Batang/Malai Sorgum CTY-33.....	26
4.2 Hidrolisis Batang dan Malai Sorgum CTY-33.....	26
4.3 Identifikasi Standar Karbohidrat	28
4.4 Hasil Hidrolisis Batang dan Malai Sorgum Manis CTY – 33.....	30
4.5 Penambahan Arang Aktif	32
4.6 Fermentasi Dengan Khamir Candida Fukuya Maensis UICC Y- 47.....	32
4.7 Hasil Fermentasi.....	33
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	42
5.2 Saran.....	43
DAFTAR REFERENSI	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Tanaman Sorgum	4
Gambar 2.2.	Model Lignoselulosa pada dinding sel tanaman	5
Gambar 2.3.	Struktur Selulosa	6
Gambar 2.4.	Struktur Arabinoglukuronoxilan	7
Gambar 2.5.	Struktur Lignin	7
Gambar 2.6.	Struktur Xilosa	8
Gambar 2.7	Struktur Xilitol	8
Gambar 2.8.	Struktur Furfural dan HMF	10
Gambar 2.9.	Mekanisme Hidrolisis asam Pada Ikatan Glikosida	11
Gambar 2.10	Sel Khamir	12
Gambar 2.11 .	Jalur Metabolisme D-Xilosa Pada Khamir	15
Gambar 3.1.	Diagram Kerja	25
Gambar 4.1.	Autoklaf dan hidrolisat pada penelitian	27
Gambar 4.2.	Kromatogram Standar Xilosa 1000 ppm	28
Gambar 4.3.	Kromatogram Standar Xilitol 1000 ppm	29
Gambar 4.4.	Kurva Standar Xilosa	29
Gambar 4.5	. Kurva Optimasi Hidrolisis Malai Sorgum Manis CTY-33 ...	31
Gambar 4.6.	Kurva Optimasi Hidrolisis Batang Sorgum Manis CTY-33 ...	31
Gambar 4.7	Kromatogram fermentasi xilosa murni pada jam ke-6	34
Gambar 4.8	Kromatogram fermentasi substrat malai pada jam ke-12	36

Gambar 4.9	Kromatogram fermentasi malai + glukosa 150 ppm	37
Gambar 4.10	Kromatogram fermentasi malai + glukosa 300 ppm	38
Gambar 4.11	Kromatogram fermentasi batang	39
Gambar 4.12	Kromatogram fermentasi batang + glukosa 150 ppm	40
Gambar 4.13	Kromatogram fermentasi batang + glukosa 300 ppm	41



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Data Kadar Xilosa Hasil Hidrolisis Malai dan Sorgum Manis CTY-33	30
Tabel 4.2.	Data Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33	36
Tabel 4.3.	Data Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33 + Glukosa 150 ppm.....	37
Tabel 4.4.	Data Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33 + Glukosa 300 ppm.....	38
Tabel 4.5.	Data Fermentasi Batang Sorgum Manis CTY-33	39
Tabel 4.6.	Data Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33 + Glukosa 150 ppm.....	40
Tabel 4.7.	Data Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33 + Glukosa 300 ppm.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Kromatogram Larutan Standar Xilosa
- Lampiran 2. Kromatogram Larutan Standar Xilitol
- Lampiran 3. Kromatogram Hidrolisat Sampel Malai Sorgum Manis CTY-33
dengan Variasi Waktu Hidrolisis
- Lampiran 4. Kromatogram Hidrolisat Sampel Batang Sorgum Manis CTY-33
dengan Variasi Waktu Hidrolisis
- Lampiran 5. Hasil Optimasi Waktu Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33
- Lampiran 6. Hasil Optimasi Waktu Fermentasi Batang Sorgum Manis CTY-33
- Lampiran 7. Hasil Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33
- Lampiran 8. Hasil Fermentasi Batang Sorgum Manis CTY-33
- Lampiran 9. Fermentasi Xilosa Blanko
- Lampiran 10. Persentase Konversi Xilosa Dalam Malai menjadi Xilitol
- Lampiran 11. Persentase Konversi Xilosa Dalam Batang menjadi Xilitol
- Lampiran 12. Standar Xilitol dan Hasil Fermentasi Xilosa Blanko
- Lampiran 13. Contoh perhitungan konversi xilosa menjadi xilitol

BAB 1

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Masalah

Sorgum sedang dikembangkan sebagai tanaman pangan di Indonesia, dengan harapan sorgum dapat digunakan sebagai bahan pembuatan berbagai makanan seperti kue-kue, biskuit, roti, mie dan sebagainya, yang selama ini menggunakan bahan baku gandum. Sehingga Indonesia dapat mengurangi *import* gandum dari luar negeri.

Dari *press release* Pusat Pemasarakatan IPTEK Nuklir Dan Kerjasama - BATAN disebutkan bahwa Sorgum merupakan tanaman potensial untuk dibudidayakan dan dikembangkan di Indonesia, khususnya pada daerah kering. Keunggulan sorgum terletak pada sifat ketahanan terhadap kekeringan, produksi tinggi, biaya produksi relatif murah serta lebih tahan terhadap serangan hama dan penyakit tanaman dibanding tanaman pangan lain. Sorgum banyak dibudidayakan di Jawa, NTB, dan NTT, namun produksi sorgum di Indonesia masih sangat rendah, bahkan secara umum produk sorgum belum tersedia di pasar lokal. Di banyak negara, sorgum digunakan sebagai bahan pangan, pakan ternak, dan bahan baku industri. Sebagai bahan pangan dunia, sorgum berada pada urutan kelima setelah gandum, padi, jagung, dan barley (ICRISAT/FAO, 1996). Biji sorgum dapat disosoh menjadi beras sorgum yang kemudian dimasak menjadi nasi atau bubur sorgum. (BATAN, 2)

BATAN bekerjasama dengan SEAMEO BIOTROP yang mempunyai misi untuk dapat mengembangkan segala sesuatu yang terkait dengan biologi tropical di kawasan Regional Asia Tenggara melakukan penelitian Uji Adaptasi Galur-galur sorgum dilahan penelitian SEAMEO BIOTROP di Tajur-Bogor, Jawa Barat. Sorgum yang diadaptasi oleh SAEMEIO BIOTROP dan BATAN adalah *Sorghum bicolor L.* Salah satu hasil uji adaptasi galur-galur sorgum oleh BATAN dan SEAMEO BIOTROP adalah sorgum manis/*sweet sorghum (sorghum bicolor L)* dengan kode CTY-33. SEAMEO BIOTROP telah melakukan penanaman *sweet*

sorghum CTY-33 dilahan penelitiannya pada 24 maret 2009, dan telah memanen tanaman tersebut setiap tiga bulan. Sorgum manis (*sorghum bicolor* L) CTY-33 telah berhasil dibudidayakan oleh BIOTROP, dan telah digunakan sebagai bahan baku pembuatan *biofuel/ biodiesel*.

A.M Barrera dkk. pada tahun 2003 melakukan penelitian pembuatan xilitol dari hidrolisis batang sorgum dengan asam sulfat, detoksifikasi, kemudian fermentasi menggunakan *Debaryomyces hansenii var hansenii* NRRL Y-7426. Xilitol yang dihasilkan pada penelitian tersebut adalah 0,18 g/g. Dan pada tahun 2005 Ramirez dkk. melakukan penelitian pembuatan xilitol dari detoksifikasi hidrolisat batang sorgum menggunakan *Candida parapsilosis*, xilitol yang dihasilkan adalah 0,27 g/g.

Xilitol dapat digunakan sebagai pemanis alternatif untuk penderita diabetes dan dapat digunakan sebagai bahan pasta gigi atau permen untuk mencegah gigi berlubang. Penggunaan xilitol dalam pasta gigi atau permen akan memicu produksi air liur yang mengandung banyak mineral penting bagi email gigi, hal ini sangat menguntungkan bagi kesehatan gigi karena akan memperbaiki lapisan gigi bagian luar.

Limbah sorgum manis (*sorghum bicolor* L) CTY-33 dari pembuatan *biofuel* dapat mengganggu estetika lingkungan, padahal limbah tersebut masih dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan xilitol, maka penelitian ini dilakukan.

1. Perumusan Masalah

- Limbah sorgum manis CTY- 33 dapat dimanfaatkan untuk pakan ternak sapi, tetapi pemanfaatannya hanya dalam jumlah sedikit , sehingga sisanya mengganggu estetika lingkungan.
- Untuk mengatasi masalah lingkungan tersebut, limbah sorgum manis CTY-33 sebaiknya dimanfaatkan, misalnya untuk pembuatan xilitol.
- Xilitol diperoleh melalui fermentasi xilosa dalam limbah batang/malai sorgum manis CTY-33 menggunakan *Candida fukuyamaensis* penghasil

enzim xilosa reduktase. Xilosa diperoleh dengan menghidrolisis lignoselulosa limbah batang dan malai sorgum manis CTY-33 dengan katalis asam sulfat, yang sudah dihilangkan lilinnya dan sudah dilakukan delignifikasi.

2. Tujuan Penelitian

Memanfaatkan limbah batang dan malai sorgum manis (*sorghum bicolor* L) CTY-33 untuk menghasilkan xilitol.

3. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat melengkapi data penelitian karbohidrat, khususnya data penelitian sorgum sebagai bahan pembuatan xilitol.

4. Hipotesis Penelitian

- Xilosa hasil hidrolisis limbah batang dan malai sorgum manis bicolor CTY-33 dapat difermentasi oleh candida fukuyamaensis menghasilkan xilitol.
- Penambahan kosubstrat glukosa 150 ppm dan 300 ppm dalam fermentasi sampel dapat meningkatkan produk xilitol.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sorgum Manis (*Sorghum Bicolor L*) CTY-33

Sorgum merupakan tanaman sereal yang berpotensi sebagai pengganti tepung pangan di Indonesia, mengingat sorgum mudah ditanam karena termasuk jenis tanaman yang tahan terhadap kekeringan, tahan terhadap serangan hama dan penyakit tanaman.

Para petani di Indonesia, khususnya di Jawa telah lama mengenal sorgum, yang dikenal dengan nama Cantel. Sorgum sering ditanam di tegalan atau di sela-sela tanaman padi di lahan persawahan, walaupun tanaman sorgum berasal dari Afrika.

Tanaman sorgum mempunyai akar serabut, memiliki batang tunggal yang terdiri dari ruas-ruas. Rangkaian bunga sorgum disebut malai, yang nantinya akan menjadi bulir-bulir sorgum.



Gambar 2.1 Tanaman Sorgum

Tanaman sorgum merupakan tanaman gramineae yang memiliki taksonomi sebagai berikut:

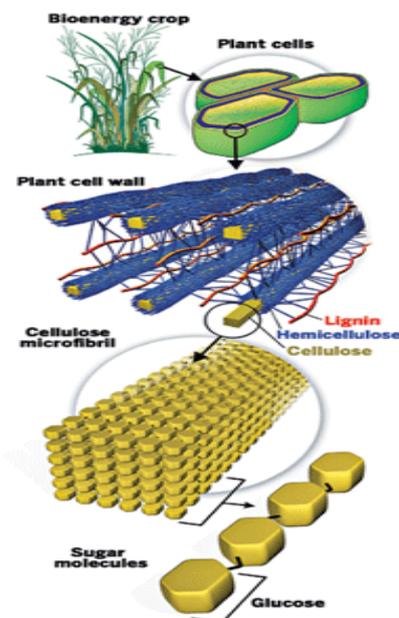
Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivision : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta

Class : Liliopsida
 Subclass : Commelinidae
 Order : Cyperales
 Family : Poaceae (Grass)
 Genus : Sorghum
 Spesies : *Sorghum bicolor*

BATAN bekerjasama dengan SEAMEO Biotrop melakukan uji adaptasi galur-galur sorgum. Salah satu galur yang diuji adalah sorgum CTY-33 yang merupakan ras durra. Sorgum CTY-33 disebut sorgum manis (*sorghum bicolor L*) CTY-33 yang dimanfaatkan untuk bahan pembuatan bioetanol. Selain sebagai bahan pembuatan bioetanol, sorgum manis (*sorghum bicolor L*) CTY-33 juga dimanfaatkan untuk bahan pangan dan pakan ternak.

2.2 Lignoselulosa

Dinding sel tanaman merupakan struktur kompleks dari lignoselulosa. Komponen kimia penyusun lignoselulosa antara lain adalah selulosa (38-50%), lignin (15-30%), dan hemiselulosa (17-32%). (Ritter, 2008:15)



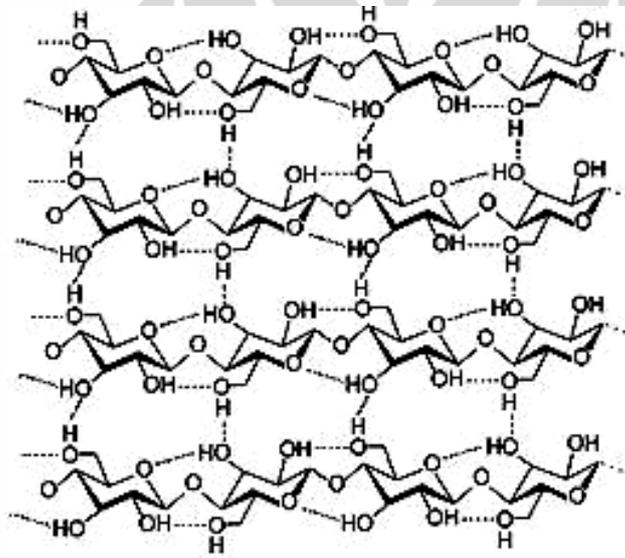
Gambar 2.2 : Model Lignoselulose pada dinding sel tanaman

Sumber : Ritter, 2008

2.2.1 Selulosa

Selulosa merupakan komponen terbesar di dalam dinding sel tanaman, yaitu antara 38-50%. Selulosa adalah suatu polisakarida yang terdiri dari ratusan sampai lebih dari 10.000 unit D-glukosa yang berikatan β -1,4-glikosida. (Ritter, 2008:15).

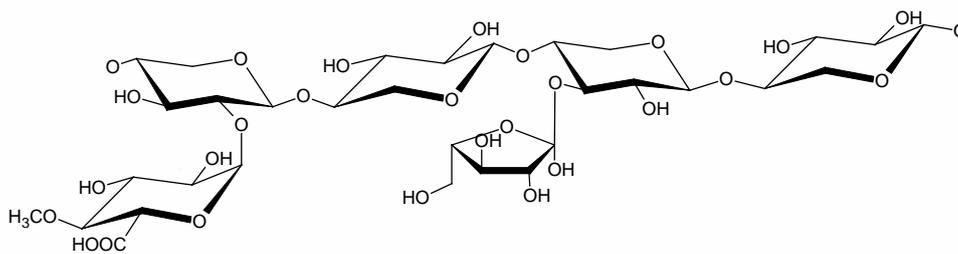
Selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun lurus dan tidak bercabang (linier). Selulosa memiliki kecenderungan membentuk ikatan hidrogen intramolekular dan intermolekular yang menyebabkan polimer ini menjadi lebih kuat dan tahan terhadap hidrolisis.



Gambar 2.3: Struktur Selulosa

2.2.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan suatu polisakarida yang mempunyai derajat polimerisasi antara 50-300. Rantai utama polimer hemiselulosa dapat berupa galaktoglukomannan terdiri dari monomer D-galaktosa, D-glukosa, dan D-mannosa; serta dapat berupa arabinoglukuronoxilan yang mempunyai monomer β (1 \rightarrow 4) xilopiranosida yang mempunyai cabang α (1 \rightarrow 2) asam D-glukopiranosiluronat disetiap dua sampai sepuluh unit xilosa, dan mempunyai cabang α (1 \rightarrow 3) L-arabinofuranosida disetiap tiga unit xilosa. (Roger M.Rowell et al., 2005:43).



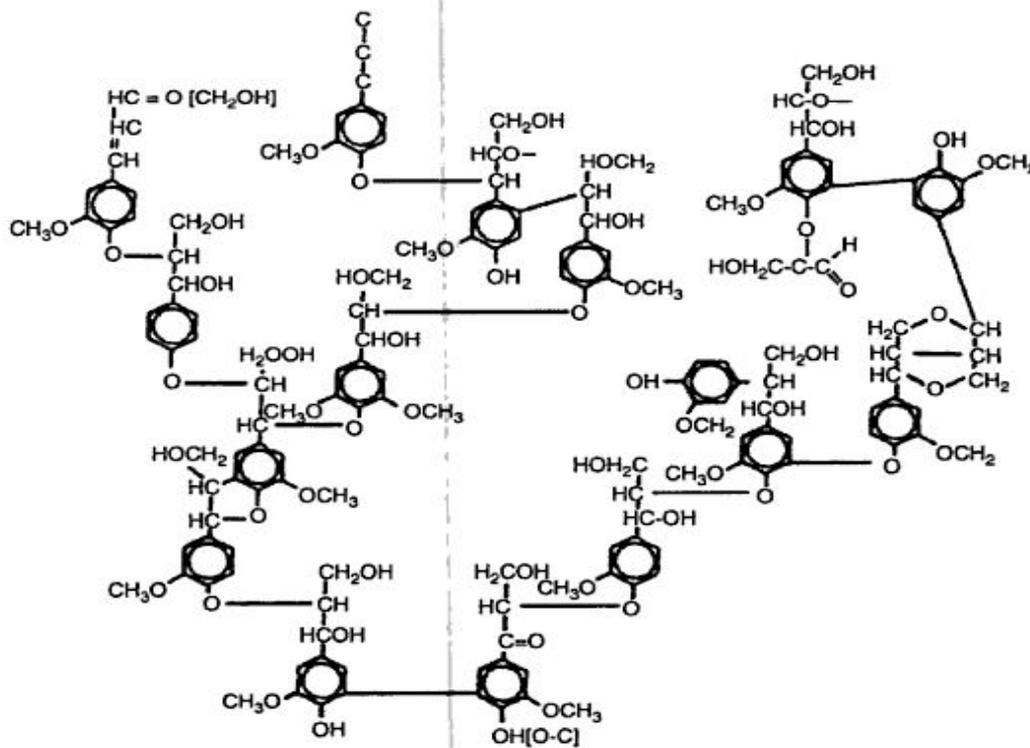
Gambar 2.4: Struktur Arabinoglucuronoxilan

2.2.3 Lignin

Lignin, selulosa, dan hemiselulosa terdapat di dalam dinding sel tanaman. Lignin struktur kimianya bercabang-cabang dan polimernya mempunyai bentuk tiga dimensi. Lignin bersama-sama dengan hemiselulosa membentuk matriks yang mengikat serat-serat halus selulosa.

Lignin adalah polimer dari monomer fenil propana yang digabungkan oleh ikatan eter (C-O-C) dan ikatan karbon – karbon (C-C).

Ikatan yang terjadi antara monomer fenil propana ditunjukkan dalam gambar 2.5 berikut:



Gambar 2.5: Struktur Lignin (Sumber: Roger M.Rowell,2005)

2.3 Xilosa

Xilosa merupakan aldopentosa, suatu monosakarida dengan lima atom karbon yang mempunyai gugus aldehid. Xilosa dapat dihasilkan dari hidrolisis hemiselulosa.

Sifat Fisika dan Sifat Kimia Xilosa:

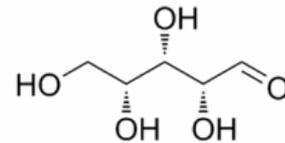
Nama kimia : Xilosa

Rumus kimia : $C_5H_{10}O_5$

Berat molekul : 150,13 g/mol

Densitas : 1,525 g/cm³

Titik leleh : 144-145 °C



Gambar 2.6: Struktur Xilosa

Xilosa dapat direduksi menjadi xilitol dengan cara fermentasi menggunakan *Candida fukuyamaensis*.

2.4 Xilitol

Xilitol merupakan gula alkohol dengan lima atom karbon (1,2,3,4,5 – pentahidroksipentana). Xilitol dapat digunakan sebagai pemanis. Xilitol mempunyai tingkat kemanisan 1,2 kali dari sukrosa, dan lebih manis dibanding sorbitol atau manitol.

Sifat Fisika Dan Kimia Xilitol:

Nama kimia : Xilitol

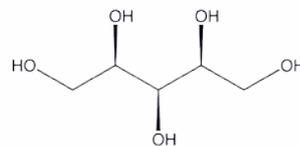
Rumus kimia : $C_5H_{12}O_5$

Berat molekul : 152,15 g/mol

Titik leleh : 92- 96 °C

Titik didih : 216°C

Densitas : 1,52 g/cm³



Gambar 2.7: Struktur Xilitol

Xilitol aman bagi kesehatan gigi karena sifatnya yang tidak merusak gigi (*non cariogenik*). juga membantu menurunkan pembentukan *carries* dan *plaque* pada gigi sehingga banyak digunakan untuk campuran pasta gigi. selain itu, xilitol menguntungkan bagi penderita diabetes, mempunyai efek sensasi dingin yang menyenangkan, tahan panas dan tidak mengalami karamelisasi. (F.G Winarno,2008:246)

Penggunaan xilitol sebagai pemanis makanan sudah sejak tahun 1960-an. Pada tahun 1963 *U.S Food and Drug Administration (FDA)* menyetujui penggunaan xilitol sebagai tambahan dalam makanan. Pada tahun 1970-an xilitol dimanfaatkan untuk perawatan gigi.

Xilitol tidak dapat difermentasikan oleh bakteri *streptococcus mutans*, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. *Streptococcus mutans* adalah bakteri yang dianggap paling bertanggung jawab terhadap kerusakan gigi. Pada Maret 2006, artikel dalam jurnal *American Dental association* telah menjadikan xilitol sebagai salah satu zat untuk mencegah gigi berlubang. Dan Asosiasi dokter gigi di beberapa negara Eropa: Finlandia, Swedia, Norwegia, Iceland, Estonia, Belanda, Inggris dan Irlandia merekomendasikan xilitol sebagai zat anti gigi berlubang.

Pembuatan xilitol dari xilosa dapat dilakukan dengan cara kimiawi dan bioteknologi. Proses secara kimiawi dilakukan dengan mereduksi D-xilosa menggunakan gas hidrogen dengan katalis logam pada tekanan tinggi. Proses kimia ini tidak ramah lingkungan karena menghasilkan limbah logam, dan biayanya tinggi karena prosesnya menggunakan tekanan tinggi. Proses secara bioteknologi memanfaatkan mikroorganisme yakni khamir untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol dengan bantuan enzim *xylose reductase*. Proses secara bioteknologi ini memiliki beberapa keuntungan yaitu reaksi reduksinya selektif terhadap xilosa. Reaksinya berlangsung pada suhu dan tekanan yang rendah, biayanya murah karena berasal dari sel khamir.(Granstrom, 2007:277-281).

2.5 Hidrolisis Hemiselulosa

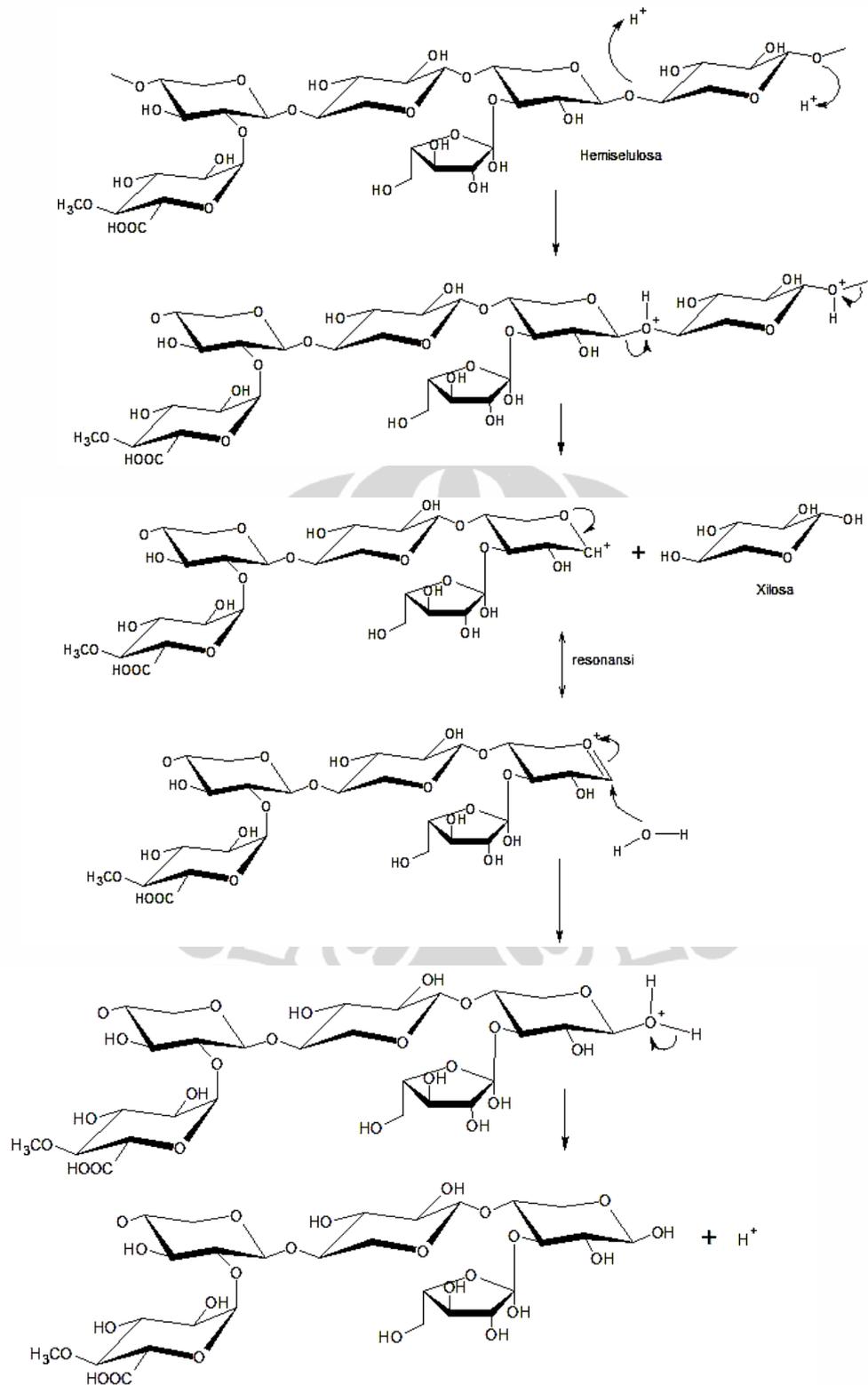
Hidrolisis merupakan suatu proses kimia yang menggunakan H_2O untuk pemecahan/degradasi molekul besar menjadi bagian yang lebih kecil. Untuk mendegradasi molekul besar tersebut dapat digunakan katalis asam atau enzim. Hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis oleh asam melalui pemutusan ikatan-ikatan glikosida menjadi komponen-komponen monomernya.

Hidrolisis dalam suasana asam menghasilkan pemecahan ikatan glikosida yang terdiri atas tiga tahap. Pada tahap pertama, proton (sebagai katalis asam) berinteraksi dengan oksigen pada ikatan eter heterosiklik antara monomer-monomer gula dan membentuk asam konjugat. Langkah ini diikuti oleh pemecahan secara lambat ikatan C-O-C (glikosida) menghasilkan intermediet kation karbonium siklik. Setelah mengalami adisi yang cepat, maka terbentuklah gula bebas. Selain itu dapat dihasilkan oligomer, furfural, dan asam asetat. Furfural yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroorganisme harus dihilangkan dari hidrolisat, misalnya dengan penambahan arang aktif. Sedangkan asam yang tersisa harus dinetralkan karena dapat menghambat reaksi fermentasi.

Monosakarida-monosakarida yang terbentuk selama proses hidrolisis oleh asam meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asam dan waktu hidrolisis. Tetapi, pentosa dan heksosa juga cenderung mengalami degradasi menjadi furfural dan 5-hidroksimetil furfural (HMF) jika konsentrasi asam, waktu, dan suhu reaksi hidrolisis ditingkatkan.



Gambar 2.8. Struktur Furfural (a), dan Hidroksi metil furfural (HMF) (b)



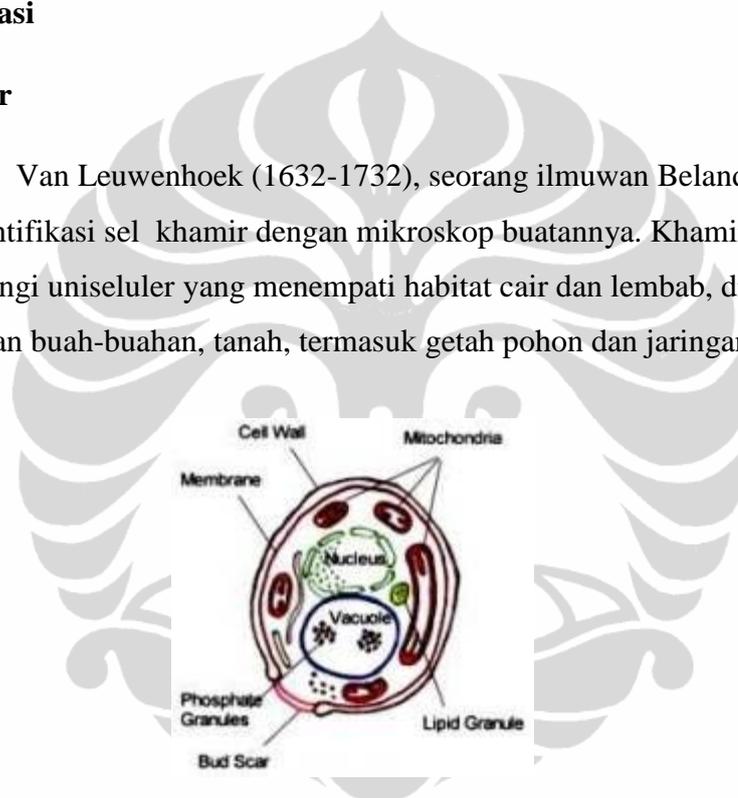
Gambar 2.9. Mekanisme hidrolisis asam pada ikatan glikosida

Hemiselulosa dapat juga dihidrolisis dengan cara enzimatik, misalnya menggunakan enzim xilanase sebagai biokatalis. Arly Aditya, 2004 melakukan hidrolisis sekam padi menggunakan enzim xilanase dari *Trichoderma viridae*. Hasil penelitian menunjukkan didapat kadar xilosa tertinggi sebesar 21, 455 g/L dari sampel sekam padi dengan berat 30 gram, dengan kondisi masa inkubasi 12 jam, suhu 50 °C, dan pH 7.

2.6 Fermentasi

2.6.1. Khamir

Van Leuwenhoek (1632-1732), seorang ilmuwan Belanda berhasil mengidentifikasi sel khamir dengan mikroskop buatannya. Khamir (yeast) adalah fungi uniseluler yang menempati habitat cair dan lembab, di permukaan buah-buahan, tanah, termasuk getah pohon dan jaringan hewan.



Gambar 2.10: Sel Khamir
(Sumber: Kathy Ceceri, 2009)

Khamir dapat mengalami dimorfisme yaitu fase Y (fase yeast, bentuk sel tunggal), dan fase F (fase filamen, bentuk benang). Dinding sel khamir tipis waktu masih muda dan menjadi tebal setelah tua.

Sel khamir sudah mempunyai dinding inti (inti sejati) yang di dalamnya terdapat nukleus dan kromosom. Vakuola merupakan rongga dalam sitoplasma. (Theresia Tri Suharni et.al,2008, 48-49).

Beberapa khamir dapat mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Pada tahun 2005, Riki melakukan penelitian “Seleksi Berbagai Species Khamir untuk Menghasilkan Xilitol Menggunakan Bahan Dasar D-Xilosa”. Species khamir yang diteliti adalah *Candida parapsilosis* UICC Y-267, *Candida boidinii* UICC Y-399, *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247, *Cryptococcus podzolicus* UICC Y-400, *Cryptococcus aethanolamini* UICC Y-421, *Cryptococcus laurentii* (kufferath) C.E. skinner, *Trichosporon coremiiforme* UICC Y-242, *Bullera sp. L* 4222, *Rhodotorula graminis* L 4232, dan *Williopsis saturnus* UICC Y-399. Hasil seleksi menunjukkan isolat khamir yang potensial mengkonversi xilosa menjadi xilitol adalah *C. Fukuyamaensis* UICC Y-247 menghasilkan yield xilitol sebesar 38,13 %; *C. boidinii* UICC Y-399 menghasilkan yield xilitol sebesar 16,38 %; dan *C. parapsilosis* UICC Y-267 menghasilkan yield xilitol sebesar 27,6 %. Dengan demikian hasil penelitian menunjukkan bahwa *C. fukuyamaensis* UICC Y-247 menghasilkan yield xilitol tertinggi.

2.6.2. *Candida fukuyamaensis*

Salah satu genus khamir adalah *Candida*, yang telah dibuktikan dapat menghasilkan xilitol.

Taksonomi *Candida fukuyamaensis* sebagai berikut:

Kingdom	: fungi
Divisi	: Ascomycota
Sub divisi	: Saccharomycotina
Kelas	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomyceae

Genus : *Candida*
Spesies : *C.fukuyamaensis*

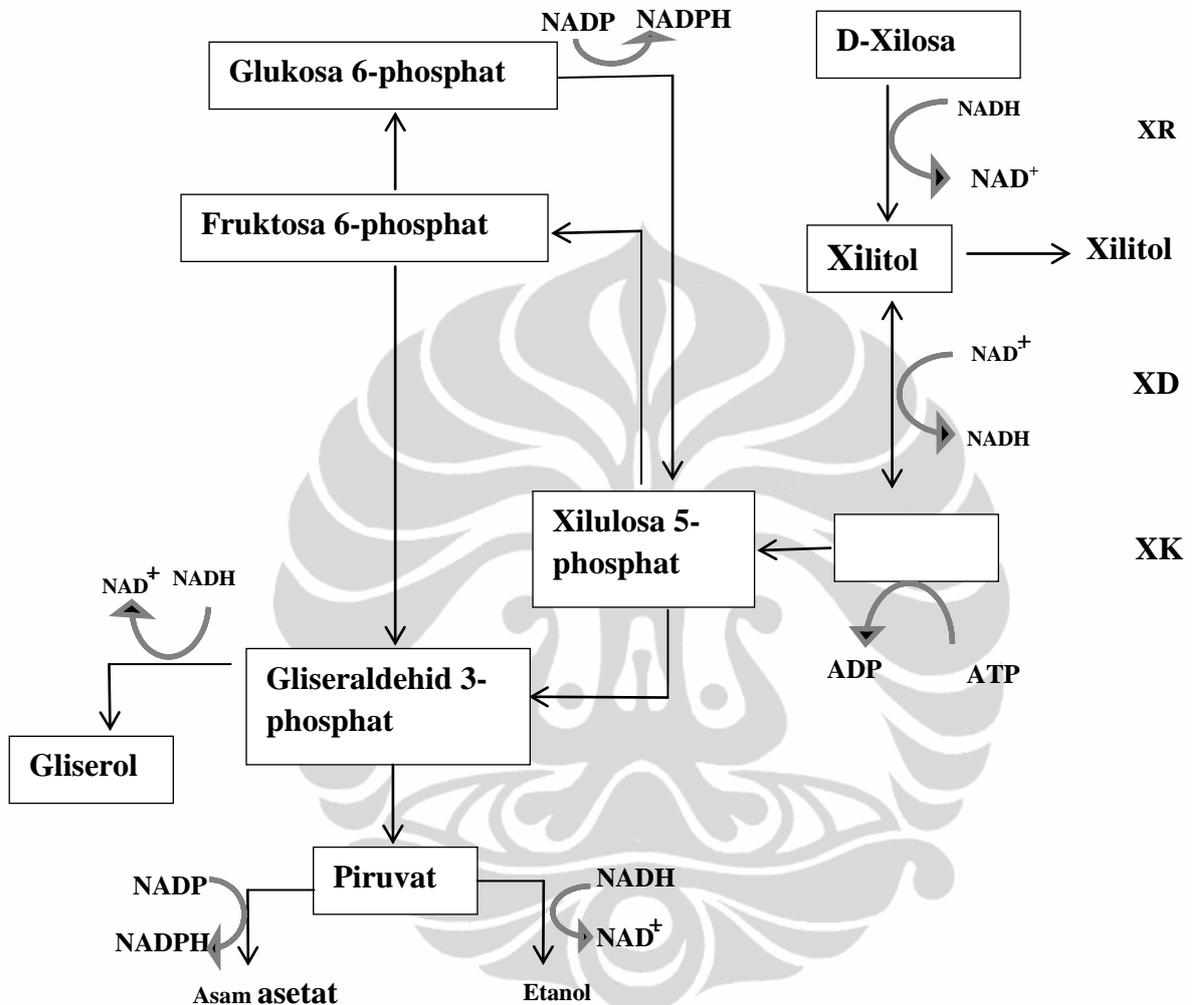
Candida fukuyamaensis UICC Y-247 adalah species khamir yang digunakan untuk pembentukan xilitol dari xilosa. Khamir ini ditumbuhkan pada suhu ruang dalam medium *Yeast Malt Agar* (YMA). Koloni berwarna putih agak krem, permukaan dan tekstur koloni licin, mengkilap seperti mentega, profil dan tepi koloni menggunggung, dan lurus. Khamir ini mampu melakukan fermentasi menggunakan glukosa, galaktosa, dan sukrosa. Selain itu, khamir ini mampu mengasimilasi glukosa, sukrosa, D-xilosa, dan L-arabinosa serta mampu tumbuh membentuk koloni pada suhu 37°C. isolat ini diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat. (Fitrianingsih,2005,119).

2.6.3 Metabolisme Pembentukan Xilitol Oleh Khamir

Mekanisme xilosa menjadi xilitol melibatkan khamir dari genus *Candida*. Xilosa akan masuk ke dalam jalur metabolisme *Candida* yang selanjutnya akan diubah menjadi xilitol. Jalur katabolisme D-xilosa melibatkan tiga buah enzim, yaitu xylose reductase (XR), xylitol dehidrogenase (XDH), dan xilulokinase (XK). Pertama, D-xilosa direduksi menjadi xilitol oleh enzim XR. Xilitol yang terbentuk kemudian dioksidasi menjadi D-xilulosa oleh XDH. Kemudian D-xilulosa ini difosforilasi menjadi xilulosa-5-fosfat oleh XK yang akan masuk ke jalur *Pentose Phosphate pathway* (PPP). Jalur ini menggunakan energi berupa ATP. *Xylose reductase* memerlukan kofaktor baik NADH maupun NADPH tetapi *xylitol dehidrogenase* bergantung pada NAD⁺. Di lain pihak enzim *xilulokinase* memerlukan ATP sebagai kofaktornya. (Tom Birger Granström et.al, 1998,2-3). Konsentrasi substrat juga berpengaruh pada aktivitas enzim xylose reductase dan xilitol dehidrogenase. Untuk meningkatkan produksi xilitol dapat dilakukan dengan menambahkan glukosa atau gula yang lain pada hidrolisat untuk fermentasi. Penambahan ini bertujuan agar sel khamir dapat tumbuh dengan dihasilkannya ATP dari proses glikolisis, sedangkan xilosa dapat terkonsentrasi menjadi xilitol oleh enzim xylose reductase. Penambahan glukosa ini baik sampai

konsentrasi tertentu. Jika konsentrasi glukosa berlebih, maka xilosa dapat terabaikan oleh khamir sehingga tidak terbentuk xilitol. (S.Y. Kim, 1998, 419-425)

Berikut ini merupakan jalur D-xilosa pada khamir:



Gambar 2.11: Jalur Metabolisme D-Xilosa pada Khamir

Berdasarkan jalur metabolisme D-Xilosa pada khamir terlihat bahwa selain dihasilkan produk xilitol kemungkinan juga dihasilkan etanol dan asam asetat dari jalur reaksi glikolisis. Pembentukan asam asetat menggunakan enzim asetat kinase, sedangkan pembentukan alkohol menggunakan enzim alkohol dehidrogenase.

Cara lain untuk meningkatkan xilitol adalah dengan membuat kondisi fermentasi yang anaerob. Oksigen mempunyai peranan penting untuk menghasilkan xilitol dari xilosa apabila menggunakan khamir dari golongan

Candida. Pada kondisi oksigen terbatas, jalur oksidatif fosforilasi tidak dapat mengoksidasi kembali NADH yang terbentuk, sehingga konsentrasi NADH di dalam sel meningkat. Tingginya konsentrasi NADH dalam sel menaikkan aktivitas enzim xilosa reduktase dan menyebabkan akumulasi xilitol.



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Kimia

3.1.1 Alat-alat yang digunakan:

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, alat press, neraca analitik, soxhlet, tabung reaksi, beaker glass, batang pengaduk, gelas ukur, statif-klem, botol semprot, corong gelas, pipet tetes, pipet volumetrik, labu ukur, labu erlenmeyer, labu didih, tabung centrifuge, cawan petri, jarum ose, propilet (bulb), dan kondensor.

Instrumentasi yang digunakan adalah sebagai berikut: timbangan analitis, blender, oven, autoklaf, heating mantel, penangas air, shaker, stirrer, alat centrifuge, soundnycator (alat degassing), syringe, pH meter, pompa vakum, pompa LC-20AB, HPLC Shimadzu prominence 20 dengan kolom Shimpack SCR-101 C, dan detektor refraktif indeks (RID-10A).

3.1.2 Bahan-bahan kimia yang digunakan

Bahan penelitian terdiri dari bahan uji dan bahan kimia. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang dan malai *sorghum bicolor L.* Jenis *sweet sorghum CTY-33* dari ras durra yang didapat dari SEAMEO BIOTROP, Tajur-Jawa Barat.

Bahan kimia yang digunakan adalah standar xilosa, standar glukosa, standar arabinosa, standar xilitol, air suling, kapas, H_2SO_4 , NaOH, akuabides, alkohol 70%, $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , pepton, agar, yeast ekstrak, malt ekstrak, resin penukar kation dan anion, karbon aktif, kertas indikator universal, kertas saring, dan filter membran nitroselulosa nitrat 0,45 μ m.

3.1.3 Mikroorganisme yang digun: ¹⁷

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah khamir *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi UICC Departemen Biologi, Universitas Indonesia. Khamir tersebut diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat.

3.2 Prosedur Kerja

Preparasi xilitol dari batang dan malai sorgum manis (*sorghum bicolor L*) CTY-33 dilakukan melalui tahap-tahap percobaan sebagai berikut:

3.2.1 Pembuatan Sampel Batang / Malai Sorgum Manis CTY-33

Limbah batang *sweet sorghum* CTY-33 dan malai *sweet sorghum* CTY-33 dicuci, dibiarkan semalam, dipotong kecil-kecil, di oven pada 50°C selama 6 jam. Batang dan malai *sweet sorghum* kemudian dihancurkan/digiling sampai halus. Hasil dari penggilingan ini disaring lagi agar dihasilkan serbuk batang/malai yang seragam. Sampel serbuk halus batang/ malai ini selanjutnya digunakan untuk pengujian berikutnya.

3.2.2 Pembuatan Larutan standar

3.2.2.1 Larutan Standar Xilosa

Larutan induk xilosa 1000 ppm dibuat dengan menimbang 100 mg xilosa dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan sebagai larutan induk untuk membuat deret larutan standar xilosa berikutnya. Dengan variasi konsentrasi sebesar 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm. Deret larutan standar xilosa ini dianalisis menggunakan HPLC dengan kondisi kecepatan alir 1 mL/menit, suhu oven 80°C, dan fase gerak yang digunakan adalah aquabides. Nilai waktu retensi yang diperoleh untuk uji kualitatif, dan nilai luas area untuk uji kuantitatif. Dari nilai luas area dan konsentrasi masing-masing larutan standar xilosa, dibuat persamaan regresi linier.

3.2.2.2 Larutan Standar Xilitol

Larutan induk xilitol 1000 ppm dibuat dengan menimbang 100 mg xilitol, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk membuat deret larutan standar xilitol berikutnya, dengan variasi konsentrasi sebesar 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm. Deret larutan standar xilitol ini dianalisis menggunakan HPLC dengan kondisi kecepatan alir 1 mL/menit, suhu oven 80°C, dan fase gerak yang digunakan adalah aquabides. Nilai waktu retensi yang diperoleh untuk uji kualitatif, dan nilai luas area untuk uji kuantitatif. Dari nilai luas area dan konsentrasi masing-masing larutan standar xilitol, dibuat persamaan regresi linier.

3.2.2.3 Larutan Standar Glukosa

Larutan induk glukosa 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg glukosa dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas.

3.2.2.4 Larutan Standar Arabinosa

Larutan standar arabinosa 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg arabinosa, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas.

3.2.3 Delignifikasi Sampel

Sampel batang/ malai sorgum manis (*sorghum bicolor L*) CTY-33 dilakukan *dewax* dengan cara ekstraksi heksana-etanol (2:1, v/v) menggunakan soxhlet selama 6,5 jam. Kemudian *residunya* ditambahkan dengan NaOH 1% pada 55°C dengan perbandingan solid :liquid (1:25 w/v) selama 2 jam. Setelah itu padatnya diambil dan dinetralkan dengan aquades.

3.2.4 Pembuatan Hidrolisat

Sampel batang dan malai sweet sorgum bicolor CTY-33 sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan ditambahkan 30 mL H₂SO₄ 0,3M. Kemudian sampel ditutup dengan sumbat kapas dan dimasukkan ke dalam autoklaf selama berturut-turut 25 menit, 30 menit, 35 menit, 40menit, dan 45 menit; pada suhu 121⁰C. Kemudian ke dalam hidrolisat ditambahkan NaOH 0,5 M untuk menetralkan asam sulfat. Setelah dinetralkan, hidrolisat disaring menggunakan kertas saring, Selanjutnya filtrat yang didapat untuk fermentasi dan untuk pengujian kadar xilosa dalam sampel. Pengujian kadar xilosa dalam hidrolisat dilakukan dengan mengambil filtrat hidrolisat, kemudian ditambah resin penukar kation dan anion. Setelah itu, disaring dengan menggunakan membran nitroselulosa 0,45 µm dan dilakukan perhitungan kadar xilosa dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) shimadzu prominence-20 dengan kolom shimpack SCR-101C yang merupakan kolom penukar kation terdiri dari kalsium dengan kopolimer *stiren divinilbenzena*.

3.2.5 Penambahan Arang Aktif

Ke dalam hidrolisat ditambahkan 1% arang aktif (w/v) kemudian dipanaskan 55⁰C, 10 menit. Setelah 10 menit, hidrolisat disaring dengan dobel kertas saring dan filtratnya siap digunakan untuk fermentasi.

3.2.6 Fermentasi

3.2.6.1 Sterilisasi Alat

Semua alat-alat gelas yang digunakan untuk fermentasi disterilisasi kering menggunakan oven pada suhu 150⁰C selama 2 jam.

Sedangkan alat plastik dan media yang akan digunakan dilakukan sterilisasi basah menggunakan autoklaf (tekanan 2 atm pada suhu 121°C selama 15 menit).

3.2.6.2 Penyiapan inokulum

Dalam proses ini digunakan sel mikroba berupa khamir dari spesies *Candida fukuyamaensis* yang didapat dari laboratorium mikrobiologi UICC (*Universitas Indonesia Culture Collection*).

Medium agar yang digunakan untuk pertumbuhan adalah medium YMA (*yeast malt agar*) dengan komposisi glukosa 10 g/L, yeast ekstrak 3 g/L, malt ekstrak 3 g/L, pepton 5 g/L dan agar 15 g/L.

Kultur-kultur yang didapat dari UICC dimurnikan dengan metode cawan gores yakni:

- Petri berisi medium agar dibagi menjadi empat daerah.
- Secara aseptik, biakan yang berada dalam agar miring (yang didapat dari UICC) dipindahkan dengan cara menggoreskan jarum ose satu kali.
- Secara aseptik, jarum ose berisi biakan tadi digores bolak-balik kedalam permukaan petri berisi medium yang telah disiapkan pada bagian tepi daerah pertama.
- Jarum ose dipijarkan di dalam api dan digunakan untuk menggores petri lagi.
- Goresan berikutnya berasal dari permukaan yang telah digores sebelumnya, tegak lurus dengan tepi petri daerah berikutnya.
- Goresan dilakukan sama seperti yang dilakukan sebelumnya terhadap daerah berikutnya hingga keempat daerah tergores semua.

Petri yang telah digores diinkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 2 hari (48 jam). Setelah hari kedua, dilakukan pengamatan pada biakan dalam petri.

Secara aseptis biakan yang dianggap berasal dari sel tunggal diambil dan dipindahkan kedalam agar miring yang telah disiapkan. Biakan dalam agar miring diinkubasi selama 2 hari (48 jam) suhu 30°C, selanjutnya siap digunakan untuk fermentasi.

3.2.6.3 Perhitungan Jumlah Sel Khamir

Penentuan jumlah sel khamir dilakukan dengan kamar hitung (*Counting Chamber*). Jumlah sel khamir ditentukan secara langsung dengan bantuan mikroskop. Setetes suspensi khamir diteteskan di kamar hitung *Neurbauer*, alat kamar hitung ini terbuat dari gelas dengan permukaan bagian atas terukir kotak bujur sangkar yang terbagi dalam petak-petak kecil dengan kedalaman 0,1 mm. Jumlah total sel dihitung per mL suspensi.

3.2.6.4 Fermentasi Sampel

Komposisi medium yang digunakan untuk fermentasi yaitu xilosa 2 g/L, yeast ekstrak 2 g/L, kalium dihidrogen fosfat KH_2PO_4 5 g/L, amonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2 g/L dan magnesium sulfat $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebesar 0.4 g/L/ dengan pH diatur 6.

Sebelum fermentasi, dilakukan pembuatan media aktivasi (*media starter*) yang diawali dengan pembuatan suspensi sel terlebih dahulu:

- Secara aseptik, 10 mL akuades steril dituang kedalam agar miring berisi biakan hasil purnian sebelumnya
- Secara aseptik, jarum ose digoreskan kedalam tabung reaksi tadi dan suspensi yang didapat ditempatkan didalam erlenmeyer steril.
- Suspensi yang didapat diaduk menggunakan vortex
- Suspensi sel kemudian dimasukkan ke dalam xilosa murni dan medium fermentasi yang masing-masing sebelumnya telah disterilisasi di dalam autoklaf dengan perbandingan 1:10 (v/v).

Medium fermentasi berisi suspensi sel dan xilosa murni diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam dengan laju guncangan 110 rpm.

Media aktivasi yang berisi suspensi sel dimasukkan ke dalam sampel dan media fermentasi dengan perbandingan 1:25 (v/v), kemudian diinkubasi di dalam inkubator shaker pada suhu 30°C dengan laju guncangan 110 rpm.

Fermentasi dihentikan sesuai waktu yang dikehendaki (per 12 jam atau per 6 jam) dengan cara memanaskannya dalam penangas air pada suhu 80°C selama 10 menit. Kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan diambil filtratnya lalu ditambahkan resin penukar anion dan kation, kemudian disaring dan dilakukan perhitungan kadar xilosa dan xilitol menggunakan HPLC.

3.2.7 Analisis Produk dengan HPLC

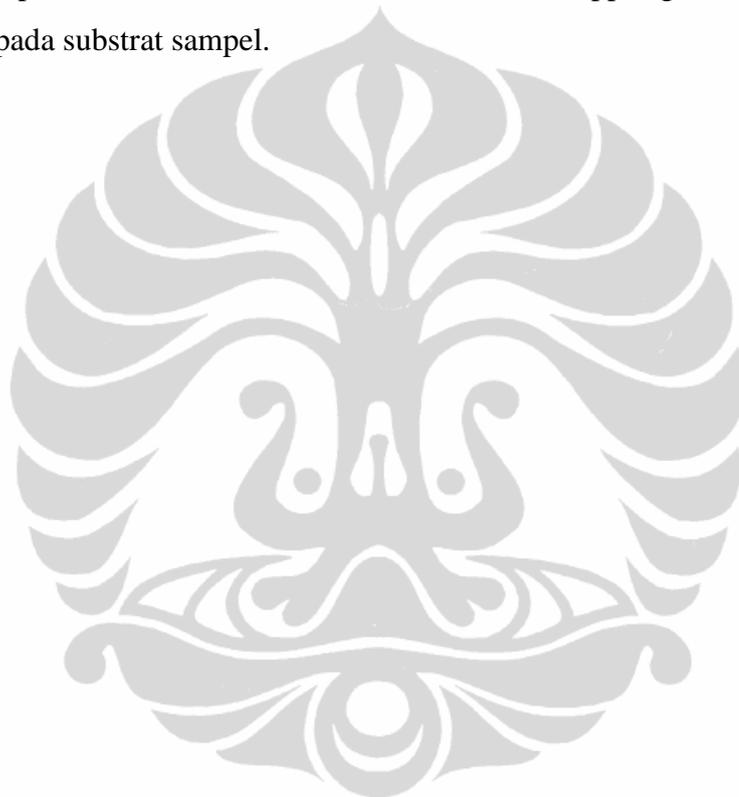
Produk fermentasi dianalisis menggunakan kromatografi cairan kinerja tinggi atau dalam bahasa Inggrisnya dikenal dengan sebutan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

Sampel hasil fermentasi disentrifugasi selama 10 menit, dengan kecepatan putar 3000 rpm sebelum dianalisis dengan HPLC. Supernatan yang didapatkan dari hasil sentrifugasi ditambah resin penukar kation dan anion, kemudian disaring dengan menggunakan membran nitroselulosa 0,45 μm . Sebanyak 20 μL larutan tersebut dianalisis dengan HPLC dan hasilnya diamati dengan membandingkan waktu retensinya dengan standar (standar xilitol dan standar xilosa). Pengukuran pada HPLC menggunakan kolom kalsium untuk karbohidrat yaitu kolom SCR-101 C Shimadzu Shim-pack, detektor refraktif indeks (RID-10A), fasa gerak aquabides, laju air 1 mL/menit, dan suhu kolom 80°C.

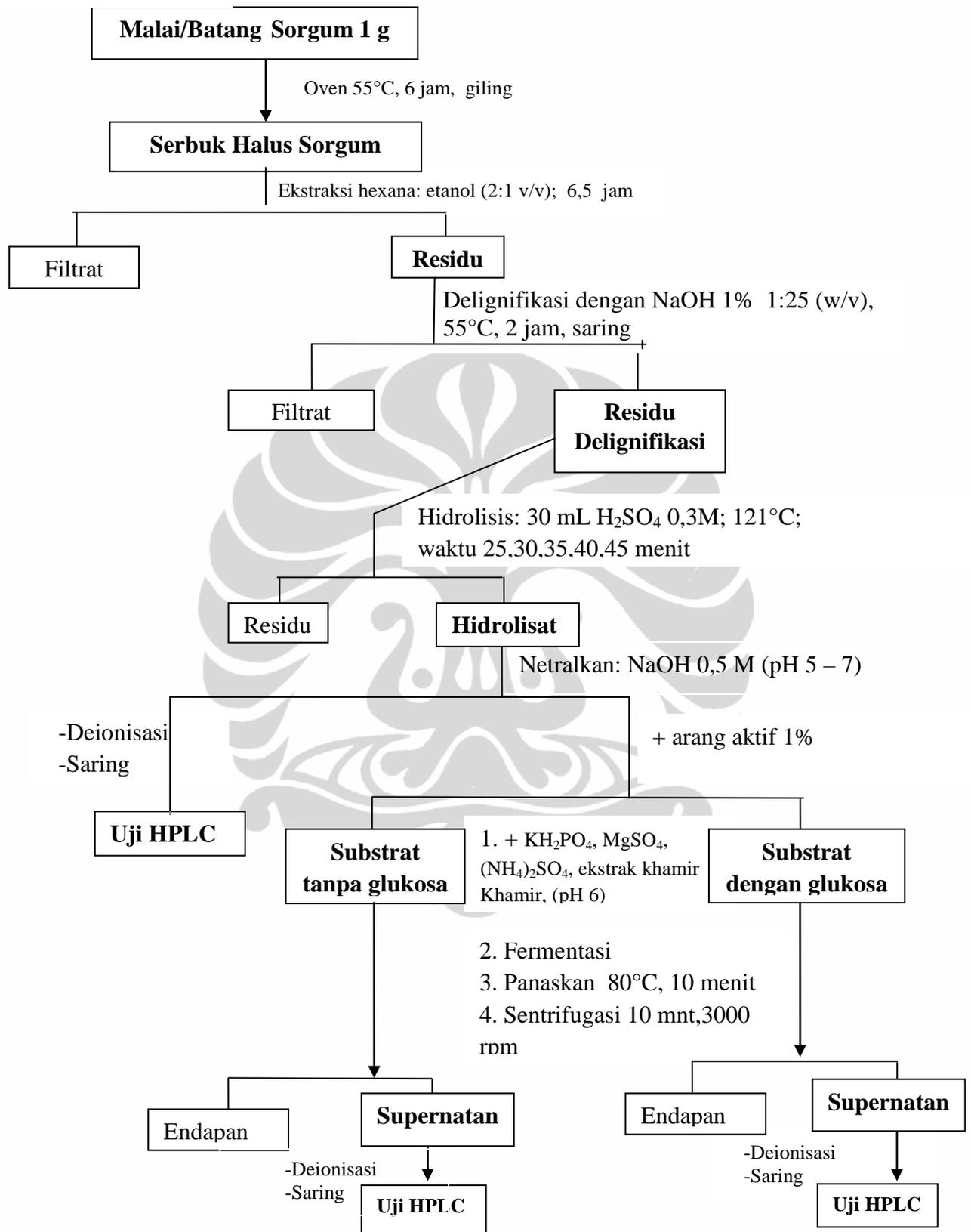
3.3 Variasi Kondisi

Pada penelitian ini, hal-hal yang divariasikan adalah:

- Jenis sampel: digunakan dua jenis sampel, yaitu batang sorgum manis (*sorghum bicolor L*) CTY-33, dan malai sorgum manis (*sorghum bicolor L*) CTY-33.
- Variasi waktu hidrolisis sampel: 25 menit, 30 menit, 35 menit, 40 menit, dan 45 menit.
- Variasi pada penambahan ko-substrat: ditambahkan 150 ppm glukosa, dan 300 ppm glukosa pada substrat sampel.



3.4 Diagram Kerja



Gambar 3.1 Diagram Kerja

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah batang dan malai sorgum manis (*sorghum bicolor L*) CTY-33 yang tidak terpakai untuk menghasilkan xilitol.

Batang/malai sorgum dihidrolisis, kemudian difermentasi menggunakan khamir. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan katalis asam sulfat . Proses fermentasi menggunakan khamir dari species *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 yang merupakan khamir penghasil enzim xylose reductase (XR). Khamir spesies ini dipilih karena menghasilkan xilitol dengan kadar yang paling tinggi berdasarkan penelitian sebelumnya. Spesies *Candida* ini diperoleh dari koleksi UICC yang diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat.

4.1 Sampling Limbah Batang/Malai Sorgum Manis (*Sorghum bicolor L*) CTY-33

Limbah Batang/Malai Sorgum Manis (*Sorghum bicolor L*) CTY-33 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari SEAMEO BIOTROP, Tajur-Bogor, Jawa barat. Limbah Batang/Malai Sorgum Manis (*Sorghum bicolor L*) CTY-33 merupakan limbah buangan pembuatan bioetanol dari sorgum.

4.2 Hidrolisis Batang/Malai Sorgum manis CTY-33

Hidrolisis merupakan suatu proses kimia yang menggunakan H₂O untuk pemecahan/degradasi molekul besar menjadi bagian yang lebih kecil. Untuk mendegradasi molekul besar tersebut dapat digunakan katalis asam atau enzim. Pada penelitian ini digunakan asam sulfat dengan konsentrasi 0,3 M sebagai katalis dengan waktu hidrolisis yang bervariasi. Dari penelitian sebelumnya diketahui, pada konsentrasi asam sulfat 0,3 M tersebut hemiselulosa sudah dapat dihidrolisis. Tetapi selulosa belum terhidrolisis

secara keseluruhan karena sifat ikatan selulosa yang lebih kuat dibandingkan hemiselulosa.

Struktur selulosa berbentuk mikrofibril kristalin yang tersusun secara teratur, sehingga memiliki tingkat rigiditas yang tinggi, sehingga lebih sulit terhidrolisis, sedangkan hemiselulosa memiliki struktur amorf sehingga lebih mudah terhidrolisis.

Hidrolisis dengan asam sulfat dilakukan di dalam autoklaf 121°C , akan menghasilkan pemecahan ikatan glikosida melalui tiga tahap. Tahap pertama, proton dari asam sulfat berinteraksi dengan oksigen pada ikatan eter heterosiklik antara monomer-monomer gula dan membentuk asam konjugat. Kemudian pemecahan secara lambat ikatan C-O-C (glikosida) menghasilkan intermediet kation karbonium siklik. Setelah mengalami adisi yang cepat, maka terbentuklah gula bebas. Hidrolisat yang dihasilkan berwarna coklat kekuningan dan bening. Hidrolisat harus segera ditambah dengan larutan NaOH 0,5M sampai pH 5-7 supaya asam yang tersisa menjadi netral, dan untuk mencegah proses degradasi gula menjadi senyawa furfural.



Gambar 4.1 Autoklaf dan hidrolisat pada penelitian

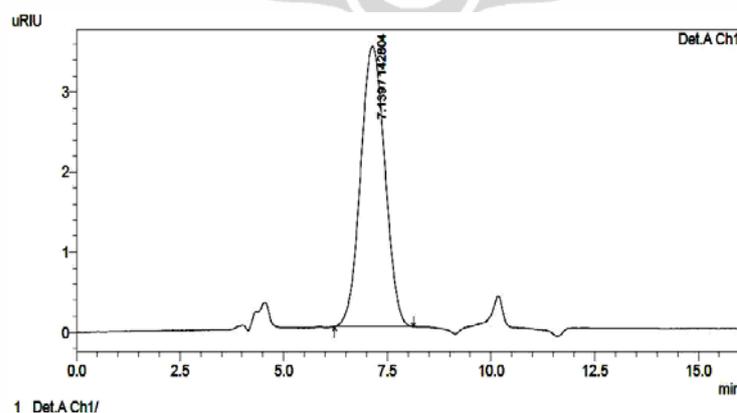
Dimungkinkan hasil fermentasi sampel adalah furfural yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme, maka harus dihilangkan dari hidrolisat dengan menambahkan arang aktif 1 % ke dalam hidrolisat.

Uji hasil hidrolisis dan hasil fermentasi dilakukan dengan HPLC. Sebelum dilakukan uji HPLC, dilakukan deionisasi pada sampel dengan resin penukar kation dan anion secara bergantian, sehingga larutan akhir hidrolisat bersifat netral. Penambahan resin bertujuan agar pada larutan hidrolisat bersifat netral

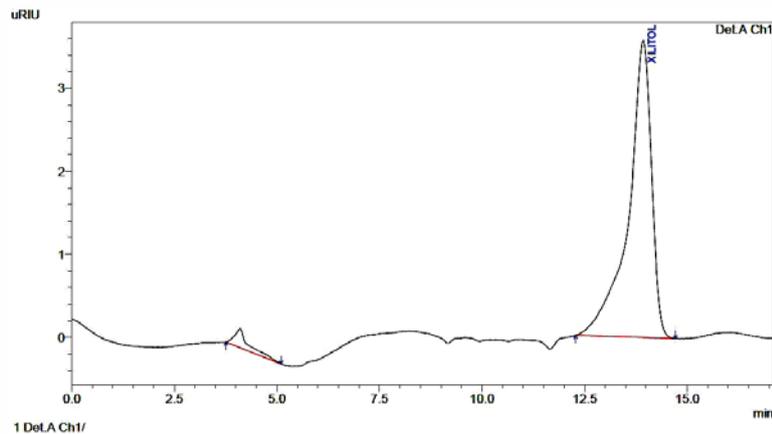
dan tidak mengandung ion logam yang dapat merusak kolom kromatografi. Pelarut yang digunakan adalah akuabides, karena pelarut ini dianggap sebagai pelarut terbaik untuk memisahkan gula-gula seperti xilosa dan glukosa, sedangkan kolom yang digunakan adalah kolom SCR-101 C Shimadzu Shim-pack untuk karbohidrat. Laju alir yang digunakan adalah 1mL/menit.

4.3. Identifikasi Standar Karbohidrat

Standar karbohidrat yang digunakan adalah larutan standar glukosa, arabinosa, xilosa, dan xilitol murni. Masing-masing larutan standar tersebut diukur dengan menggunakan HPLC Shimadzu Prominence-020 dengan kolom SCR-101 C Shimadzu Shim-pack untuk karbohidrat dengan detector refraktif indeks (RID-10A). Larutan standar ini digunakan untuk mengukur hasil hidrolisis dan hasil fermentasi secara kualitatif dan kuantitatif. Pengukuran secara kualitatif diketahui dengan melihat waktu retensi yang muncul dari setiap larutan standar, sedangkan pengukuran secara kuantitatif diketahui dengan adanya luas puncak area setelah dibandingkan dengan larutan standar. Penentuan waktu retensi dari tiap puncak ini berdasarkan pada interaksi gugus hidroksil pada masing-masing gula karbohidrat dengan kolom kalsium. Waktu retensi glukosa sekitar 6 menit, xilosa 7 menit (gb 4.2), dan arabinosa 8 menit.

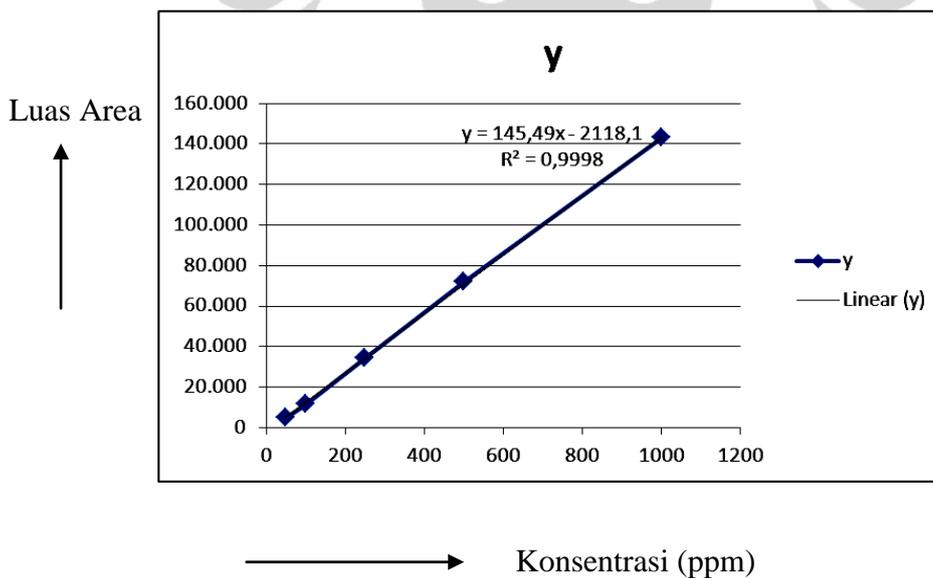


Gambar 4.2 Kromatogram Standar Xilosa 1000 ppm



Gambar 4.3 Kromatogram Standar Xilitol 1000 ppm

Kromatogram lainnya dan data konsentrasi serta luas area kromatogram standar xilosa dan standar xilitol sebagai dasar perhitungan persamaan regresi linier xilosa dan xilitol. Kadar sampel dapat ditentukan dari persamaan regresi linier standar xilosa dan standar xilitol. Berikut ini adalah kurva standar xilosa:



Gambar 4.4. Kurva Standar Xilosa

4.4. Hasil Hidrolisis Batang dan Malai Sorgum Manis CTY-33

Pada penelitian ini konsentrasi asam sulfat yang digunakan adalah 0,3 M. Waktu hidrolisis yang dilakukan bervariasi mulai 25; 30; 35; 40; dan 45 menit.

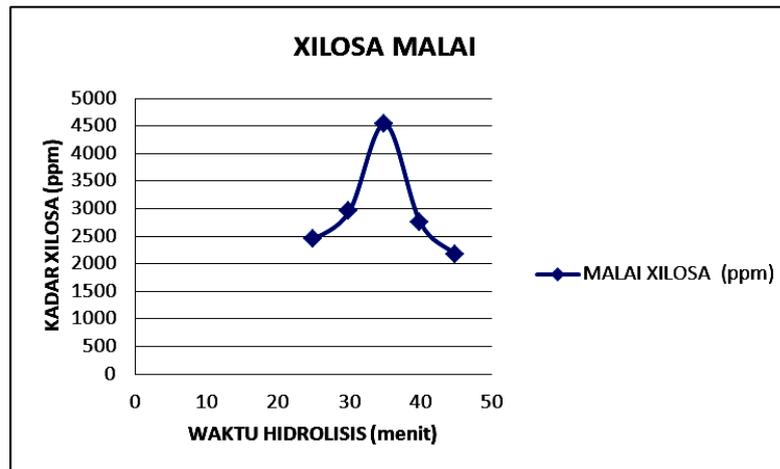
Tabel 4.1 Data Kadar Xilosa Hasil Hidrolisis Malai dan Batang Sorgum Manis CTY-33

WAKTU HIDROLISIS (menit)	MALAI		BATANG	
	KADAR Xilosa (ppm)	Kadar Xilosa (%)	KADAR Xilosa (ppm)	Kadar Xilosa (%)
25	2.449,73	12,25	1.293,07	6,47
30	2.953,53	14,77	2.175,83	10,88
35	4.541,79	22,71	3.059,78	15,30
40	2.745,81	13,73	2.242,25	11,21
45	2.162,97	10,82	1.967,04	9,83

Tabel data konsentrasi xilosa hasil hidrolisis malai sorgum manis CTY-33 tersebut menunjukkan bahwa waktu hidrolisis yang semakin lama akan mengakibatkan semakin banyak ikatan-ikatan glikosida pada polisakarida yang terputus membentuk monomer-monomernya. Kadar xilosa semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu hidrolisis mulai 25 menit meningkat sampai 35 menit. Tetapi, pada menit ke 40, kadar xilosa berkurang dibandingkan dengan kadar xilosa pada menit ke 35. Kemungkinan yang terjadi adalah terbentuknya furfural dari xilosa jauh lebih banyak dibandingkan dengan terbentuknya xilosa. Ada kemungkinan juga terbentuknya hidroksi metil furfural (HMF) dari glukosa. Terbentuknya furfural dan HMF dapat dilihat dari warna hidrolisat yang semakin coklat. Warna coklat pada hidrolisat merupakan indikasi dari senyawa furfural dan HMF yang terbentuk.

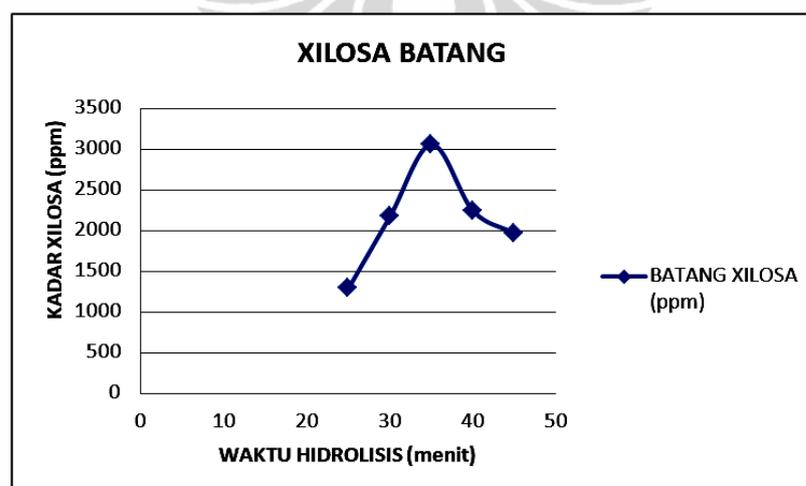
Tabel 4.1 menunjukkan bahwa persentase kadar xilosa tertinggi pada hidrolisis malai sorgum manis CTY-33 terjadi pada waktu hidrolisis selama

35 menit dengan kadar xilosa sebesar 22,71 %. Hidrolisat hasil hidrolisis optimal selama 35 menit akan digunakan untuk proses fermentasi, diharapkan dapat menghasilkan xilitol secara optimal.



Gambar 4.5. Kurva Optimasi Hidrolisis Malai Sorgum Manis CTY-33

Demikian juga yang terjadi pada sampel batang sorgum manis CTY-33, persentase kadar xilosa tertinggi pada hidrolisisnya terjadi pada waktu hidrolisis selama 35 menit dengan kadar xilosa sebesar 15,30 %. Hidrolisat hasil hidrolisis optimal selama 35 menit ini akan digunakan untuk proses fermentasi.



Gambar 4.6. Kurva Optimasi Hidrolisis Batang Sorgum Manis CTY-33

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa kadar xilosa dalam hidrolisat malai lebih besar dibanding dengan kadar xilosa dalam hidrolisat batang untuk waktu hidrolisis dan perlakuan lain yang sama.

4.5. Penambahan Arang Aktif

Batang/malai sorgum manis CTY-33 setelah dihidrolisis berwarna kuning-coklat bening, berarti hidrolisatnya selain mengandung xilosa, juga mengandung senyawa-senyawa lain yang dapat mengganggu pertumbuhan mikroorganisme seperti furfural, 5-hidroksimetil furfural (HMF), dan fenolik. Furfural dan HMF seperti telah dijelaskan sebelumnya merupakan hasil samping turunan gula, dan senyawa fenolik merupakan produk degradasi lignin. Oleh karena itu senyawa-senyawa tersebut perlu dihilangkan dengan menambahkan 1 % arang aktif (w/v) pada hidrolisat. Arang aktif akan mengadsorpsi inhibitor tersebut, senyawa-senyawa tersebut dapat ditarik ke dalam pori-pori arang/ karbon aktif. Setelah itu, filtrat dan endapannya disaring dengan menggunakan kertas saring biasa yang dirangkap dua.

4.6. Fermentasi Dengan Khamir *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Fermentasi dibedakan dalam dua tipe, yaitu tipe fermentasi sekali unduh (*batch fermentation*) dan fermentasi kontinyu (*continuous fermentation*). Fermentasi sekali unduh terjadi secara diskontinyu dengan fermentor yang dibersihkan setelah digunakan untuk fermentasi, jika ingin memproduksi suatu produk diperlukan preparasi lagi dari awal. Sedangkan fermentasi kontinyu, fermentasi dilakukan secara terus menerus, dan media ditambahkan sesuai kebutuhan mikroba, produk diunduh secara kontinyu.

Fermentasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah tipe fermentasi sekali unduh (*batch fermentation*). Sesuai dengan hasil penelitian UICC, media yang digunakan sebagai media tumbuh khamir adalah *yeast malt agar* (YMA). Sebelum sampel difermentasi, dilakukan pembuatan media aktivasi (*starter*) terlebih dahulu. Media *starter* (media aktivasi) berisi xilosa murni dengan konsentrasi tertentu ditambahkan kedalam media fermentasi dan suspensi sel khamir. Media fermentasi yang ditambahkan, mengandung

ekstrak khamir sebagai sumber nutrisi (sumber vitamin B serta sumber C dan N), KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebagai sumber mineral. pH diatur pada pH 6, yang merupakan pH optimal untuk pertumbuhan khamir secara umum. Media *starter* diinkubasi 48 jam.

Tujuan pembuatan media aktivasi ini adalah untuk mengaktifkan khamir *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 yang semula berada pada media pertumbuhan berupa glukosa dipindahkan ke dalam media fermentasi cair yang berisi xilosa. Oleh karena itu, diharapkan khamir telah siap mengubah xilosa menjadi xilitol ketika media aktivasi ini dimasukkan ke dalam substrat.

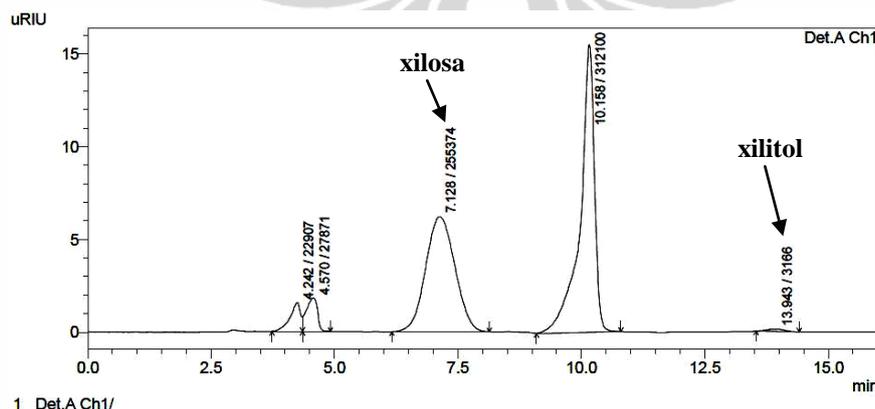
Sebelum dilakukan proses fermentasi, dilakukan perhitungan jumlah sel khamir yang terdapat dalam suspensi dengan menggunakan metode kamar hitung. Jumlah sel khamir yang digunakan dalam penelitian ini adalah $1,58 \times 10^8$ sel/mL. Pada penelitian ini, digunakan 5 mL suspensi sel, sehingga berjumlah $7,90 \times 10^8$ sel yang dimasukkan ke dalam media. Sebelum fermentasi dilakukan, terlebih dahulu media fermentasi disterilisasi. Pada waktu sterilisasi media fermentasi, dilakukan sterilisasi terpisah untuk gula (xilosa dan glukosa). Tujuan pemisahan gula untuk mencegah terbentuknya basa *schiff* antara gula dengan gugus amina dalam media fermentasi, yang disebut reaksi Maillard.

Inokulum dimasukkan ke dalam media fermentasi dan diinkubasi dalam inkubator shaker agar suhu fermentasi tetap terjaga. Penggunaan shaker bertujuan untuk memaksimalkan penggunaan media oleh mikroorganisme. Pengambilan produk dilakukan setiap 12 jam untuk mengetahui waktu optimum pembentukan produk hasil fermentasi. Setelah diketahui waktu optimum pembentukan produk hasil fermentasi, dilakukan kembali fermentasi dengan penambahan glukosa 150 ppm dan 300 ppm untuk memperoleh hasil yang diharapkan.

4.7. Hasil fermentasi Substrat

Fermentasi xilosa murni dilakukan bersamaan dengan fermentasi substrat sampel, yang berfungsi untuk mengetahui kemampuan khamir dalam mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Konsentrasi xilosa yang digunakan

adalah 0,2 g/100 mL(2000 ppm). Besarnya konsentrasi xilosa murni yang digunakan, dibuat mendekati konsentrasi xilosa dalam sampel. Pada xilosa murni ditambahkan nutrisi dan garam-garam untuk pertumbuhan khamir, kemudian disterilisasi. Pengambilan hasil fermentasi dilakukan setiap 6 jam. Proses fermentasi dihentikan dengan memanaskan tabung berisi cuplikan sampel di penangas air yang bersuhu 80°C selama 10 menit. Hal ini bertujuan untuk mengurangi aktivitas khamir tanpa merusak struktur karbohidrat yang ada. Setelah itu, dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan mikroorganisme dengan larutan hasil fermentasi dengan kecepatan putaran 3000 rpm selama 10 menit. Setelah proses sentrifugasi selesai, dilakukan dekantasi untuk memperoleh supernatannya. Kemudian dilakukan deionisasi untuk menghilangkan ion-ion yang ada agar tidak merusak kolom kromatografi. Kadar xilosa dan xilitol dalam sampel dianalisis dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Dari hasil kromatogram dapat diketahui luas areanya, sehingga konsentrasi xilosa dan xilitol dapat diketahui berdasar persamaan regresi linier larutan standar xilosa dan xilitol. Kromatogram fermentasi xilosa murni menunjukkan xilitol terbentuk pada jam ke-6 yaitu sebesar 22,97 ppm, dan jam ke-12 yaitu sebesar 47,51 ppm. Pada jam ke-18 xilitol sudah tidak terdeteksi.



Gambar 4.7. Kromatogram fermentasi xilosa murni pada jam ke-6

Fermentasi menggunakan sampel substrat dari batang dan malai sorgum manis CTY-33 awalnya dilakukan untuk mengetahui waktu fermentasi yang optimal saat terbentuknya xilitol. Kromatogram hasil uji HPLC menunjukkan xilitol terbentuk pada jam ke-12. Xilitol yang dihasilkan dari substrat malai sorgum manis CTY-33 sebesar 297,21 ppm, dan xilitol yang dihasilkan dari substrat batang sorgum manis CTY-33 sebesar 102,37 ppm. Pada jam ke-18 xilitol tidak terdeteksi dan xilosa dalam substrat telah habis, demikian juga pada waktu jam ke-36 dan seterusnya. (tabel data terlampir).

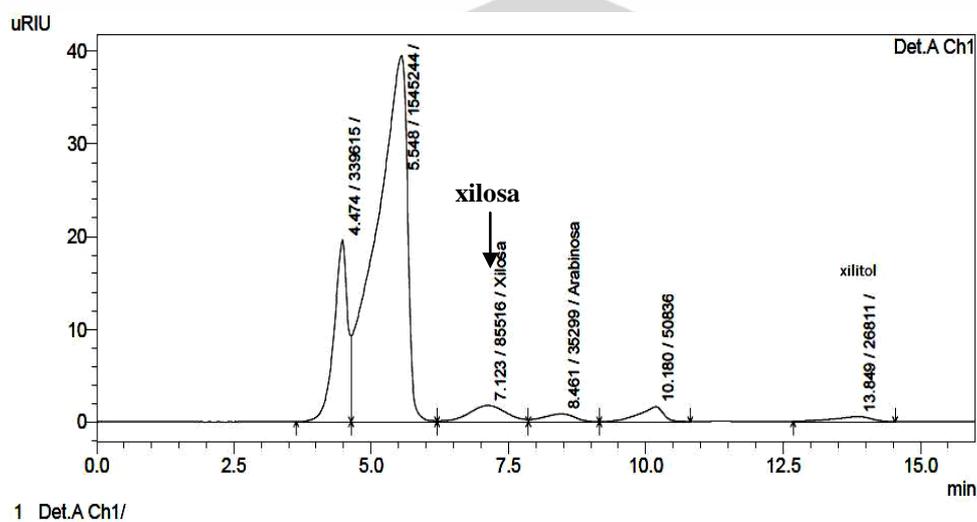
Menurut penelitian Riki, 2008: “ Pada jam ke 0 hingga jam ke 6 *Candida fukuyamaensis* mengalami fase lag. Selama fase lag, sel khamir melakukan adaptasi dengan kondisi yang berbeda menggunakan cadangan energi yang berasal dari medium sebelumnya mengingat perubahan kondisi dan lingkungan yang kaya nutrisi ke lingkungan yang miskin nutrisi. Selama jam ke 12 hingga jam ke 24, khamir memasuki fase logaritma”.

Oleh karena itu fermentasi substrat malai dan batang sorgum manis CTY-33 dilakukan kembali dengan pengambilan produk per 6 jam, untuk mengetahui apakah antara jam ke-12 sampai jam ke-18 terbentuk xilitol. Fermentasi substrat malai dan batang sorgum CTY-33 kedua dilakukan dengan pengambilan produk per-6 jam.

Selain itu juga dilakukan fermentasi dengan penambahan kosubstrat glukosa 150 ppm dan 300 ppm untuk meningkatkan kadar xilitol yang terbentuk. Kromatogram hasil uji HPLC substrat malai dan batang sorgum manis CTY-33 yang tidak ditambah glukosa menunjukkan pada jam ke-6 xilitol tidak terdeteksi. *Candida fukuyamaensis* pada jam ke-0 sampai jam ke-6 berada pada fase lag, khamir menyesuaikan diri dengan lingkungan, terutama dengan pH dan suhu. Khamir menyerap air sehingga sel membesar dan mulai mengeluarkan enzim untuk mengubah substrat. Xilitol baru terdeteksi pada jam ke-12. Setelah waktu fermentasi 18 jam, xilitol tidak terdeteksi. Data hasil fermentasi substrat malai sorgum manis CTY-33 sebagai berikut:

Tabel 4.2 Data Fermentasi Malai Sorghum Manis CTY-33

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa Sisa (ppm)	Kadar Xilitol (ppm)
0	2.988,05	0
6	1.601,68	tidak terdeteksi
12	602,34	191,07
18	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi

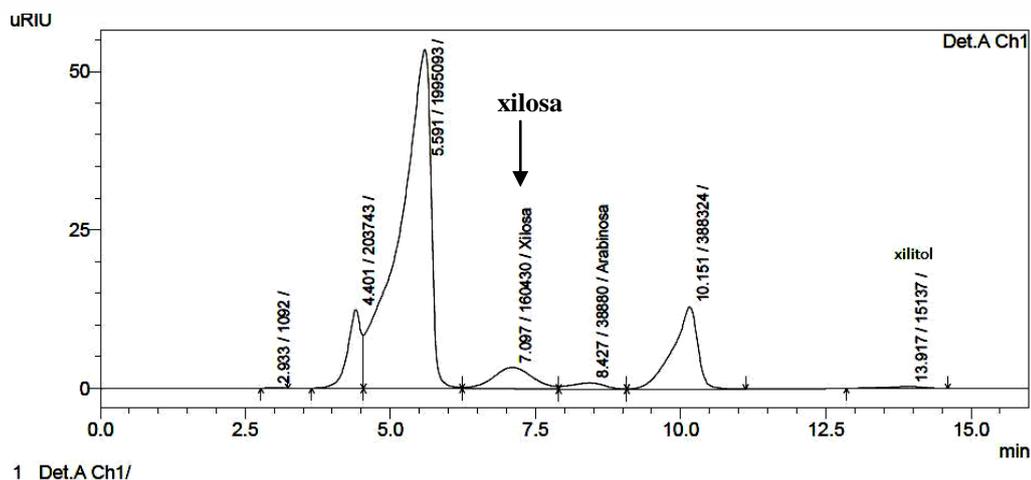


Gambar 4.8. Kromatogram fermentasi substrat malai pada jam ke-12

Tabel 4.3. Data Fermentasi Malai Sorghum Manis CTY-33 + Glukosa 150 ppm

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa sisa (ppm)	Kadar Glukosa sisa (ppm)	Kadar Xilitol (ppm)
0	1.966,55	107,01	tidak terdeteksi
6	1.552,71	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
12	1.117,25	tidak terdeteksi	108,08
18	420,42	tidak terdeteksi	151,41
24	23,84	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi

Kromatogram hasil uji HPLC substrat malai dan batang sorgum manis CTY-33 yang ditambah glukosa 150 ppm menunjukkan pada jam ke-6 xilitol tidak terdeteksi. Xilitol baru terdeteksi pada jam ke-12 sebesar 108,08 ppm dan ke-18 sebesar 151,41 ppm. Setelah waktu fermentasi 24 jam, tidak lagi dihasilkan xilitol. Berikut adalah kromatogram substrat malai dengan



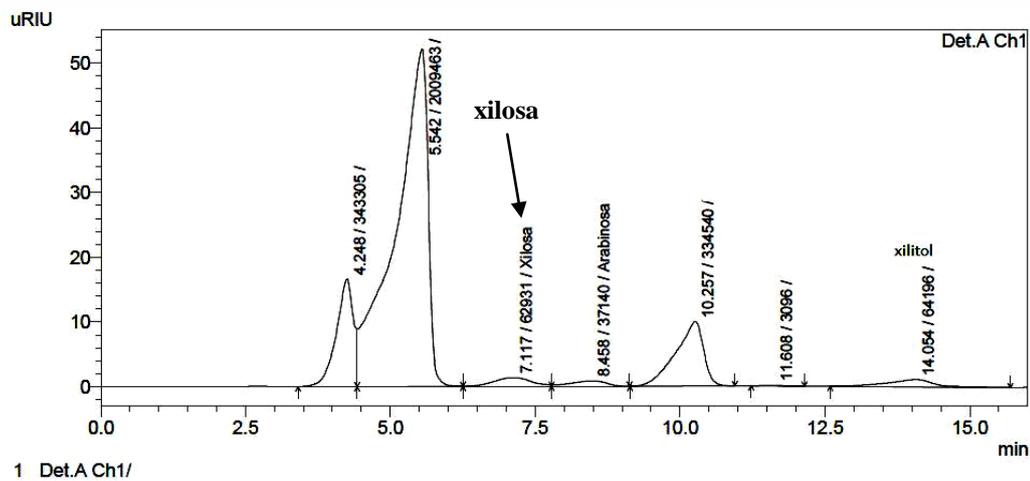
Gambar 4.9. Kromatogram substrat malai + glukosa 150 ppm pada jam ke-12

Tabel 4.4. Data Fermentasi Malai Sorghum Manis CTY-33
+ Glukosa 300 ppm

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa Sisa (ppm)	Kadar Glukosa sisa (ppm)	Kadar Xilitol (ppm)
0	1.478,69	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
6	1.173,98	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
12	334,36	tidak terdeteksi	291,17
18	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi

Kromatogram hasil uji HPLC substrat malai dan batang sorgum manis CTY-33 yang ditambah glukosa 300 ppm menunjukkan pada jam ke-6 xilitol tidak terdeteksi. Xilitol baru terdeteksi pada jam ke-12 sebesar 291,17 ppm. Setelah waktu fermentasi 18 jam, tidak lagi dihasilkan xilitol.

Berikut adalah kromatogram substrat malai dengan penambahan glukosa 300 ppm pada jam ke-12:



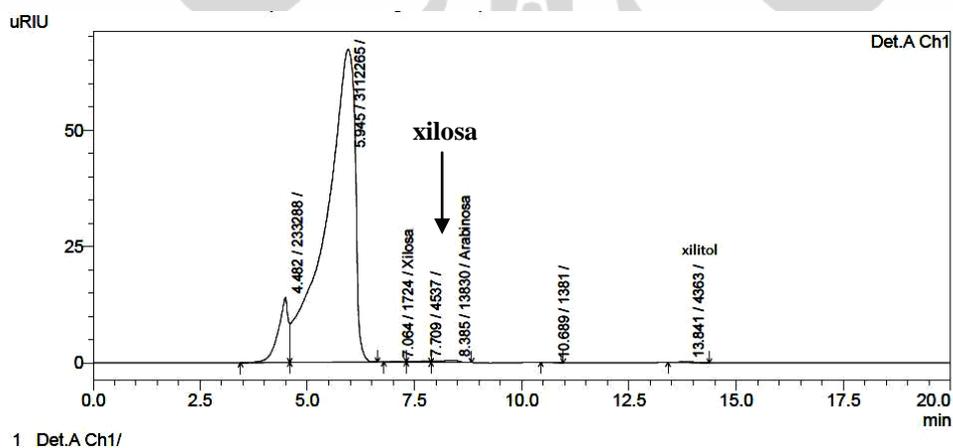
Gambar 4.10. Kromatogram substrat malai + glukosa 300 ppm pada jam ke-12

Tabel data 4.3 dan 4.4. fermentasi substrat malai dan substrat batang sorgum manis CTY-33 dengan kosubstrat glukosa menunjukkan bahwa pada penambahan glukosa 150 ppm pada jam ke-0 glukosa sisa 107,01 ppm, tetapi glukosa pada jam ke-12 sudah tidak tersisa. Dan pada penambahan glukosa 300 ppm pada jam ke-0 sudah tidak ada lagi sisa glukosa. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa dapat mencukupi kebutuhan koenzim tereduksi yang digunakan untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol. Produk xilitol banyak terbentuk pada jam ke-12. Hal ini disebabkan karena pada jam ke-12, khamir telah memasuki fase logaritma atau fase eksponensial. Pada fase ini, khamir membelah diri dengan cepat, nutrisi substrat sudah mulai menipis, sel-sel sudah ada yang mati, dan xilitol terakumulasi sebagai hasil metabolisme dari xilosa. Produksi xilitol mencapai konsentrasi tertinggi pada jam ke-12. Hasil fermentasi malai menunjukkan xilitol yang terbentuk sebesar 191,07 ppm, hal ini dapat disebabkan karena sebagian besar xilosa ditujukan untuk produksi xilitol dan hanya sedikit yang digunakan untuk pertumbuhan. Sedangkan pada penambahan glukosa 150 ppm terbentuk xilitol 108,076 ppm, pada jam ke-18 xilitol terbentuk sebesar 151,41 ppm. Penambahan glukosa 300 ppm terbentuk xilitol sebesar 291,170 ppm pada jam ke-12.

Terjadi kenaikan jumlah produksi xilitol yang signifikan. Karena pada penambahan kosubstrat (nutrien pendamping substrat xilosa) tersebut dapat berfungsi untuk mencukupi kebutuhan koenzim tereduksi yang digunakan untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol. Sehingga sebagian besar substrat (xilosa) dapat dikonversi menjadi xilitol. Tabel berikut merupakan data fermentasi batang sorgum manis CTY-33:

Tabel 4.5 Data Fermentasi Batang Sorghum Manis CTY-33

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa sisa (mg/L)	Kadar glukosa sisa (mg/L)	Kadar Xilitol (mg/L)
0	1.105,68	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
6	834,04	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
12	26,41	tidak terdeteksi	31,84
18	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi



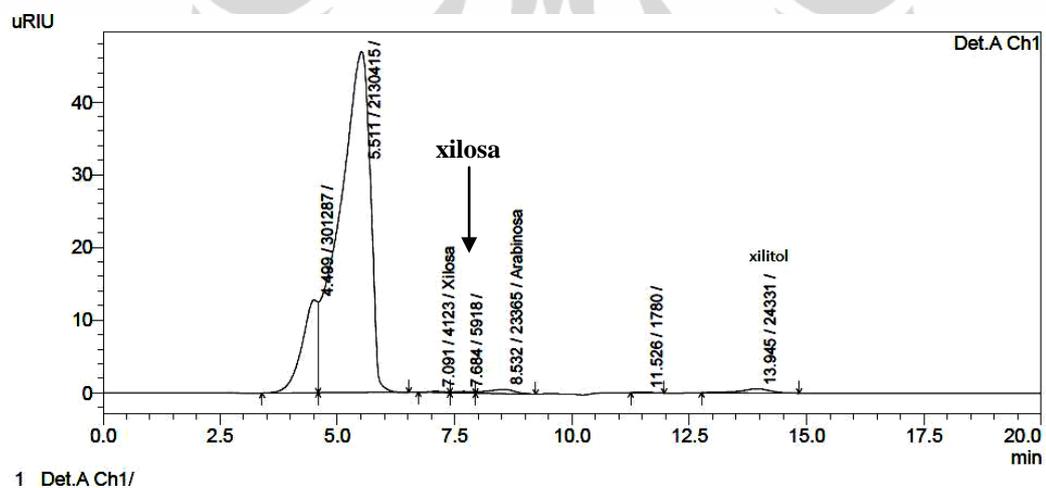
Gambar 4.11. Kromatogram fermentasi substrat batang pada jam ke-12

Pada jam ke-12 konversi xilosa menjadi xilitol pada fermentasi xilosa murni adalah 2,40 %, pada fermentasi substrat malai sorgum manis CTY-33 adalah 12,62 %, dan pada fermentasi substrat batang sorgum manis CTY-33 adalah 5,69 %. Berdasarkan data tersebut, prosen konversi xilosa menjadi xilitol pada fermentasi xilosa murni paling rendah,

hal ini disebabkan karena pada fermentasi xilosa murni tidak ada zat-zat lain sebagai sumber karbon bagi pertumbuhan khamir kecuali substrat xilosa itu sendiri. Sehingga substrat xilosa digunakan oleh khamir menjadi satu-satunya sumber karbon. Berikut ini adalah data hasil fermentasi substrat batang sorgum manis CTY-33 dengan penambahan glukosa 150 ppm pada pengambilan produk per 6 jam.

Tabel 4.6 Data Fermentasi Batang Sorghum Manis CTY-33
+ Glukosa 150 ppm

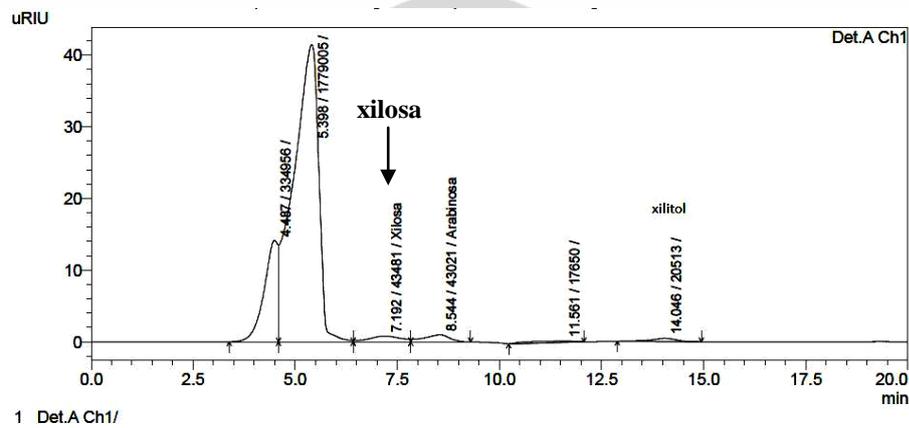
Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa Sisa (ppm)	Kadar glukosa sisa (ppm)	Kadar Xilitol (ppm)
0	1.306,26	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
6	965,43	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
12	42,90	tidak terdeteksi	173,44
18	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi



Gambar 4.12. Kromatogram substrat batang + glukosa 150 ppm pada jam ke-12

Tabel 4.7 Data Fermentasi Batang Sorghum Manis CTY-33 + Glukosa 300 ppm

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa Sisa (ppm)	Kadar glukosa sisa (ppm)	Kadar Xilitol (ppm)
0	2.107,80	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
6	1.451,10	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
12	313,42	tidak terdeteksi	146,30
18	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi



Gambar 4.13. Kromatogram substrat batang + glukosa 300 ppm pada jam ke-12

Tabel 4.5, 4.6, dan 4.7 menunjukkan kenaikan produksi xilitol dengan adanya penambahan kosubstrat glukosa. Setelah jam ke-12 jumlah xilitol mengalami penurunan. Penurunan jumlah xilitol ini terjadi karena xilosa sebagai sumber karbon telah habis. Oleh karena itu, xilitol digunakan sebagai sumber karbon oleh khamir penghasil enzim xylitol dehidrogenase dan xilulokinase. Pada kondisi ini, terjadi penurunan produk xilitol yang terbentuk, karena xilitol dioksidasi menjadi xilulosa oleh enzim *xylitol dehidrogenase*, kemudian difosforilasi oleh enzim xilulokinase membentuk xilulosa-5-fosfat dan masuk ke dalam jalur *Pentose Phosphate Pathway* (PPP).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- 1) Kadar xilosa dalam hidrolisat malai dan batang sorgum manis CTY-33 tertinggi dicapai pada waktu hidrolisis 35 menit yaitu sebesar 4.541,79 ppm (22,71 %) dalam malai, dan sebesar 3.059,78 ppm (15,29 %) dalam batang.
- 2) Hasil fermentasi malai dan batang sorgum manis CTY-33 tanpa penambahan glukosa menunjukkan xilitol terakumulasi pada fermentasi jam ke-12. Pada fermentasi substrat malai jam ke-12 terbentuk xilitol sebesar 191,07 ppm, konversi xilosa menjadi xilitol adalah 12,62 % (contoh perhitungan terlampir). Sedangkan pada substrat batang tanpa penambahan glukosa terbentuk xilitol sebesar 31,48 ppm, konversi xilosa menjadi xilitol sebesar 5,69 %.
- 3) Fermentasi 2000 ppm xilosa murni terbentuk xilitol sebesar 47,511 ppm, prosen konversi xilosa menjadi xilitol pada fermentasi xilosa murni rendah yaitu sebesar 2,40 %.
- 4) Penambahan glukosa 150 ppm dalam substrat malai, terbentuk xilitol pada jam ke-12 dan jam ke-18. Pada jam ke-12 terbentuk xilitol sebesar 108,08 ppm (konversi xilosa menjadi xilitol adalah 10,84 %), dan pada jam ke-18 terbentuk xilitol sebesar 151,41 ppm (konversi xilosa menjadi xilitol adalah 15,19 %).
- 5) Penambahan glukosa 300 ppm dalam substrat malai pada jam ke-12 terbentuk xilitol sebesar 291,17 ppm (konversi xilosa menjadi xilitol sebesar 38,86 %). Terjadi kenaikan jumlah produksi xilitol yang signifikan.
- 6) Penambahan glukosa 150 ppm dan 300 ppm dalam substrat batang, xilitol juga terbentuk pada jam ke-12. Xilitol yang terbentuk pada penambahan glukosa 150 ppm sebesar 173,44 ppm (konversi xilosa menjadi xilitol adalah 26,20%) dan pada

penambahan 300 ppm sebesar 146,30 mg/L (konversi xilosa menjadi xilitol sebesar 13,69 %).

Terjadi peningkatan kadar xilitol yang signifikan dengan penambahan glukosa 150 ppm dan 300 ppm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa glukosa 150 ppm dan 300 ppm baik digunakan sebagai kosubstrat untuk meningkatkan produksi xilitol dalam penelitian ini.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk memperoleh kadar xilitol yang lebih tinggi dengan melakukan variasi konsentrasi kosubstrat glukosa. Penambahan kosubstrat glukosa dapat divariasikan, misalnya penambahan glukosa dengan konsentrasi yang lebih kecil dari 150 ppm atau diantara 150 ppm – 300 ppm, atau lebih besar dari 300 ppm. sehingga didapatkan konsentrasi glukosa yang tepat sebagai kosubstrat.

Berdasarkan jalur metabolisme khamir, terdapat kemungkinan hasil fermentasi substrat malai dan batang sorgum manis CTY-33 selain xilitol juga etanol. Penelitian dapat dilakukan untuk mengetahui apakah terbentuk etanol dari substrat batang dan malai sorgum manis CTY-33 dengan khamir *Candida fukuyamaensis*.

DAFTAR PUSTAKA

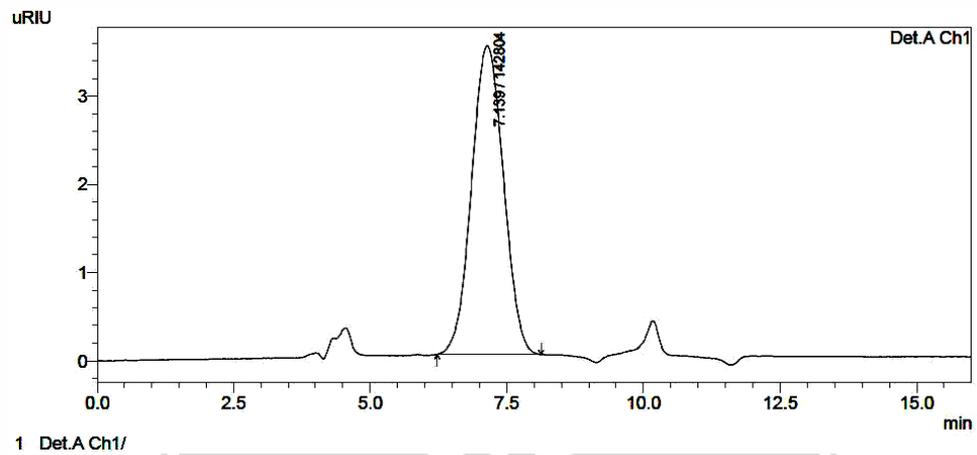
- Aditya, P. Arly. Studi Pendahuluan Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisis Sekam Padi (*Oryza sativa L.*) Dengan Menggunakan Enzim Xilanase Dari *Trichoderma Viridae* untuk Menghasilkan D-Xilosa Sebagai bahan Dasar Xilitol. Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok. 2004.
- Barrera, A. M. *Xylitol production from sorghum straw hydrolysates by Debaryomyces hansenii var Hansenii NRRL Y-7426*. Session 45H, International: General (2003). , 3 Januari 2010. <http://ift.confex.com/ift/2003/techprogram/paper17928.htm>
- Ceceri, Kathy. *Biology online*. 2009 <http://homebiology.blogspot.com/2009/04/01archive.html>
- Chen, Ye. *Potential of Agriculture Residues and Hay For Bioethanol Production*. University of Nebraska-Lincoln (2007). Januari 9, 2010 <http://www.springerlink.com/content/737346w831to1114/fulltext.pdf?page=1>
- deMan, John M. Kimia Makanan. Penerjemah Kosasih Padmawinata, Bandung: Penerbit ITB. 1997
- Fatmawati, Ria. Produksi Xilitol Dari Hidrolisat Hemiselulosa Jerami Padi (*Oryza sativa*) Dengan Khamir *Candida fukuyamaensis*. Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok. 2009.
- Fitrianingsih. Inventarisasi Dan Identifikasi Khamir Dari serasah Di taman Nasional Gunung Halimun. Karya Utama Sarjana Biologi. FMIPA Universitas Indonesia, Depok. 2005.
- Fessenden Ralph.J., Fessenden Joan S. Kimia Organik edisi ketiga Jilid 1-2. Penerjemah Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Penerbit Erlangga. 1999
- Gramström, Tom Birger; Izumori, Ken; Leisola, Matti. "A rare sugar xylitol part I: The Biochemistry and Biosynthesis of Xylitol". Springer Appl microbial biotechnol (2007) 74: 277-281
- Harorne, J.B. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro, penerjemah) (Cetakan Ke-2). 1996. Bandung: Penerbit ITB.

- Holme, David J; Peck, Hazel. *Analytical Biochemistry* 3rd edition. England: Pearson Education. 1998
- Hunt, Andrew. *Complete A-Z Chemistry Handbook 3rd Edition*. London: Green Gate Publishing Services. 2007
- Kumar, K.J Yashavantha. *Sorghum*. Departement of Geneties and Plant Breeding-Agricultural College, UAS, Dharwad. Januari 9, 2010
<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?454806>
- Kulman J., Roehm K. *Color Atlas of Biochemistry, 2nd Edition*. New York: Thieme.2005.
- Lehninger, Albert L. Dasar-dasar Biokimia (jilid 1-3). Penerjemah Maggy Thenawijaya. Jakarta: Penerbit Erlangga. 1982
- Metzler, David E. *Biochemistry the Chemical Reactions of Living Cells 2nd Edition*. Elsevier Academic Press
- Mikkelsen, Susan R; Corton, Eduardo. *Bioanalytical Chemistry*. New-Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 2004
- Miller. James E. *Batch Microreactor Studies of Lignin Depolymerization by Bases.2. Aqueous Solvents*. California: Sandia National Laboratories. 2002
- Mulja, Muhammad; Suharman: Analisis Instrumental. Surabaya: Airlangga University Press. 1995
- Murray K.Robert. *Harper's Illustrated Biochemistry*. USA: The Mc Graw-Hill Companies. 2003
- Murray.Seth C. *Sweet Sorghum Genetic Diversity and Association Mapping for Brix and Height*. The Plant Genome Vol 2, No 1, 2008. 48-62
- Oh. D-K, Kim. S-Y. "Increase of Xylitol Yield by Feeding Xilose and Glucose in *Candida Tropicalis*". Appl Microbial Biotechnol (1998) 50: 419-425
- Poedjiadi, A. & Supriyanti, T. Dasar-Dasar Biokimia (Edisi Revisi). Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). 2006

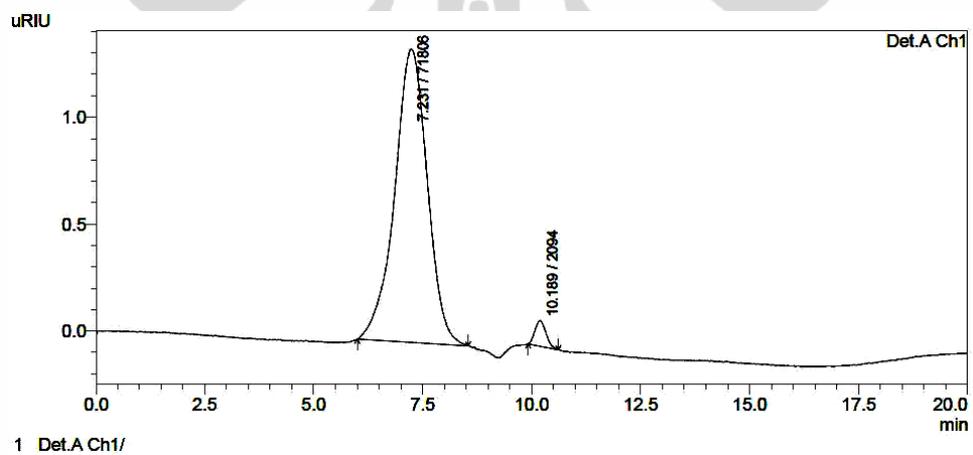
- Ramirez, J.A. “*Production of Xylitol on Detoxified by Hidrolysates of Sorghum Straw by Candida Parapsilosis*”. IFT Annual Meeting July 15-20 (2005 st. New Orleans, Louisiana.) 3 Januari 2010
http://ift.confex.com/2005/techprogram/paper_28826.htm
- Riki. Seleksi Berbagai Spesies Khamir Untuk Menghasilkan Xilitol Menggunakan Bahan Dasar D-Xilosa. Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok. 2008.
- Ritter, Stephen K. *Lignocellulose: A Complex Biomaterial*. 2008 Volume 86, Number 49, p. 15. 30 Mei 2010 <http://pubs.acs.org/cen/coverstory/86/8649cover2.html>,
- Sjöström, Eero. Kimia Kayu: Dasar-Dasar dan Penggunaan Edisi Kedua. Penerjemah Hardjono Sastrohamidjojo, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. 1995
- Suharni, Theresia Tri; Nastiti, S. Juni; Soetarto A. Endang Sutariningsih. Mikrobiologi Umum. Yogyakarta: Universitas Atma Jaya. 2008
- U.S Grains Council. *Sorghum Handbook*. Januari 8, 2010.
<http://www.grains.org/images/stories/technicalpublications/sorghum-handbook.pdf>
- Utama, Hendra. Biokimia Dasar B.(Cetak Ulang ke-7). Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2006
- Yulianto.Adi Wisnu. Peranan Kosubtrat Dalam Metabolisme Xilosa dan Produksi Xilitol Oleh *Candida shehatae* WAY 08. Yogyakarta:UGM
- Wilbraham, Antony C & Matta, Michael S. Pengantar Kimia Organik dan Hayati. Penerjemah, Suminar Achmadi. Bandung : Penerbit ITB. 1992
- Winarno, F.G. Kimia Pangan dan Gizi. (Edisi terbaru). Bogor: M-Brio Press. 2008

Larutan Standar Xilosa

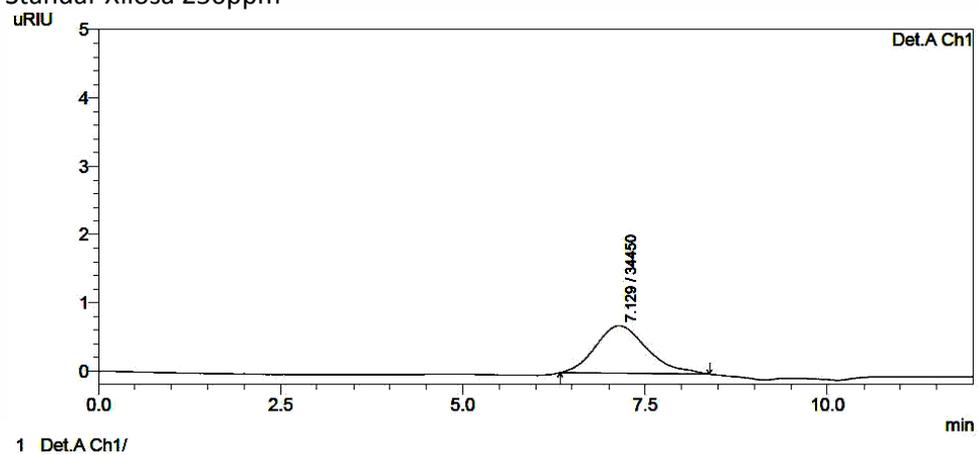
1. Larutan Standar Xilosa 1000ppm



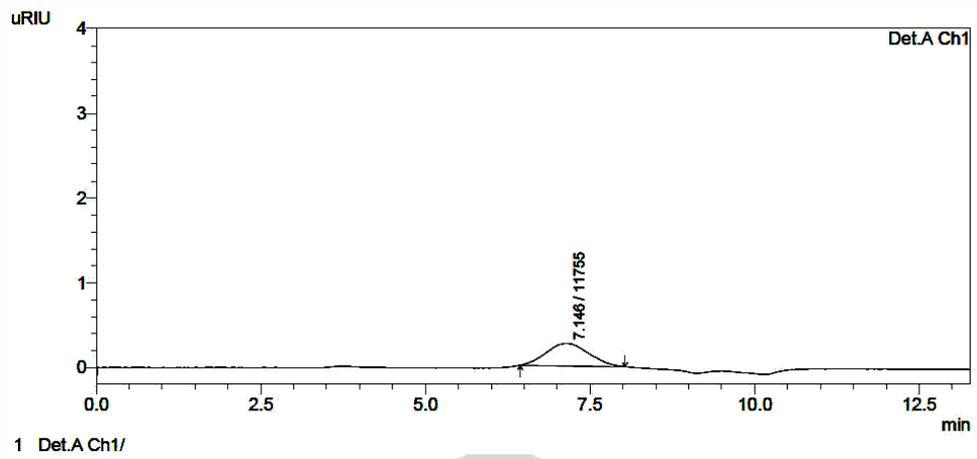
2. Larutan Standar Xilosa 500ppm



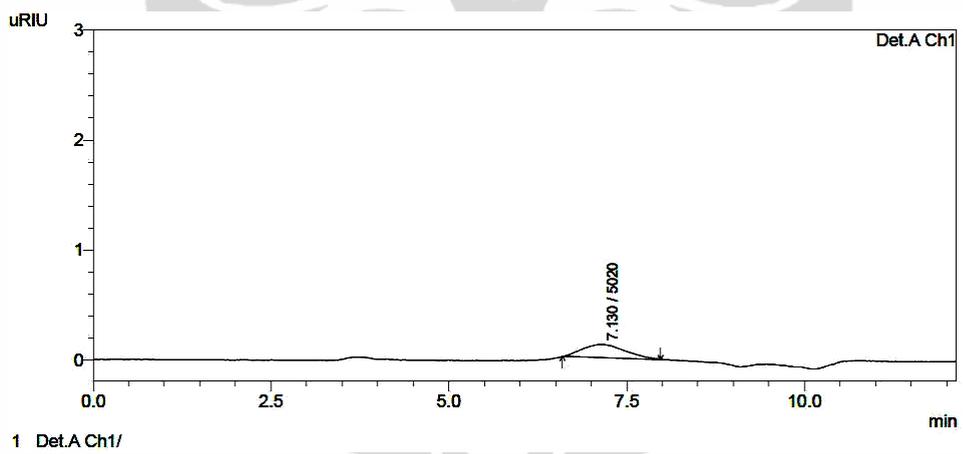
3. Larutan Standar Xilosa 250ppm



4. Larutan Standar Xilosa 100ppm

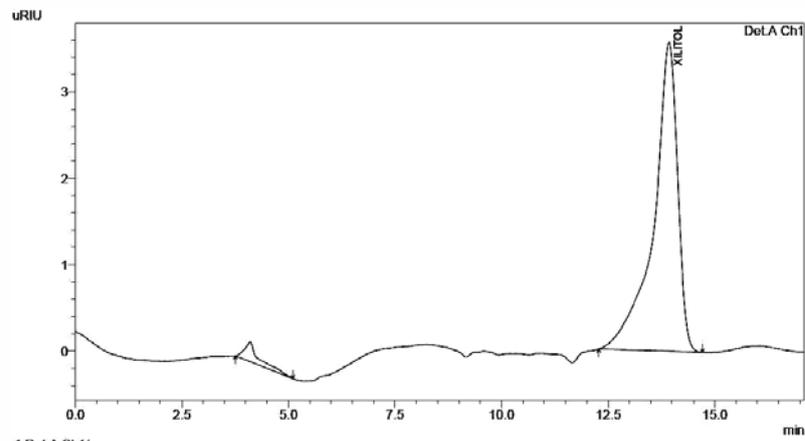


5. Larutan Standar Xilosa 50ppm

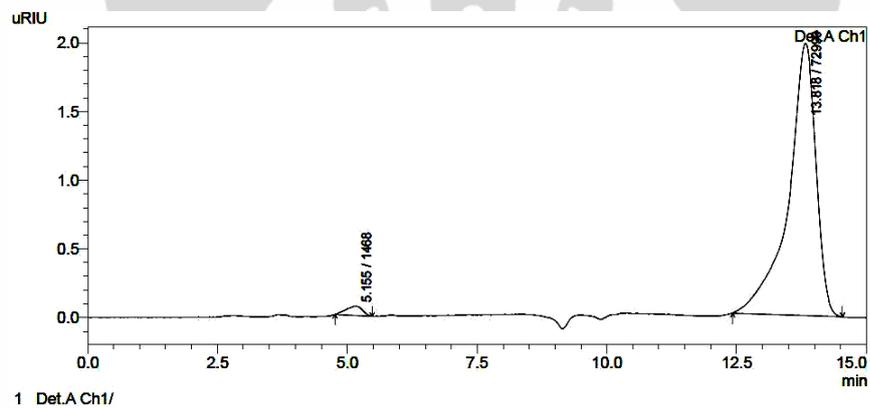


Larutan Standar Xilitol

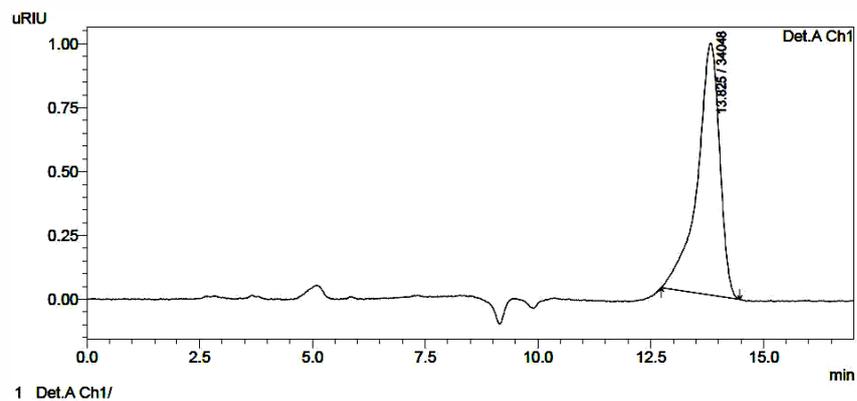
1. Larutan Standar Xilitol 1000 ppm



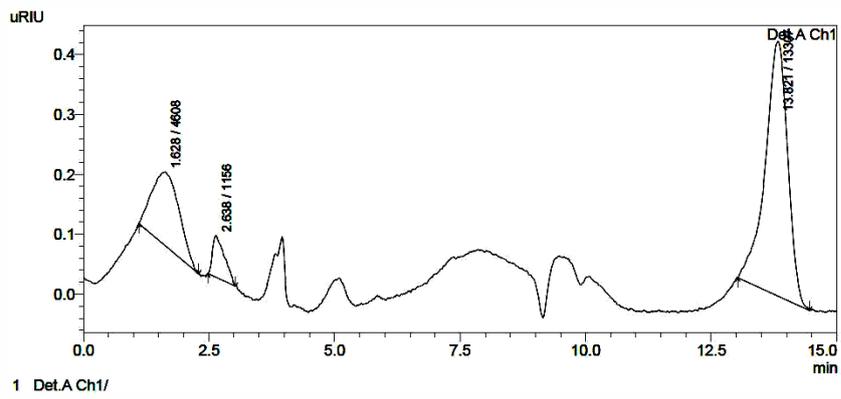
2. Larutan standar xilitol 500ppm



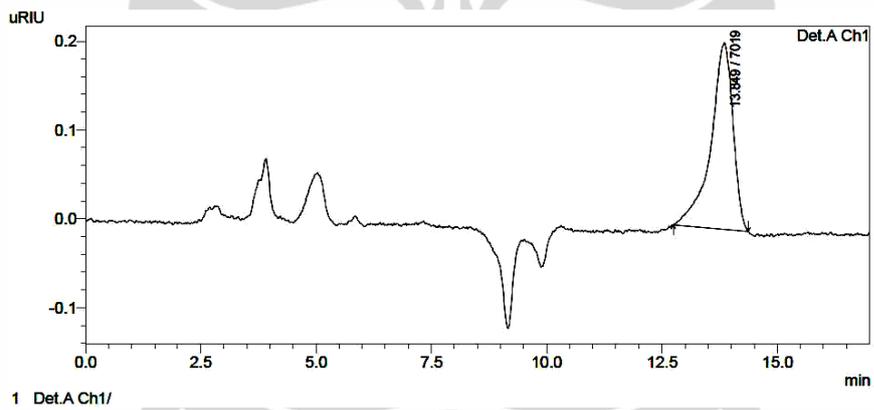
3. Larutan Standar Xilitol 250ppm



4. Larutan Standar Xilitol 100ppm

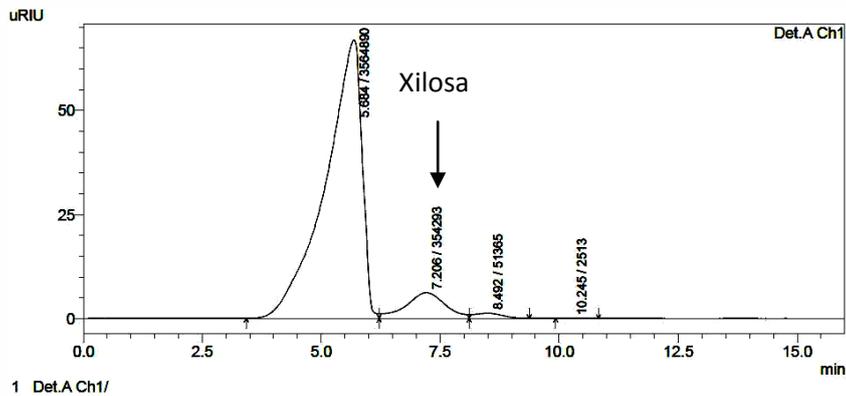


5. Larutan Standar Xilitol 50ppm

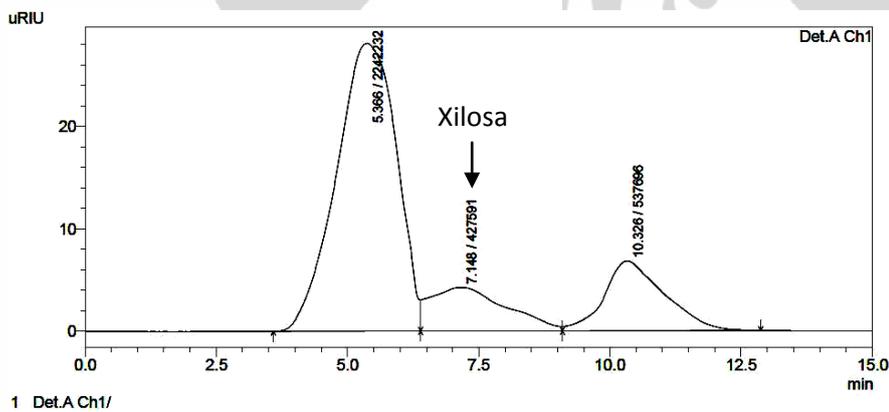


Kromatogram Hidrolisat Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Variasi Waktu Hidrolisis

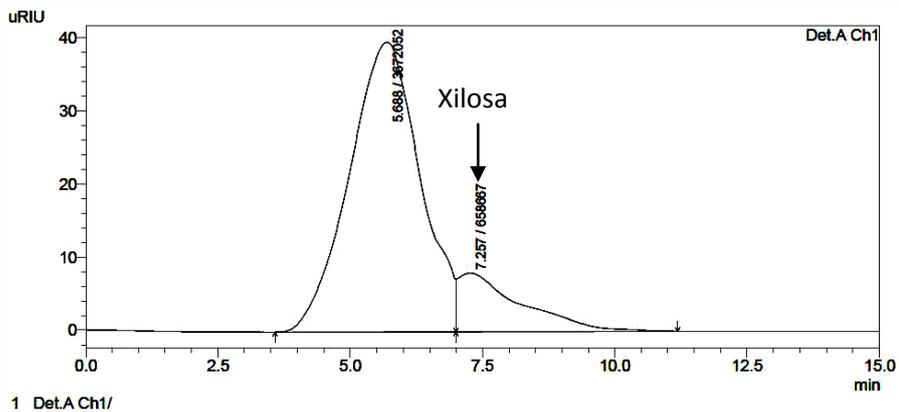
1. Waktu Hidrolisis 25 menit



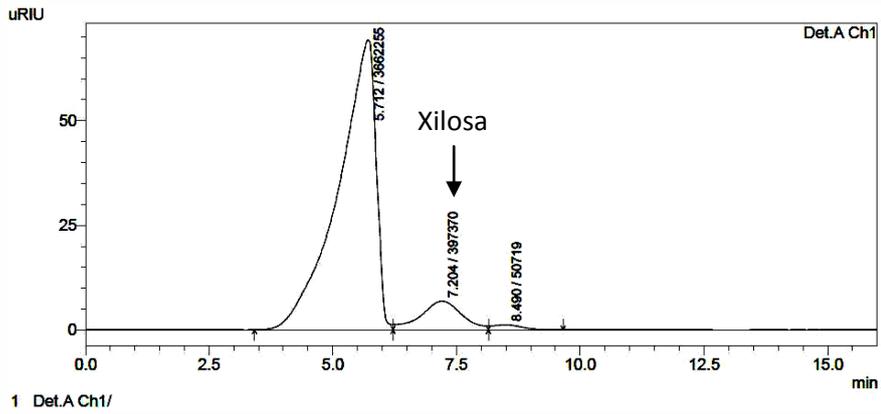
2. Waktu Hidrolisis 30 menit



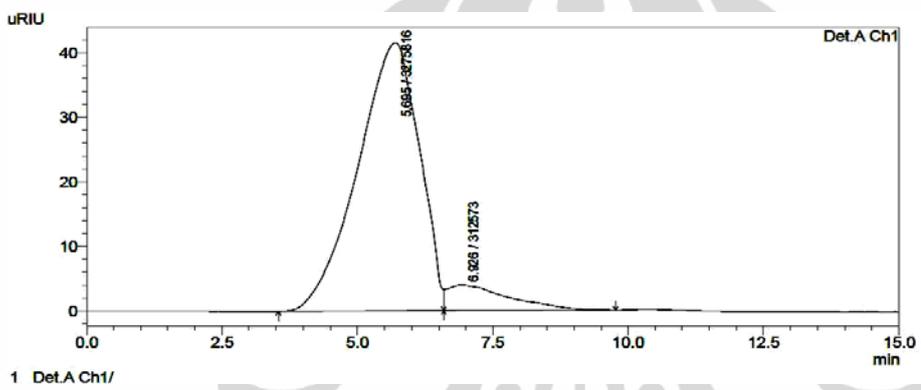
3. Waktu Hidrolisis 35 menit



4. Waktu Hidrolisis 40 menit

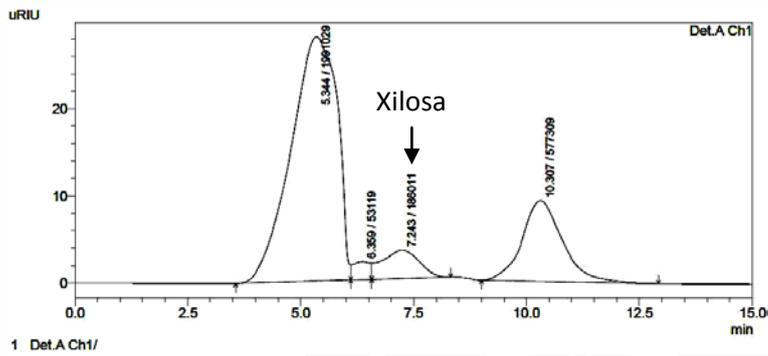


5. Waktu Hidrolisis 45 menit

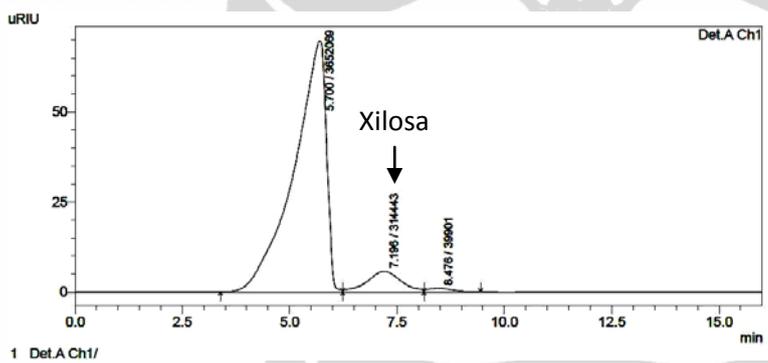


Kromatogram Hidrolisat Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Variasi Waktu Hidrolisis

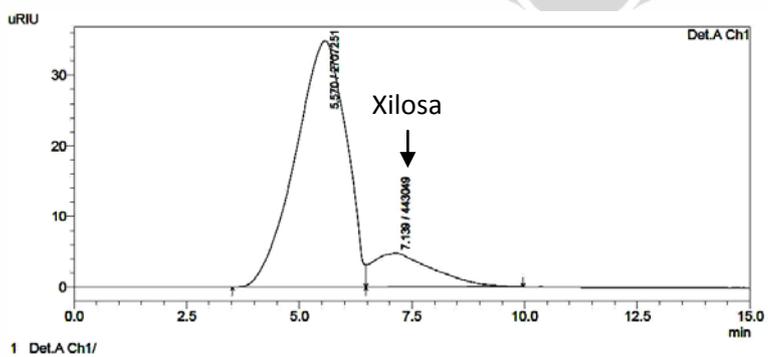
1. Waktu Hidrolisis 25 menit



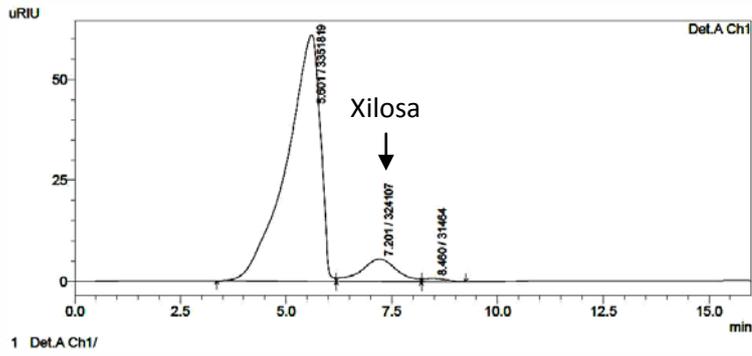
2. Waktu Hidrolisis 30 menit



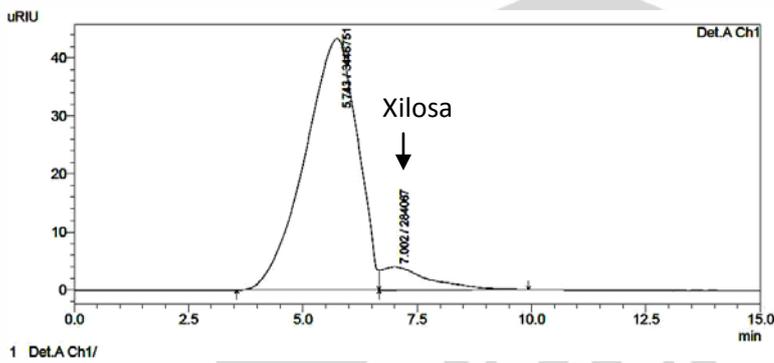
3. Waktu Hidrolisis 35 menit



4. Waktu Hidrolisis 40 menit

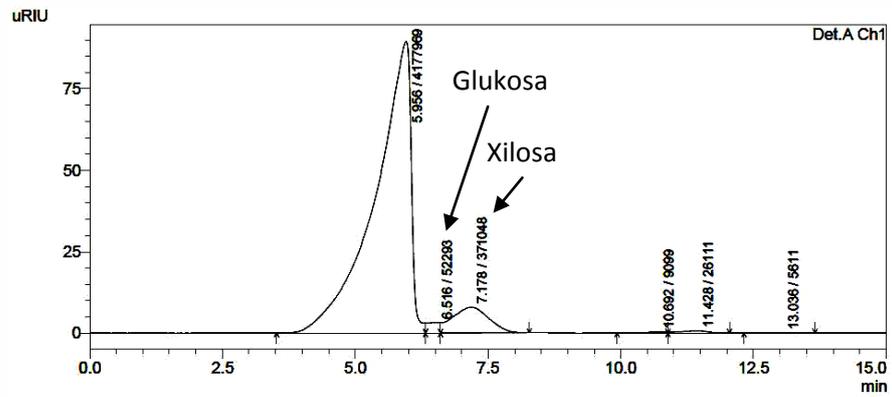


5. Waktu Hidrolisis 45 menit

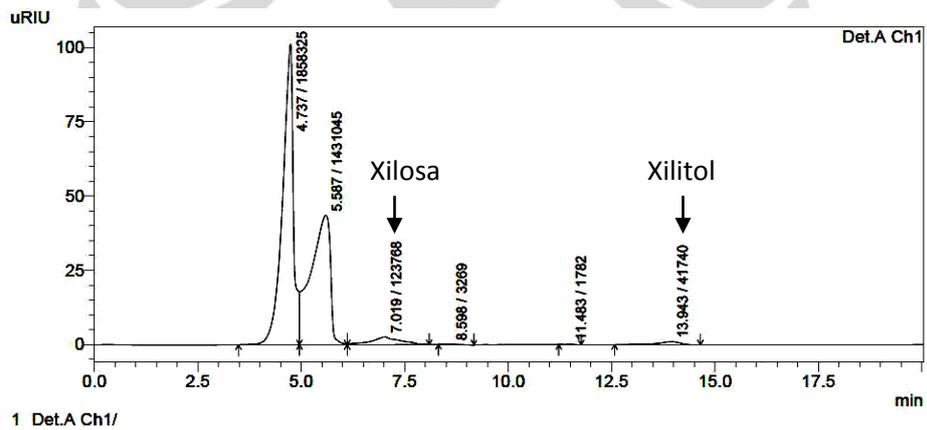


Hasil Optimasi Waktu Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33

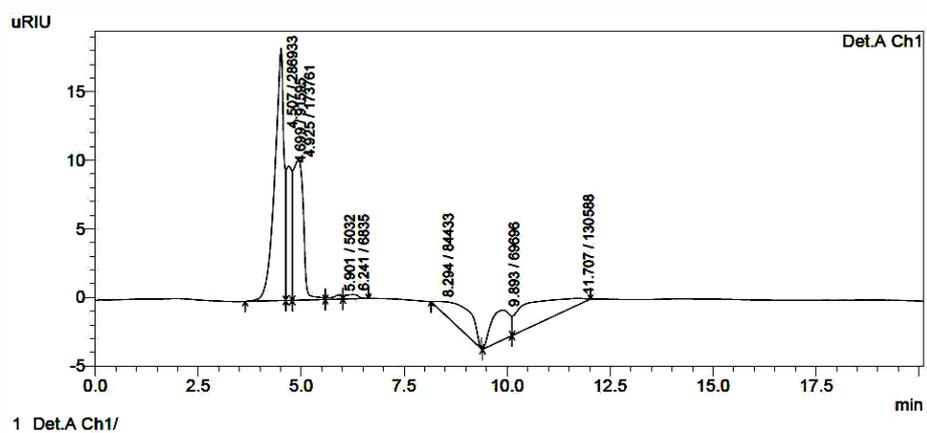
1. Waktu fermentasi 0 jam



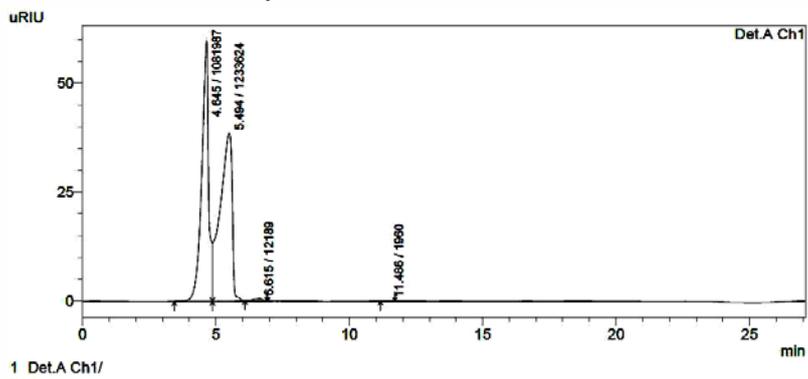
2. Waktu fermentasi 12 jam



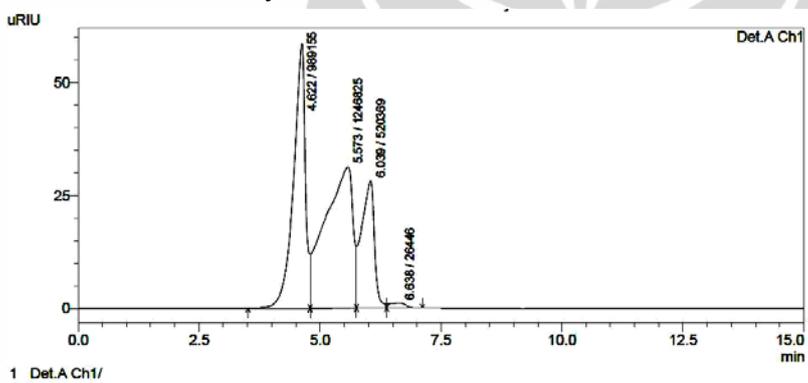
3. Waktu fermentasi 24 jam



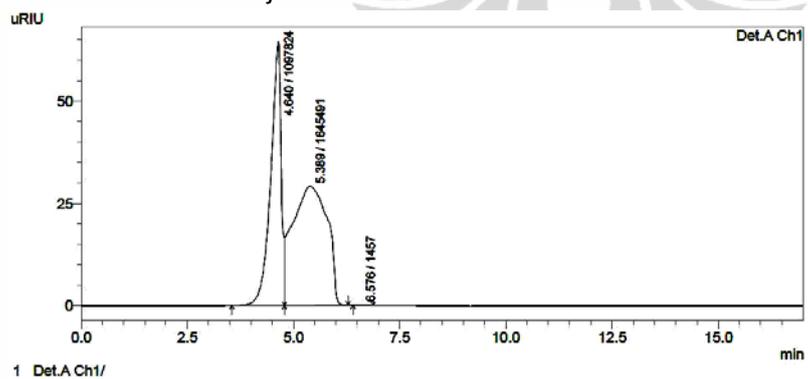
4. Waktu fermentasi 36 jam



5. Waktu fermentasi 48 jam

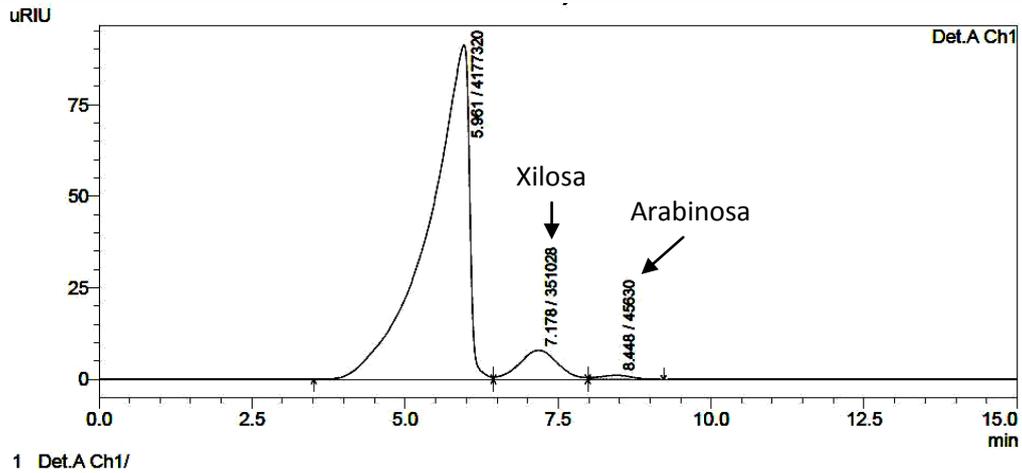


6. Waktu fermentasi 60 jam

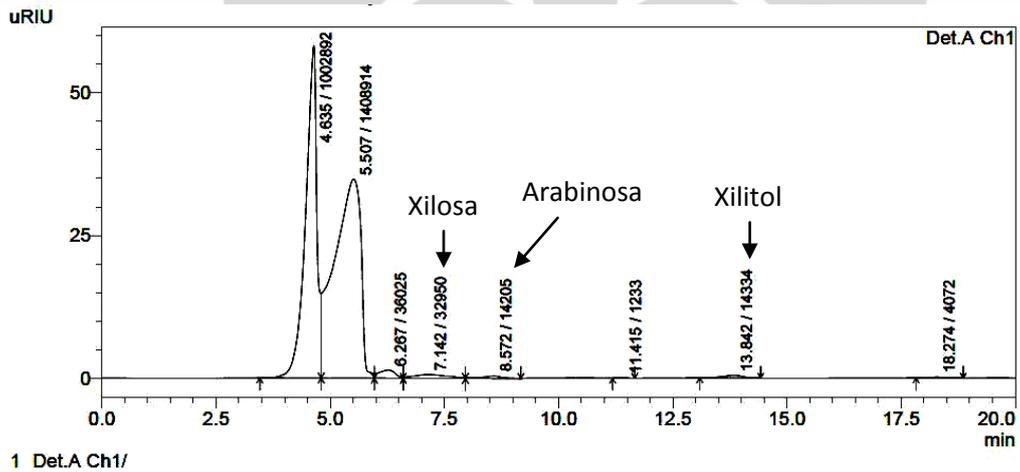


Hasil Optimasi Waktu Fermentasi Batang Sorgum manis CTY-33

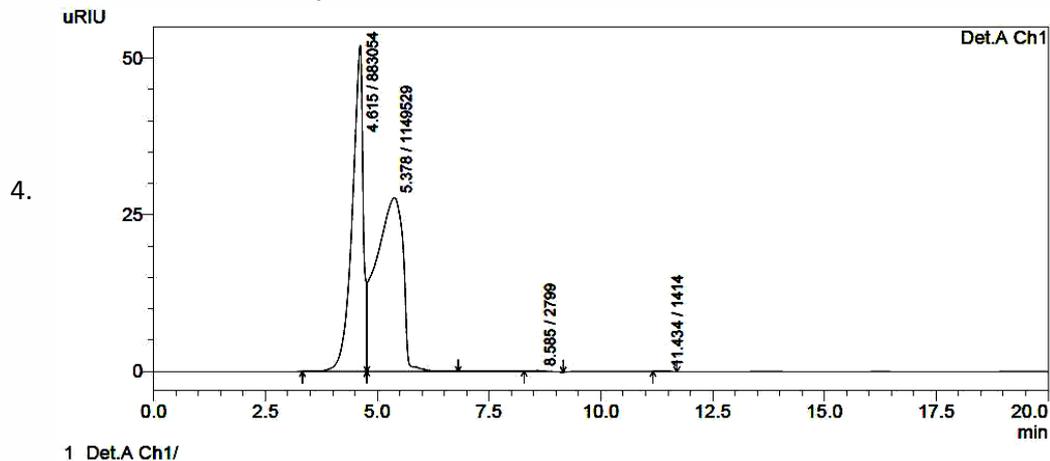
1. Waktu fermentasi 0 jam

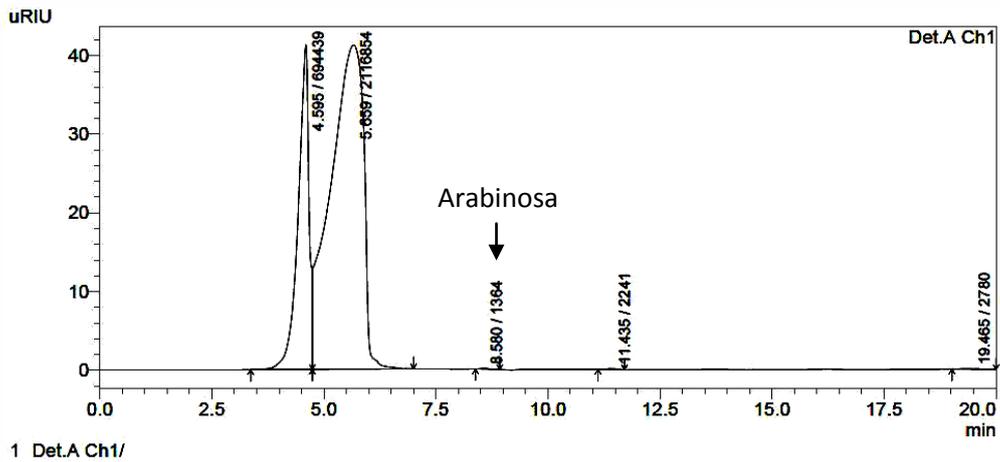


2. Waktu fermentasi 12 jam

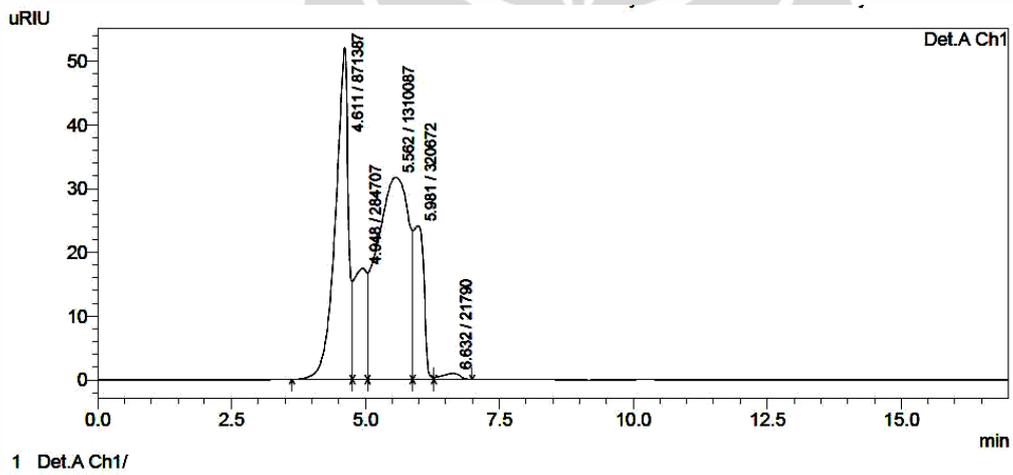


3. Waktu fermentasi 24 jam

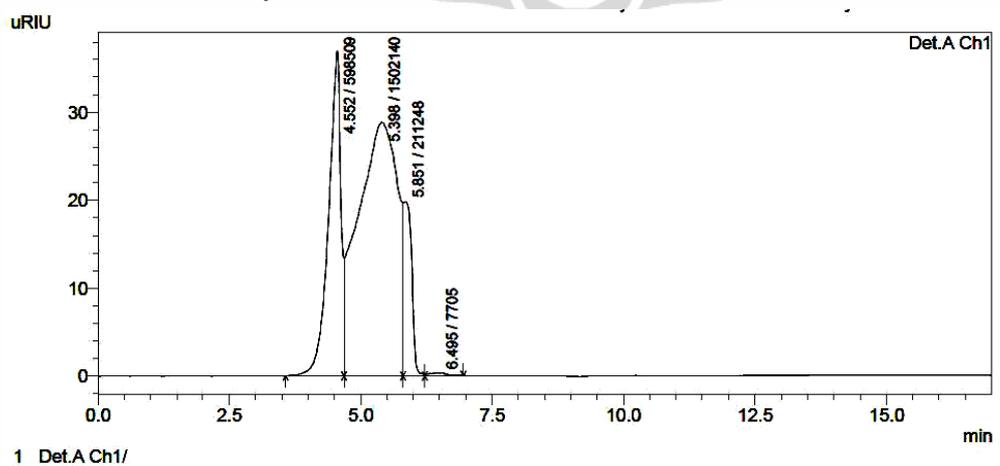




5. Waktu fermentasi 48 jam



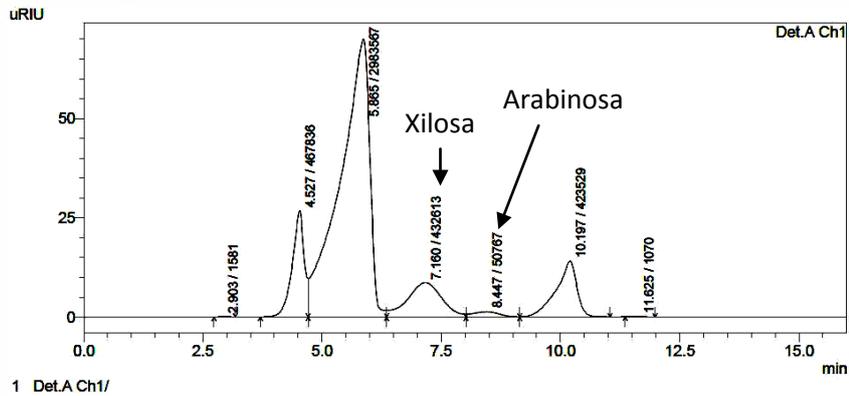
6. Waktu fermentasi 60 jam



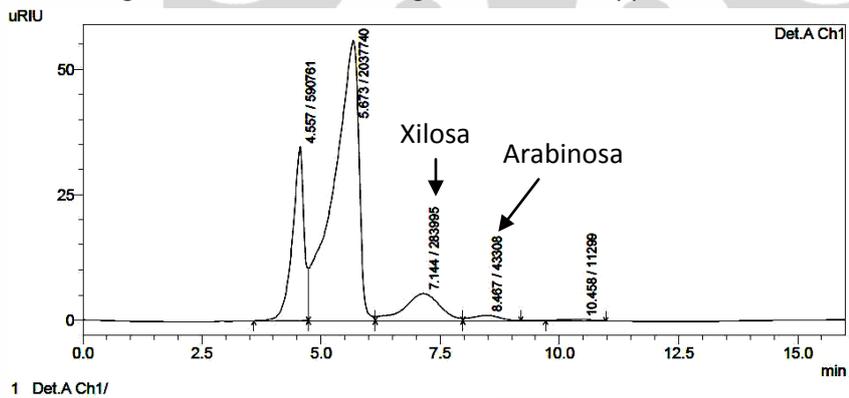
Hasil Fermentasi Malai Sorgum Manis CTY-33

1. Waktu Fermentasi 0 jam

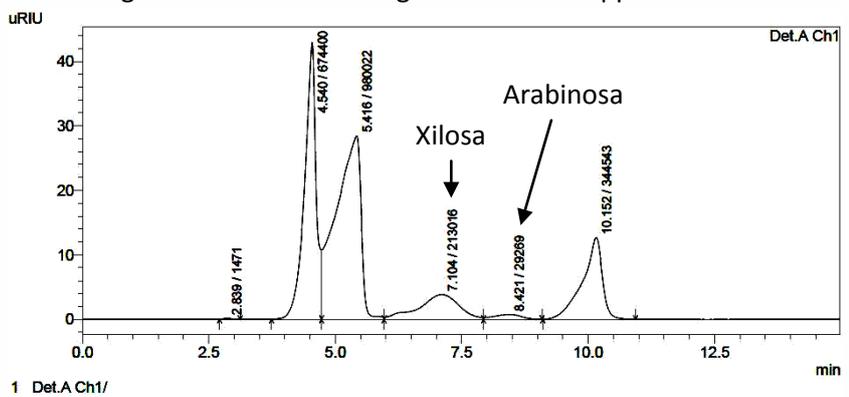
a. Malai Sorgum Manis CTY-33



b. Malai Sorghum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm

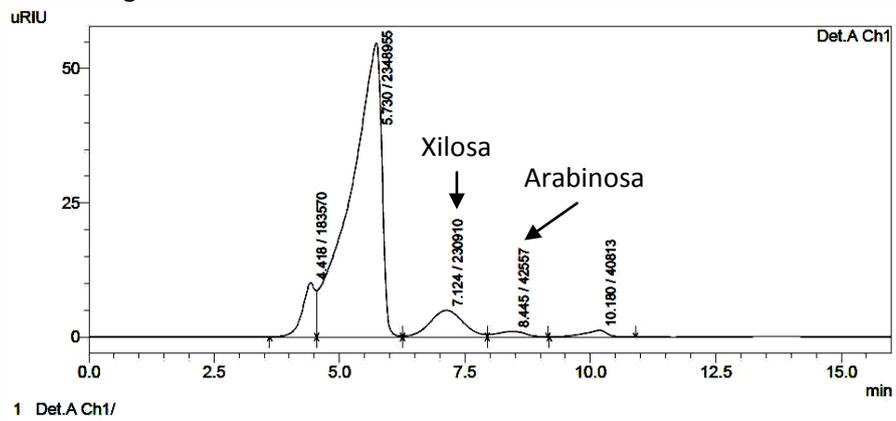


c. Malai Sorghum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm

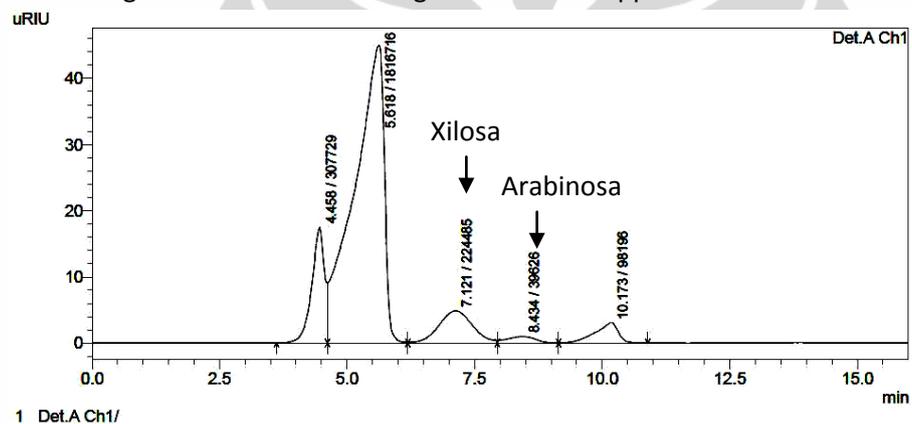


2. Waktu Fermentasi 6 jam

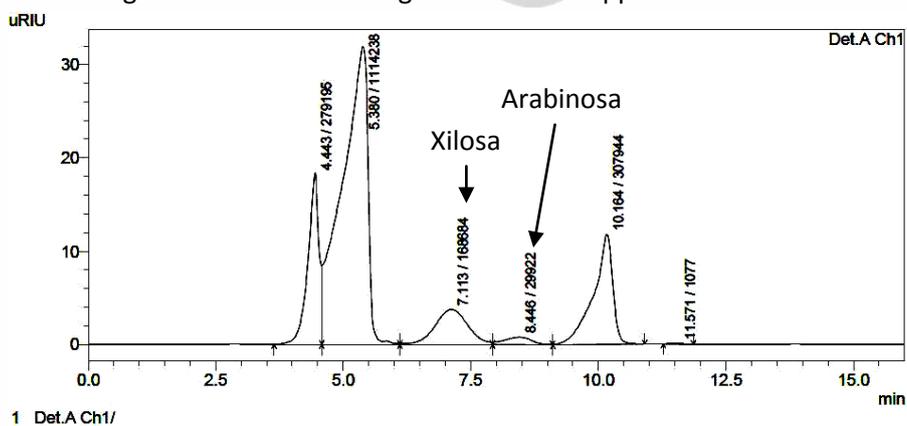
a. Malai Sorgum Manis CTY-33



b. Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm

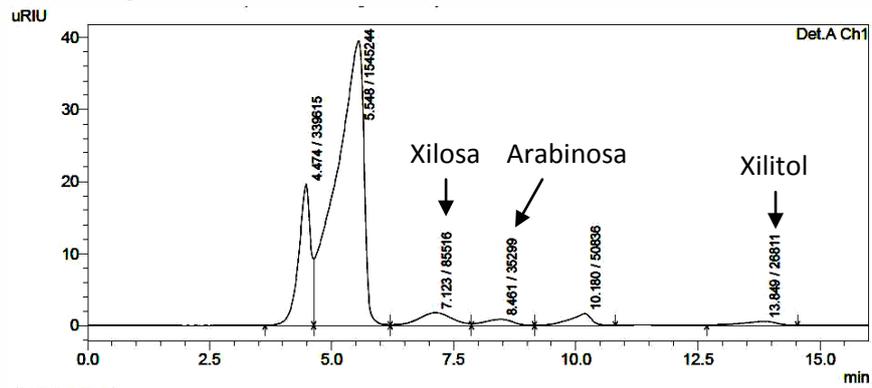


c. Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm



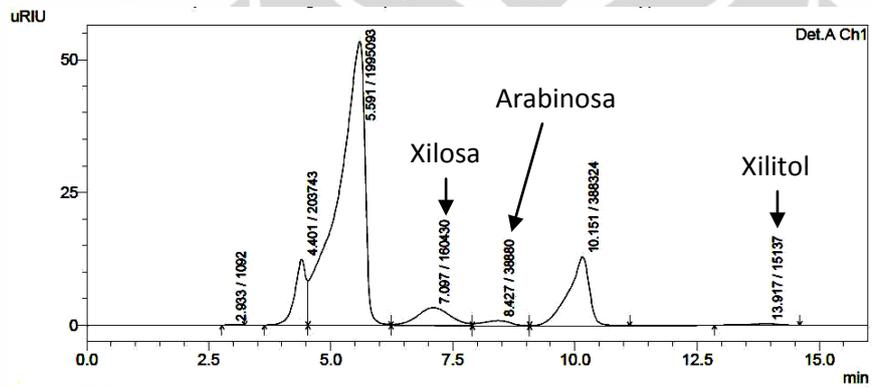
3. Waktu fermentasi 12 jam

a. Malai Sorgum Manis CTY-33



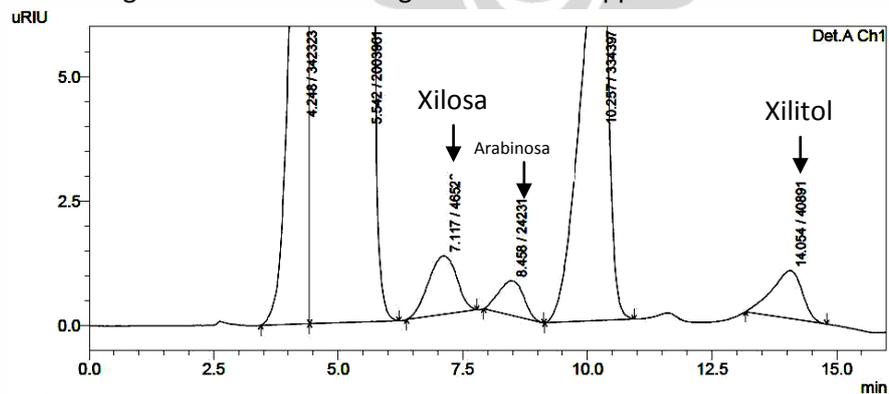
1 Det.A Ch1/

b. Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm



1 Det.A Ch1/

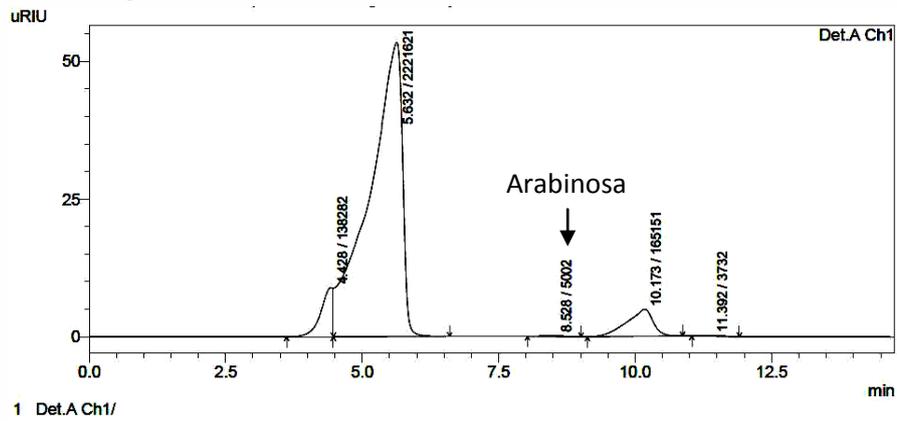
c. Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm



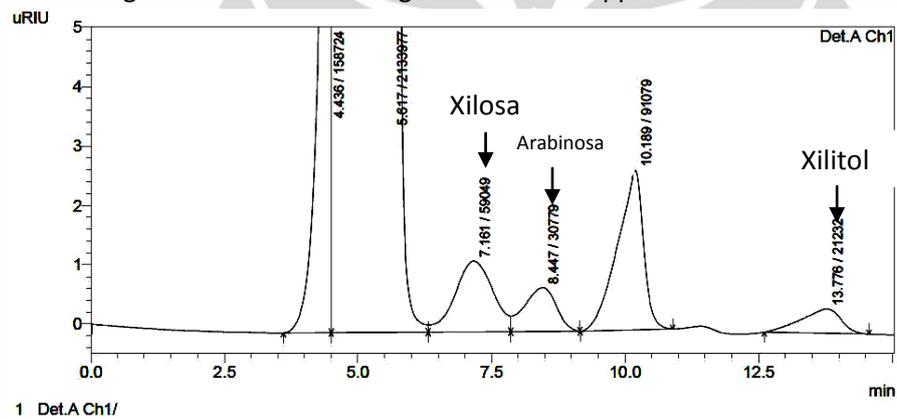
1 Det.A Ch1/

4. Waktu fermentasi 18 jam

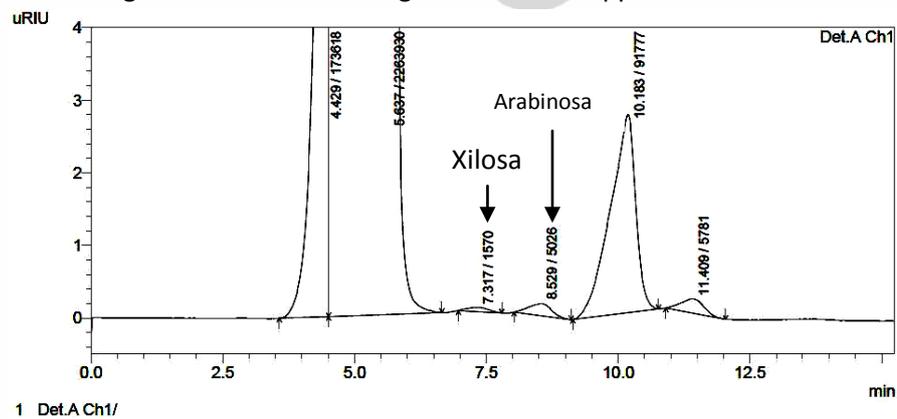
a. Malai Sorgum Manis CTY-33



b. Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm

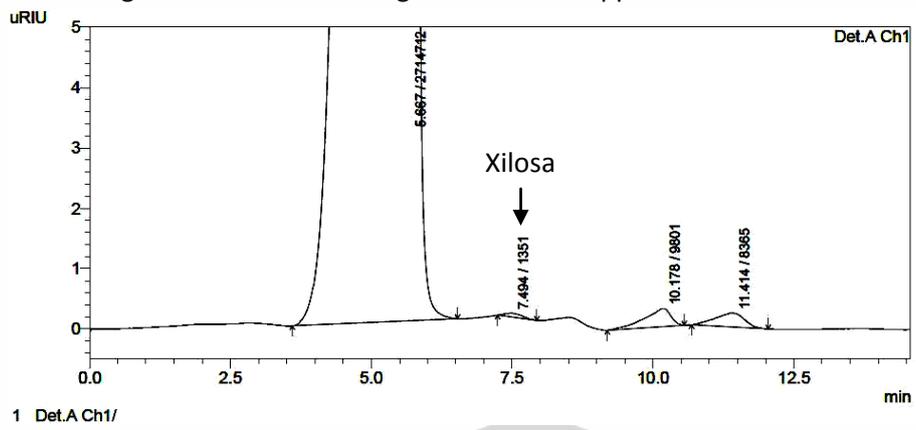


c. Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm



5. Waktu fermentasi 24 jam

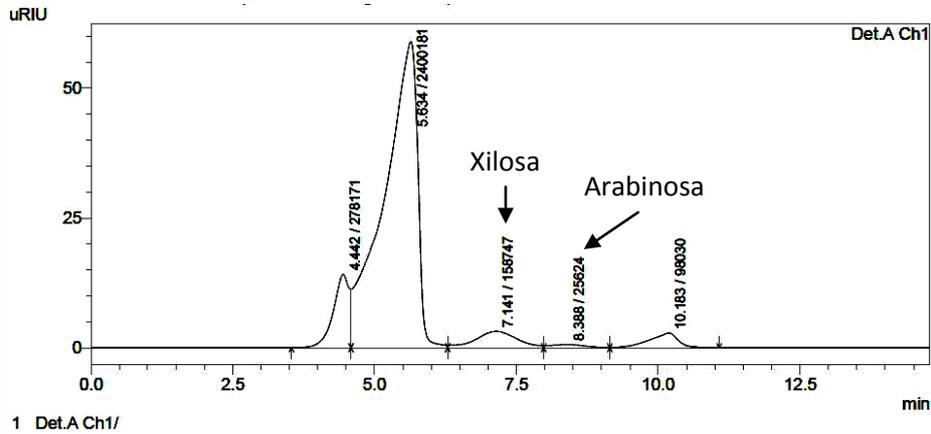
a. Malai Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm



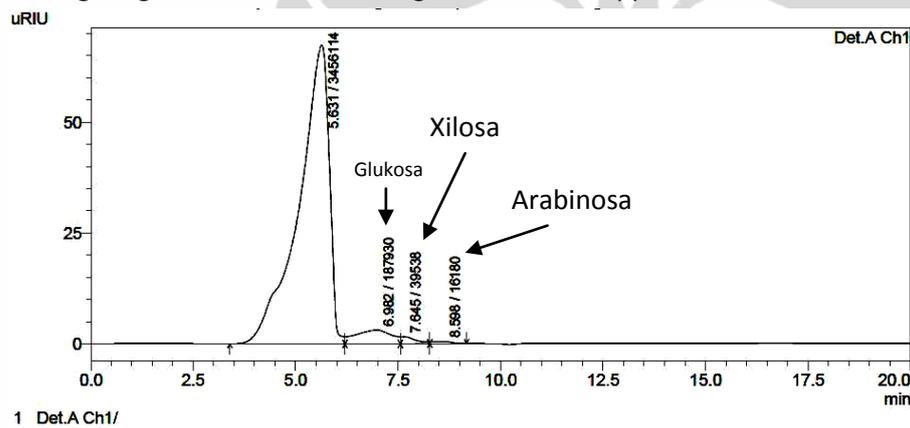
Hasil Fermentasi Batang Sorgum Manis CTY-33

1. Waktu Fermentasi 0 jam

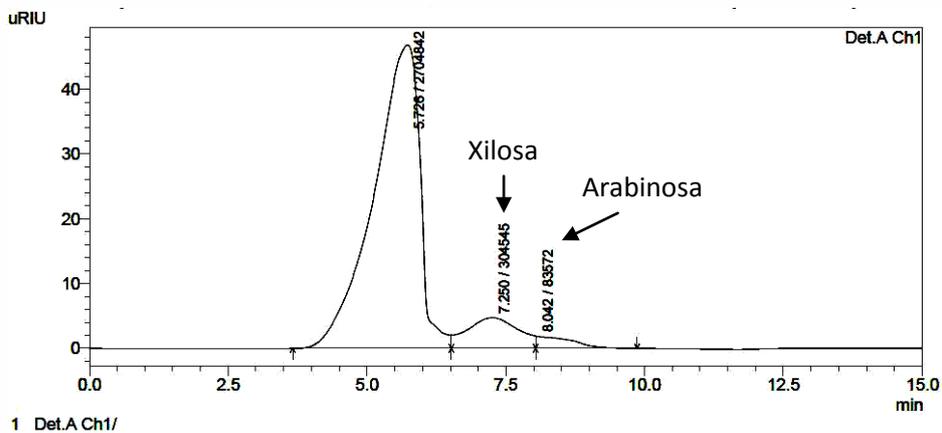
a. Batang Sorgum Manis CTY-33



b. Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm

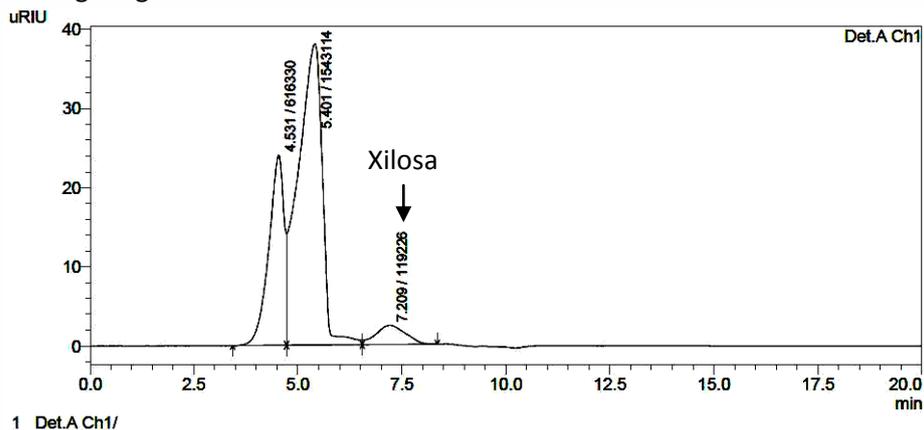


c. Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm

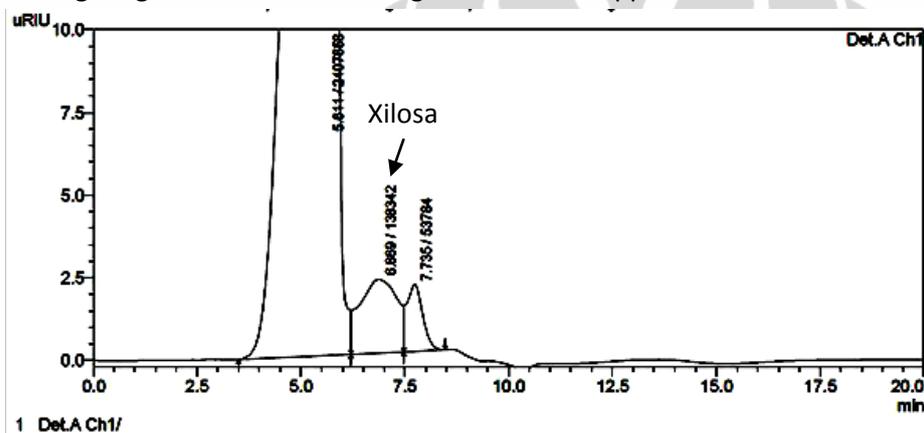


2. Waktu Fermentasi 6 jam

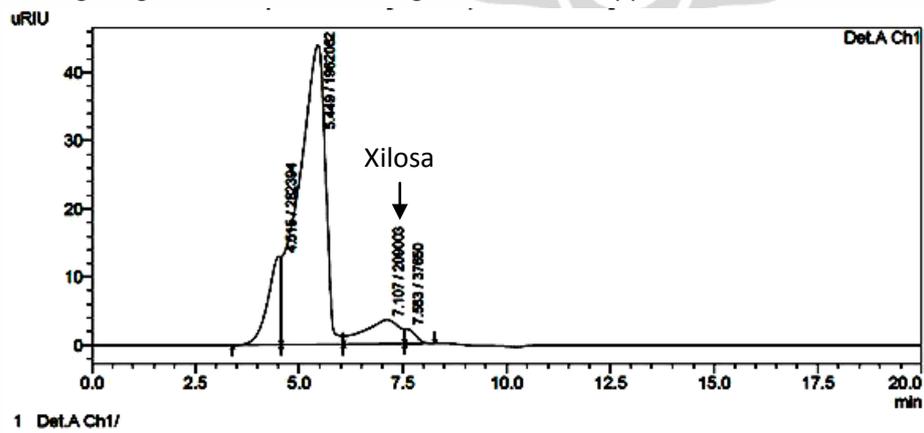
a. Batang Sorgum Manis CTY-33



b. Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm

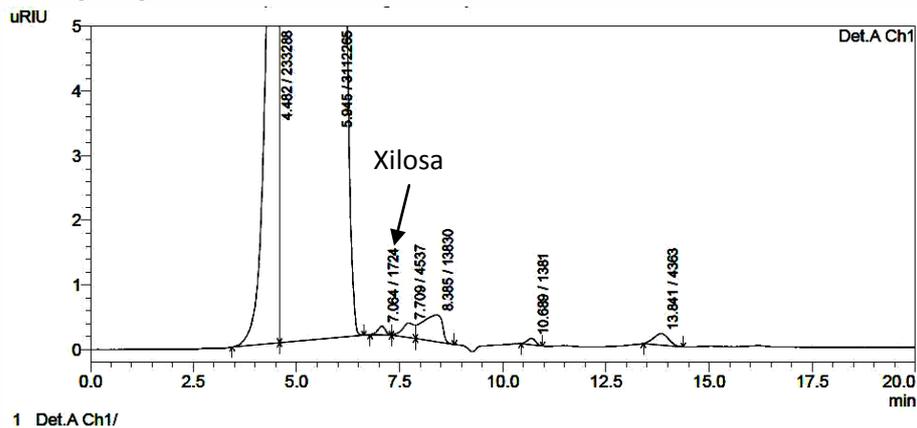


c. Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm

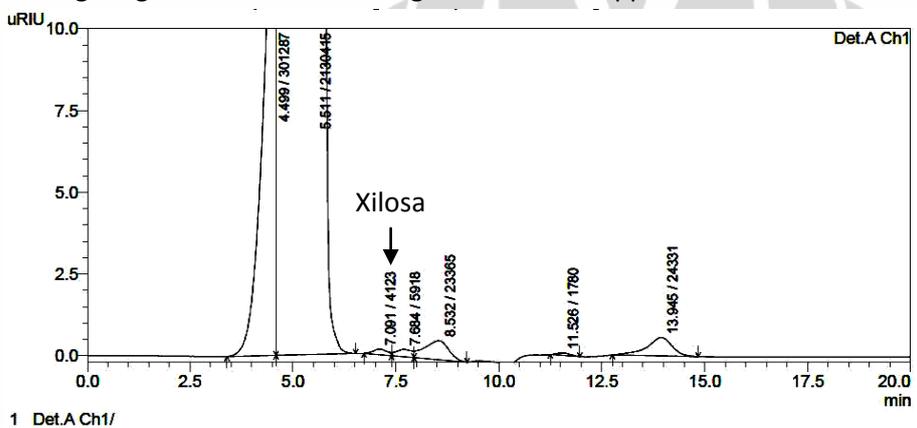


3. Waktu Fermentasi 12 jam

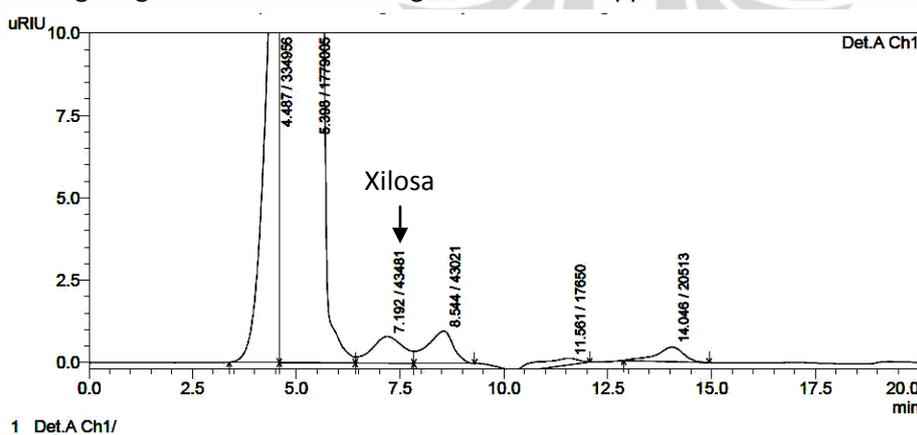
a. Batang Sorgum Manis CTY-33



b. Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm

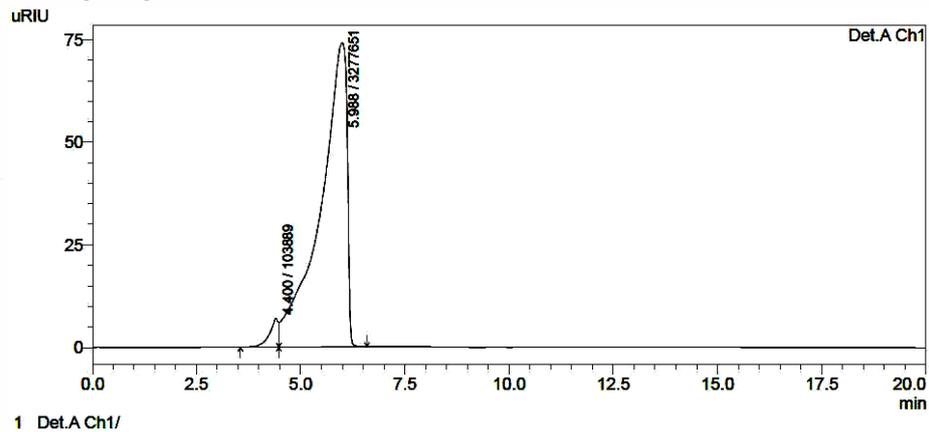


c. Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm

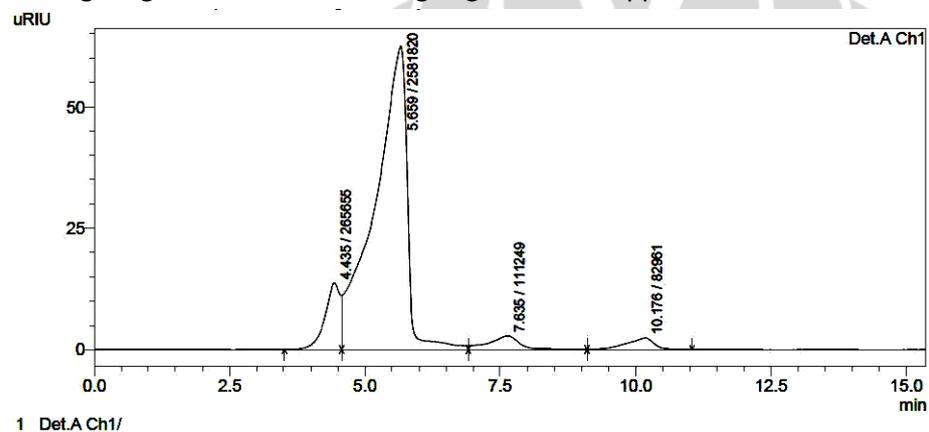


4. Waktu Fermentasi 18 jam

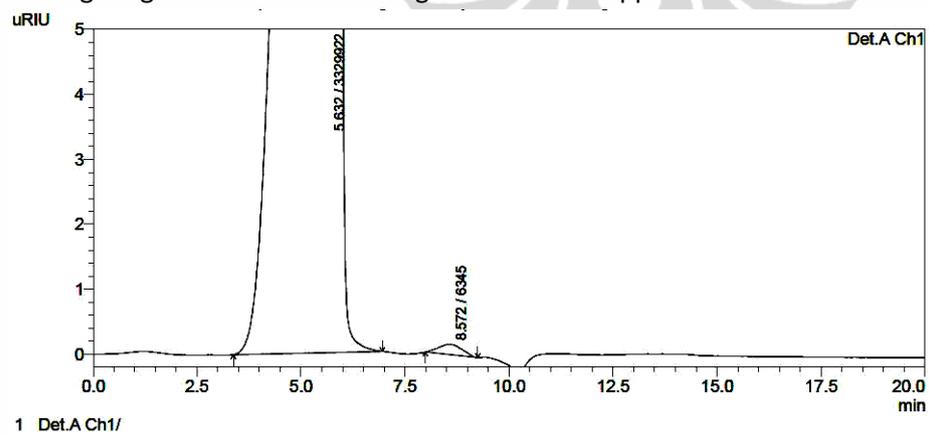
a. Batang Sorghum Manis CTY-33



b. Batang Sorghum Manis CTY-33 dengan gGukosa 150 ppm

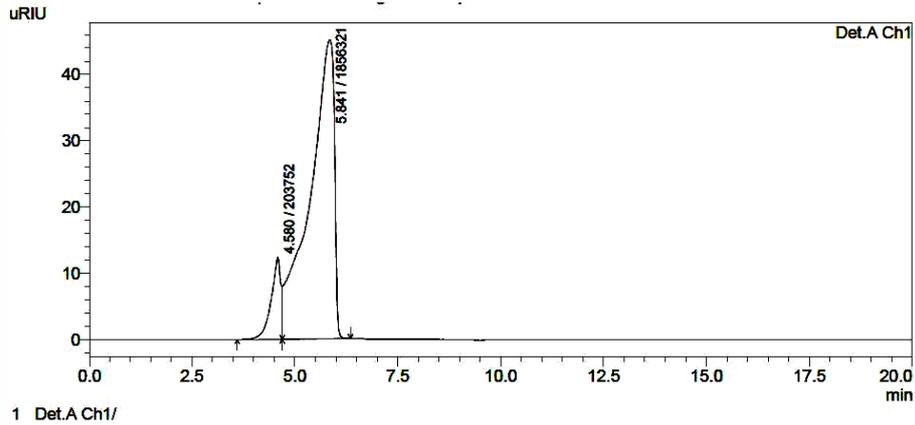


c. Batang Sorghum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm

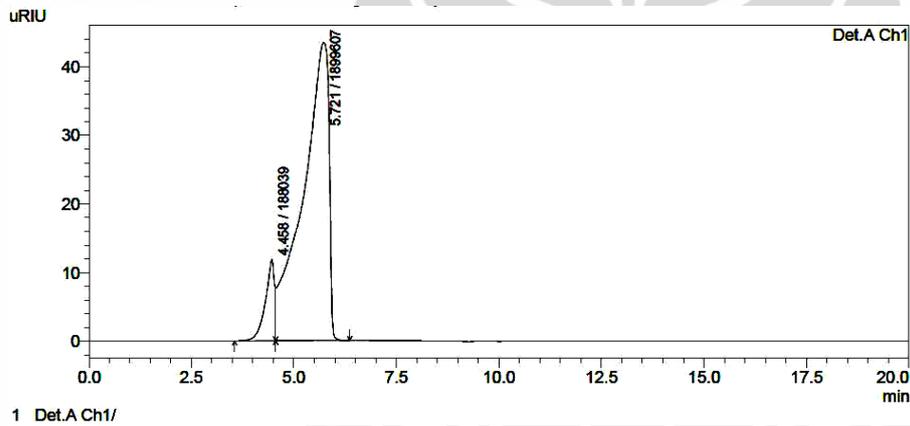


5. Waktu fermentasi 24 jam

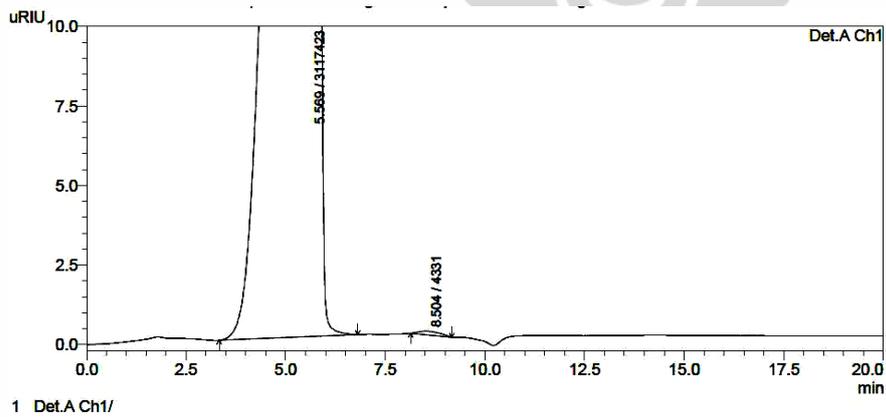
a. Batang Sorgum Manis CTY-33



b. Batang Sorgum Manis CTY-33 dengan Glukosa 150 ppm

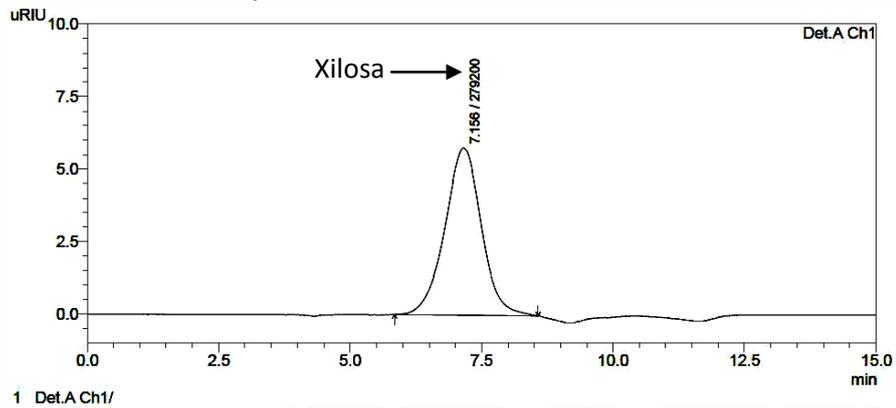


c. Batang Sorghum Manis CTY-33 dengan Glukosa 300 ppm

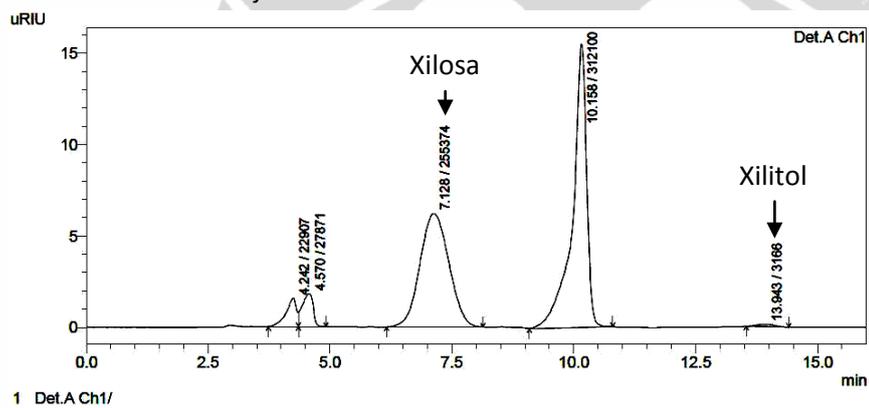


Fermentasi Xilosa Murni

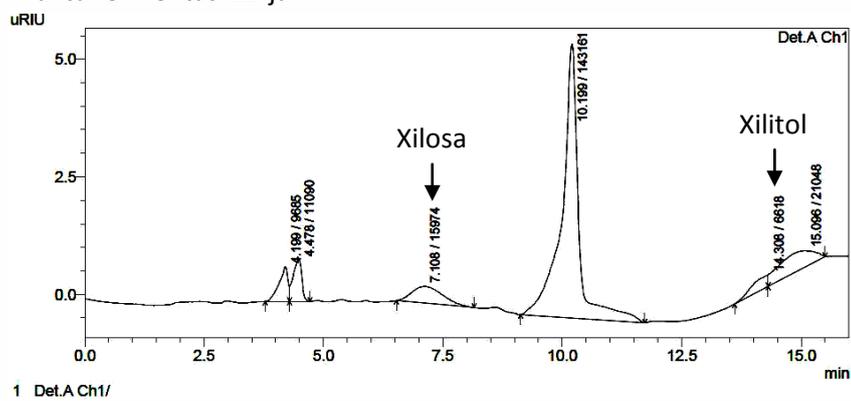
1. Waktu fermentasi 0 jam



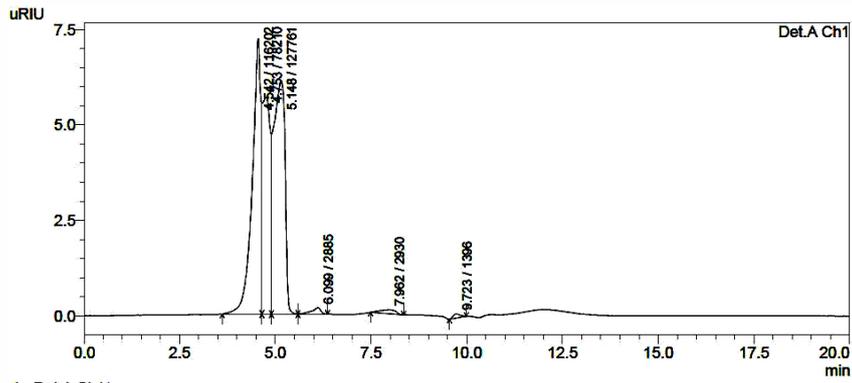
2. Waktu fermentasi 6 jam



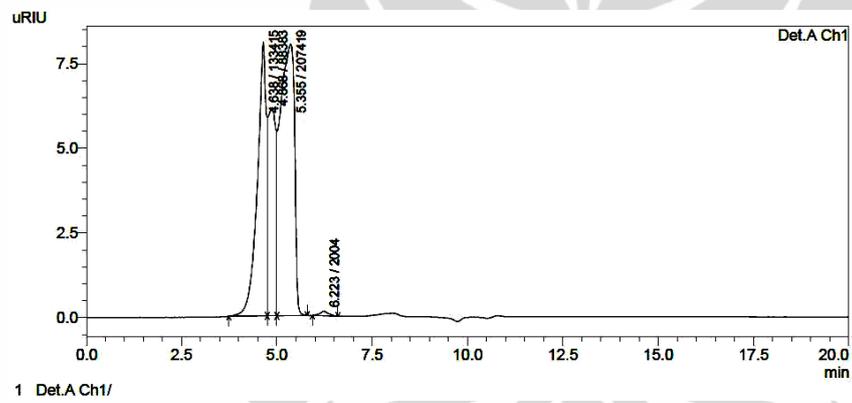
3. Waktu fermentasi 12 jam



4. Waktu fermentasi 18 jam



5. Waktu fermentasi 24 jam



Persentase Konversi Xilosa dalam Malai menjadi Xilitol

Data Fermentasi Malai Sorghum Manis CTY-33

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa (ppm)	Kadar Xilosa (mg/50 ml)	Kadar Xilitol (ppm)	Kadar Xilitol (mg/50 ml)	%Konversi Xilosa menjadi Xilitol
0	2.988,05	149,40	-	-	-
6	1.601,68	80,08	ttd	ttd	-
12	602,34	30,12	26,81	9,55	12,62
18	ttd	ttd	ttd	ttd	-

Data Fermentasi Malai Sorghum Manis CTY-33 + Glukosa 150 ppm

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa (ppm)	Kadar Xilosa (mg/50 ml)	Kadar Xilitol (ppm)	Kadar Xilitol (mg/50 ml)	%Konversi Xilosa menjadi Xilitol
0	1.966,55	98,33	-	-	-
6	1.552,71	77,64	ttd	ttd	-
12	1.117,25	55,86	108,08	5,40	10,84
18	420,42	21,02	151,41	7,57	15,19
24	23,84	1,19	ttd	ttd	-

Data Fermentasi Malai Sorghum Manis CTY-33 + Glukosa 300 ppm

Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Xilosa (ppm)	Kadar Xilosa (mg/50 ml)	Kadar Xilitol (ppm)	Kadar Xilitol (mg/50 ml)	%Konversi Xilosa menjadi Xilitol
0	1.478,69	73,93	-	-	-
6	1.173,98	58,70	ttd	ttd	-
12	334,36	16,72	291,17	14,56	38,86
18	ttd	ttd	ttd	ttd	-

KET:

ttd = tidak terdeteksi

Persentase Konversi Xilosa dalam Batang menjadi Xilitol

Data Fermentasi Batang Sorghum Manis CTY-33

Waktu Fermentasi (Jam)	Xilosa Sisa (ppm)	Xilosa Sisa (mg/50 ml)	Xilitol (ppm)	Xilitol (mg/50 ml)	Konversi Xilosa menjadi Xilitol (%)
0	1.105,68	55,29	-	-	-
6	834,04	41,70	ttd	ttd	-
12	26,41	1,32	31,84	1,57	5,69
18	ttd	ttd	ttd	ttd	-

Data Fermentasi Batang Sorghum Manis CTY-33 + Glukosa 150 ppm

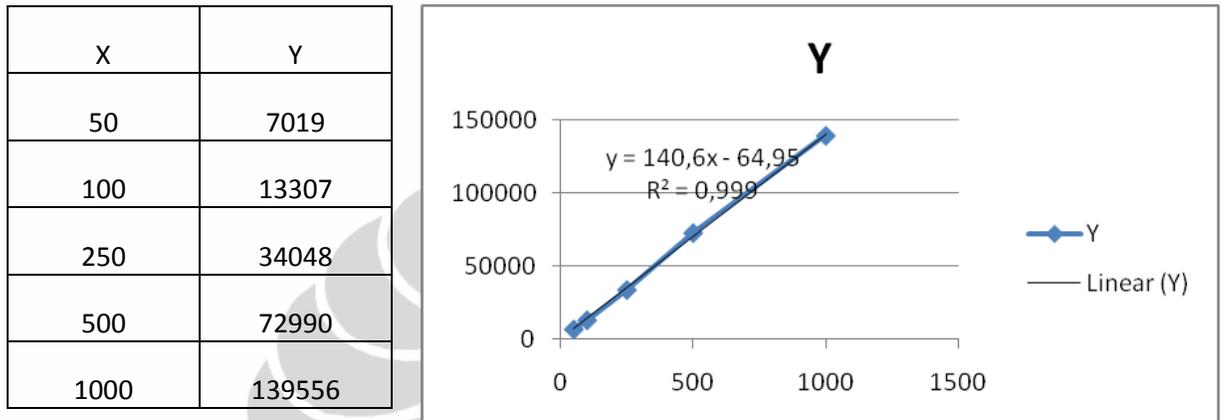
Waktu Fermentasi (Jam)	Xilosa Sisa (ppm)	Xilosa (mg/50 ml)	Xilitol (ppm)	Xilitol (mg/50 ml)	Konversi Xilosa menjadi Xilitol (%)
0	1.306,26	65,31	-	-	-
6	965,43	48,27	ttd	ttd	-
12	42,90	2,14	173,44	8,67	26,20
18	ttd	ttd	ttd	ttd	-

Data Fermentasi Batang Sorghum Manis CTY-33 + Glukosa 300 ppm

Waktu Fermentasi (Jam)	Xilosa Sisa (ppm)	Xilosa Sisa (mg/50 ml)	Xilitol (ppm)	Xilitol (mg/50 ml)	Konversi Xilosa menjadi Xilitol (%)
0	2.107,80	105,39	-	-	-
6	1.451,10	72,55	ttd	ttd	-
12	313,42	15,67	146,30	7,31	13,70
18	ttd	ttd	ttd	ttd	--

KET: ttd = tidak terdeteksi

STANDAR XILITOL



Hasil Fermentasi Xilosa Blanko

Waktu Fermentasi (Jam)	Xilosa Sisa (ppm)	Xilosa Sisa (mg/50 ml)	Xilitol Terbentuk (ppm)	Xilitol Terbentuk (mg/50 ml)
0	1.933,591	96,680	-	-
6	1.769,827	88,491	22,970	1,148
12	124,353	6,218	47,511	2,376
18	34,697	1,735	ttd	-

KET: ttd = tidak terdeteksi

Contoh perhitungan konversi xilosa menjadi xilitol:

1. Fermentasi Malai tanpa kosubstrat glukosa

Pada fermentasi jam ke-12, kadar xilitol = 191,070 ppm
= 191,070 mg/L

- Dalam 50 ml larutan, terdapat xilitol = $50/1000 \times 191,070 \text{ mg} = 9,553 \text{ mg}/50 \text{ ml}$
- % yield xilitol dari 1 g sampel = $\frac{9,553 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100\% = 0,955\%$
- % konversi xilosa menjadi xilitol:

1) Xilitol ($\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$), $M_r = 152,15$

mg xilitol = 9,553 mg

$$\text{Mol xilitol} = (9,553 \times 10^{-3}) \text{g} \times \frac{1 \text{ mol}}{152,15 \text{ g}} = 6,28 \times 10^{-5} \text{ mol}$$

Mol xilitol ini berasal dari 25 ml hidrolisat yang mengandung xilosa (volume hasil hidrolisis setelah dinetralkan dengan NaOH adalah 50 ml, kemudian dibagi 2 untuk duplo, sehingga masing-masing 25 ml).

2) Xilosa ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$), $M_r = 150,13$

mg xilosa = 149,402 mg

$$\begin{aligned} \text{Mol xilosa} &= (149,402 \times 10^{-3}) \text{g} \times \frac{1 \text{ mol}}{150,13 \text{ g}} \\ &= 0,995 \times 10^{-3} \text{ mol} = 99,5 \times 10^{-5} \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\text{Jadi \% konversi xilosa mejadi xilitol} = 50/25 \times \frac{6,28 \times 10^{-5}}{99,5 \times 10^{-5}} \times 100\% = 6,312\% \times 2 = 12,624\%$$

2. Malai + glukosa 150 ppm

Pada fermentasi jam ke-12

- Xilitol = 108,076 ppm = 108,076 mg/L
- Xilitol dalam 50 ml = 5,404 mg

Jadi % yield dalam xilitol dari 1g sampel

$$= \frac{5,404 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100\% = 0,540\%$$

- % konversi xilosa menjadi xilitol :

1) mg xilitol = 5,404 mg

$$\begin{aligned} \text{Mol xilitol} &= (5,404 \times 10^{-3}) \text{g} \times \frac{1 \text{ mol}}{152,15 \text{ g}} \\ &= 0,0355 \times 10^{-3} \text{ mol} = 3,55 \times 10^{-5} \text{ mol} \end{aligned}$$

2) mg xilosa awal = 98,327 mg

$$\begin{aligned} \text{Mol xilosa} &= (98,327 \times 10^{-3}) \text{g} \times \frac{1 \text{ mol}}{150,13 \text{ g}} \\ &= 0,655 \times 10^{-3} \text{ mol} = 65,5 \times 10^{-5} \text{ mol} \end{aligned}$$

Jadi % konversi xilosa menjadi xilitol

$$= \frac{3,55 \times 10^{-5} \text{ mol}}{65,5 \times 10^{-5} \text{ mol}} \times 100\% = 5,420\% \times 50/25 = 10,84\%$$

3. Malai + glukosa 300 ppm

Pada fermentasi jam ke-12

- Xilitol = 291.170 ppm = 291.170 mg/L dalam 50 ml larutan = 14,558 mg

$$\% \text{ yield xilitol dari 1g sampel} = \frac{14,558 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100\% = 1,456 \%$$

- % konversi xilosa menjadi xilitol

1) mg xilitol = 14,558 mg

$$\begin{aligned} \text{Mol xilitol} &= (14,558 \times 10^{-3}) \text{g} \times \frac{1 \text{ mol}}{152,15 \text{ g}} \\ &= 0,0957 \times 10^{-3} \text{ mol} = 9,57 \times 10^{-5} \text{ mol} \end{aligned}$$

2) mg xilosa = 73,934 mg

$$\begin{aligned} \text{Mol xilitol} &= (73,934 \times 10^{-3}) \text{g} \times \frac{1 \text{ mol}}{150,139 \text{ g}} \\ &= 0,49247 \times 10^{-3} \text{ mol} = 49,247 \times 10^{-5} \text{ mol} \end{aligned}$$

% konversi xilosa menjadi xilitol

$$= \frac{9,57 \times 10^{-5}}{49,247 \times 10^{-5}} \times 100\% = 19,432\% \times 50/25 = 38,864 \%$$