

**UNIVERSITAS INDONESIA**

**OPTIMASI HIDROLISIS DAN FERMENTASI MALAI  
MAUPUN TANGKAI SORGUM (SORGUM BICOLOR)  
MANDAU UNTUK MENGHASILKAN PEMANIS XILITOL**

**TESIS**

**Oleh:**

**HARMANTA**

**0806421773**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA  
UNIVERSITAS INDONESIA  
DEPOK  
2010**

**UNIVERSITAS INDONESIA**

**OPTIMASI HIDROLISIS DAN FERMENTASI MALAI  
MAUPUN TANGKAI SORGUM (SORGUM BICOLOR)  
MANDAU UNTUK MENGHASILKAN PEMANIS XILITOL**

**Tesis diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar**

**Magister Kimia**

**Oleh:**

**HARMANTA**

**0806421773**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

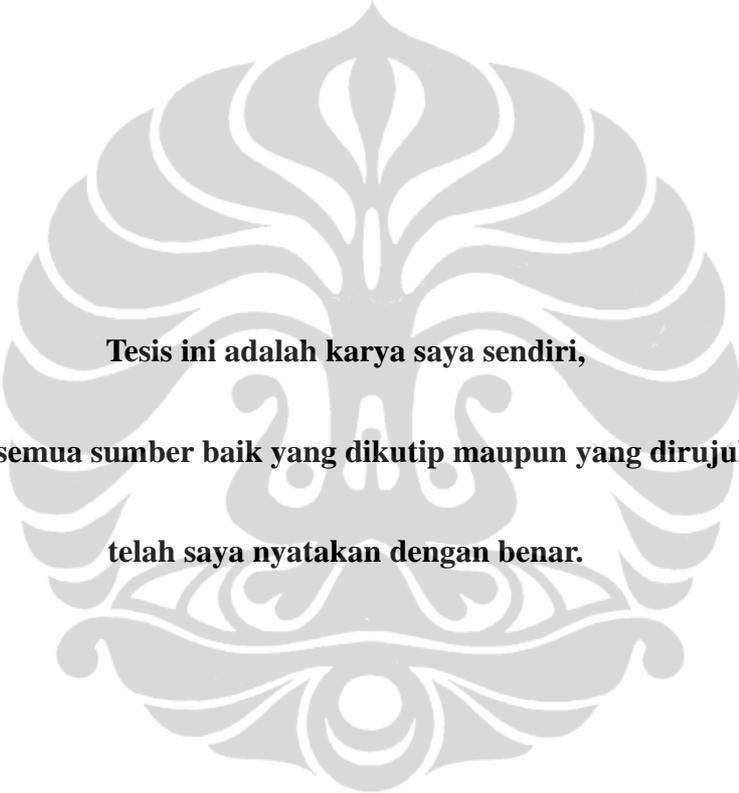
**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA**

**UNIVERSITAS INDONESIA**

**DEPOK**

**2010**

**HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS**



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

Nama : Harmanta

NPM : 0806421773

Tanda tangan : .....

Tanggal : .....



## **HALAMAN PENGESAHAN**

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Harmanta

NPM : 0806421773  
Program Studi : Kimia  
Judul Tesis : Optimasi Hidrolisis dan Fermentasi Malai maupun  
Tangkai Sorgum (Sorgum Bicolor) Mandau untuk  
Menghasilkan Pemanis Xilitol

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



#### **DEWAN PENGUJI**

Pembimbing : Dr. Endang Saepudin (.....)

Penguji : Prof. Dr. Sumi Hudyono PWS (.....)

Penguji : Dr. Budiawan rer. net (.....)

Penguji : Dr. Asep Saefumillah M.Si. (.....)

Penguji : Dr. Herri Cahyana (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : .....



**TESIS : OPTIMASI HIDROLISIS DAN FERMENTASI  
MALAI MAUPUN TANGKAI SORGUM  
(SORGUM BICOLOR) MANDAU UNTUK  
MENGHASILKAN PEMANIS XILITOL**

**NAMA : HARMANTA**

**NPM : 0806421773**

**TESISI INI TELAH DITERIMA DAN DISETUJUI**

**DEPOK, JUNI 2010**



Dr. Endang Saepudin

PEMBIMBING



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah S.W.T., yang dengan rahmat dan kasih sayangNya telah member kekuatan dan dorongan untuk mengadakan penelitian. Sholawat dan salam tercurah pada nabi Muhammad S.A.W yang menjadi tauladan terbaik dalam akhlak maupn berkarya dalam kehidupan. Dengan tauladan tersebut penulis akan memulai penelitian dengan judul “Optimasi Hidrolisis dan Fermentasi Malai maupun Tangkai Sorgum(Sorgum Bicolor) MANDAU untuk Menghasilkan Pemanis Xilitol”. Penelitian ini untuk memenuhi tugas akhir dalam menempuh ujian strata dua (S<sub>2</sub>) di Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia. Penulis sangat berterima kasih yang tak terhingga kepada bapak Dr. Endang Saepudin selaku pembimbing dan ketua Pasca Sarjana Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia yang selalu membimbing dengan sabar dan tulus, memberi saran maupun arahan selama penelitian ini. Tak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ridla Bakri selaku ketua Departemen Kimia FMIPA UI.
2. Bapak Dr. rer. net. Budiawan selaku pembimbing akademis atas nasehat dan motivasi yang diberikan selama ini.
3. Seluruh Dosen Departemen Kimia FMIPA UI atas ilmu dan pengajaran yang telah diberikan dengan tulus dan ikhlas.
4. Pak Hedi S., pak Hadi, dan seluruh staf Departemen Kimia yang telah banyak membantu untuk terlaksananya penelitian ini.
5. Ibu Emma, ibu Tri, pak Amin, ibu Ina, yang selama ini membantu kelancaran dalam penelitian.
6. Pak Rasyid, pak Puji, dan seluruh TIM Laboratorium Afiliasi yang telah membantu untuk kelancaran dalam proses penelitian dalam Laboratorium HPLC.
7. Teman-teman penelitian di lantai 4 dan rekan-rekan guru yang saling memberikan semangat untuk pelaksanaan penelitian ini.
8. Seluruh teman-teman S<sub>2</sub> angkatan 2008-2009 atas dukungannya selama ini.
9. Istri dan anak-anakku tercinta, serta keponakan-keponakan yang telah membantu dan member semangat selam penelitian.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penelitian ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis sangat terbuka untuk kritik dan saran yang akan membantu dalam proses penelitian.

Depok, Juni 2010



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

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

Departemen : Kimia

Fakultas : MIPA

Jenis Karya : Tesis

Nama : Harmanta

NPM :0806421773

Program Studi : Kimia Hayati

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberika kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Non Eksklusif (Non-Exklusif Royalty Free Right)) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Optimasi Hidrolisis dan Fermentasi Malai maupun Tangkai Sorgum (Sorgum Bicolor) Mandau untuk Menghasilkan Pemanis Xilitol

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya seagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : .....

Yang menyatakan

(Harmanta)

## **ABSTRAK**

Nama : Harmanta

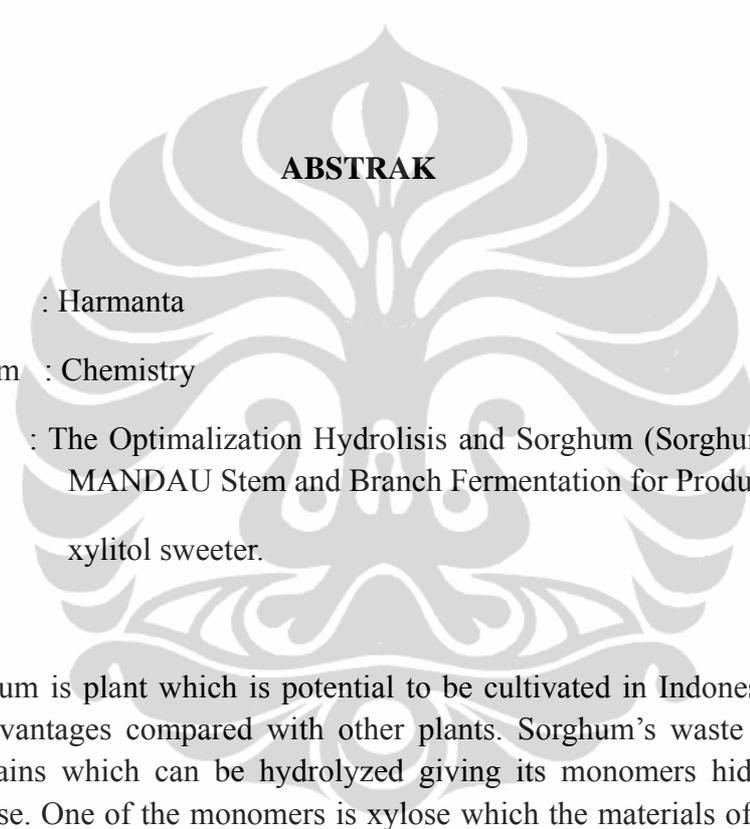
Program studi : Kimia Hayati

Judul : Optimasi Hidrolisis dan Fermentasi Malai maupun Tangkai

## Sorghum (Sorghum Bicolor) Mandau untuk Menghasilkan Pemanis Xilitol

Sorghum merupakan tanaman sereal yang sangat potensial untuk dibudayakan di Indonesia karena punya keunggulan dibandingkan dengan tanaman pangan yang lain. Di dalam limbah sorghum (malai dan tangkai) banyak terkandung hemiselulosa yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan monomer-monomernya. Salah satu monomer yang dihasilkan adalah xilosa yang merupakan bahan baku pembuatan xilitol. Pada penelitian ini digunakan malai dan tangkai sorghum mandau sebagai bahan untuk pembuatan xilitol. Bahan tersebut dihidrolisis menggunakan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 0,3M pada suhu  $121^\circ C$  dengan waktu optimum 35 menit. Hasil pengukuran kadar xilosa dalam hidrolisat pada kondisi optimum 25,70 % (w/w) untuk malai dan 20,56 % tangkai. Hidrolisat optimum ini yang akan digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi oleh *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 khamir penghasil enzim xilose reduktase. Hidrolisat kemudian detoksifikasi dengan menambahkan arang aktif 1% (w/v) untuk menghilangkan senyawa toksik yang dapat menghambat pertumbuhan khamir. Produk xilitol hasil fermentasi tanpa kosubstrat, konsentrasi tertinggi didapatkan waktu fermentasi 12 jam dengan persen konversi xilitol 12,88% untuk malai dan 10,88% tangkai. Produk xilitol hasil fermentasi dengan kosubstrat 7,5%, konsentrasi tertinggi pada waktu fermentasi 12 jam dengan persen konversi xilitol 18,04 untuk malai dan 16,50 tangkai. Sedangkan produk xilitol hasil fermentasi dengan kosubstrat 15%, konsentrasi tertinggi waktu fermentasi 12 jam dengan persen konversi xilitol 8,22% untuk malai 4,88% tangkai.

Kata kunci: *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 detoksifikasi; fermentasi; hemiselulosa; hidrolisis; sorghum; xilitol; xilosa; xilose reductase.



## ABSTRAK

Name : Harmanta

Study Program : Chemistry

Title : The Optimalization Hydrolisis and Sorghum (Sorghum Bicolor) MANDAU Stem and Branch Fermentation for Producing xylitol sweeter.

Sorghum is plant which is potential to be cultivated in Indonesia since it has many advantages compared with other plants. Sorghum's waste (stem and branch) contains which can be hydrolyzed giving its monomers hidrolized, to produce xylose. One of the monomers is xylose which the materials of xylitol. In this research, stem and branch of sorghum are used as souce is the source for xylitol production. The material was hydrolyzed using sulfuric acid ( $H_2SO_4$ ) 0,3M

At 121 degree Celcius with optimal duration of 35 minutes. The result of measurement of xylosa contained in hydrolyzed at optimal condition 24,90 % for stem and 20,56 % for branch. This hydrolyzed was used as substrate for the process of fermentation by *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 khamir is the producer of "xylose reductate" enzyme. The hydrolyzed is then decolorized by adding active carbon 1 % (w/v) to remove toxin substance which can fermentation process by khamir growth. The product of xylitol fermentation without kosubstrat, from the highest fermentation duration 12 hours with percent coverision of xylitol 12,88 % for stem and 10,88 % or branch. The product of xylitol from fermentation with kosubstrat 7,5 %, from the highest concentration on fermented duration 12

hours with percentage of xylitol convention 18,04 for stem and 16,50 for branch. Where as the product of xylitol fermentation with 15 % kosubstrat, with the highest yealds fermentation duration 12 hours with the percentage of xylitol convention is 8,22 % for stem and 4,88 % for branch.

Key word: *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247; decolorized; fermentation; hemiselulosa; hydrolyzed; sorghum's; xylitol; xylose; xylose reductate.



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Perumusan Masalah.....	3
1.4. Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Sorghum.....	4
2.1.1. Klasifikasi Sorghum.....	5
2.1.2. Kandungan Nutrisi Sorghum.....	5
2.1.3. Pemuliaan Tanaman Sorghum.....	6
2.1.4. Malai dan Tangkai Sorghum.....	7
2.2. Karbohidrat.....	8
2.2.1. Monosakarida.....	9
2.2.2. Oligosakarida.....	10
2.2.3. Polisakarida.....	12

2.2.4. Selulosa.....	12
2.2.5. Hemiselulosa.....	14
2.2.6. Lignin.....	15
2.3. Xilosa.....	16
2.3.1. Sifat Fisika dan Kimia Xilosa.....	17
2.4. Xilitol.....	17
2.4.1. Sifat Fisika dan Kimia Xilitol.....	18
2.4.2. Proses Produksi Xilitol.....	19
2.5. Hidrolisis Hemiselulosa dengan Katalis Asam.....	20
2.6. Khamir.....	21
2.6.1. <i>Candida fukuyamaensis</i> UICC Y-247.....	22
2.7. Metabolisme Pembentukan Xilitol oleh Khamir.....	23
2.8. Perkembangan Penelitian Xilitol.....	24
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>26</b>
3.1. Alat dan Bahan Kimia.....	26
3.1.1. Alat-alat.....	26
3.1.2. Bahan-bahan Kimia.....	26
3.1.3. Mikroorganisme.....	26
3.2. Prosedur Kerja.....	26
3.2.1. Pembuatan Sampel Malai dan Tangkai.....	26
3.2.2. Delignifikasi Sampel.....	27
3.2.3. Pembuatan Hidrolisat.....	27
3.2.4. Detoksifikasi Hidrolisat.....	27
3.2.5. Pembuatan Larutan Standar.....	27
3.2.5.1. Larutan Standar Xilosa.....	27

3.2.5.2. Larutan Standar Xilitol.....	28
3.2.5.3. Larutan Standar Glukosa.....	28
3.2.5.4. Larutan Standar Arabinosa.....	28
3.2.6. Sterilisasi Alat.....	28
3.2.7. Penyiapan Inokulum.....	29
3.2.8. Perhitungan Jumlah Sel Khamir.....	29
3.2.9. Fermentasi.....	30
3.2.10. Variasi Kondisi.....	31
3.2.11. Analisis Produksi dengan HPLC.....	31
3.3. Diagram Kerja Umum.....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1. Sampling Malai dan Tangkai Sorghum.....	34
4.2. Pengolahan Tangkai dan Malai Sorghum.....	34
4.3. Dewax (Ekstraksi) Serbuk Malai dan Tangkai Sorghum.....	35
4.4. Deliknifikasi Serbuk Malai dan Tangkai Sorghum.....	35
4.5. Hidrolisis Malai dan Tangkai Sorghum.....	36
4.6. Pengukuran Standar Karbohidrat.....	37
4.7. Hasil Hidrolisis Malai dan Tangkai Sorghum.....	40
4.8. Detoksifikasi Hidrolisat dengan Arang Aktif.....	44
4.9. Hasil Fermentasi Kontrol Xilosa.....	44
4.10. Optimasi Fermentasi Hidrolisat dengan <i>Candida fukuyamaensis</i> .....	45
4.11. Hasil Optimasi Fermentasi Substrat Malai dan Tangkai Sorghum.....	46
4.12. Fermentasi Malai dan Tangkai Sorghum.....	49
4.12.1. Fermentasi tanpa Kosubstrat.....	49
4.12.2. Fermentasi dengan Kosubstrat.....	50

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
5.1. Kesimpulan.....	53
5.2. Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1. Tanaman sorghum.....	4
Gambar 2.2. Malai dan tangkai sorghum.....	8
Gambar 2.3. Contoh monosakarida golongan aldehid.....	9
Gambar 2.4. Contoh monosakarida golongan keton.....	10
Gambar 2.5. Struktur $\beta$ -maltosa.....	10
Gambar 2.6. Struktur sukrosa.....	11
Gambar 2.7. Struktur $\alpha$ -laktosa.....	11
Gambar 2.8. Struktur selobiosa.....	11
Gambar 2.9. Serat selulosa.....	13

Gambar 2.10. Molekul selulosa.....	13
Gambar 2.11. Skema ikatan hydrogen.....	13
Gambar 2.12. Struktur dasar arabinoglukoronoxilan.....	14
Gambar 2.13. Contoh ikatan lignin dengan hemiselulosa.....	15
Gambar 2.14. Struktur lignin.....	16
Gambar 2.15. Struktur D-xilitol.....	17
Gambar 2.16. Struktur xilitol.....	19
Gambar 2.17. Mekanisme hidrolisis asam.....	21
Gambar 2.18. Jalur metabolisme xilosa oleh khamir.....	24
Gambar 3.1. Bagan kerja ekstraksi dan delignifikasi.....	32
Gambar 3.2. Bagan kerja hirolisis dan fermentasi.....	33
Gambar 4.1. Kromatogram standar xilosa 1000 ppm.....	38
Gambar 4.2. Kromatogram standar xilitol 500 ppm.....	38
Gambar 4.3. Kromatogram standar fruktosa 500 ppm.....	39
Gambar 4.4. Kromatogram standar glukosa 100 ppm.....	39
Gambar 4.5. Kromatogram standar arabinosa 500 ppm.....	40
Gambar 4.6. Kurva kadar xilosa dalam hidrolisat.....	41
Gambar 4.7. Kromatogram hidrolisat waktu optimum.....	42
Gambar 4.8. Kurva kadar xilosa dalam hidrolisat tangkai.....	42
Gambar 4.9. Kromatogram hidrolisat tangkai waktu optimum.....	43
Gambar 4.10. Kromatogram hasil fermentasi malai 12 jam.....	48
Gambar 4.11. Kromatogram hasil fermentasi tangkai 12 jam.....	49



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Perbandingan nutrisi sorghum dengan bahan pangan lainnya.....	6
Tabel 2.2. Komponen lignoselulosa dari sorghum.....	7
Tabel 4.1. Kadar xilosa dalam hidrolisat malai dan tangkai.....	41
Tabel 4.2. Data hasil fermentasi xilosa murni.....	45
Tabel 4.3. Data hasil optimasi fermentasi substrat malai dan tangkai.....	47
Tabel 4.4. Hasil fermentasi substrat malai dan tangkai tanpa kosubstrat.....	49
Tabel 4.5. Hasil fermentasi malai dan tangkai dengan kosubstrat 7,5 %.....	50
Tabel 4.6. Hasil fermentasi malai dan tangkai dengan kosubstrat 15 %.....	51
Tabel 4.7. Perbandingan konversi xilitol hasil fermentasi tanpa maupun dengan Kosubstrat.....	51



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kromatogram standar xilosa.....	57
Lampiran 2. Kromatogram standar xilitol.....	60
Lampiran 3. Kromatogram hidrolisat malai.....	63
Lampiran 4. Kromatogram hidrolisat tangkai.....	65
Lampiran 5. Kromatogram optimasi fermentasi substrat malai.....	67
Lampiran 6. Kromatogram optimasi fermentasi substrat tangkai.....	69
Lampiran 7. Kromatogram fermentasi xilosa standar.....	71
Lampiran 8. Kromatogram fermentasi malai tanpa kosubstrat.....	73
Lampiran 9. Kromatogram fermentasi malai dengan kosubstrat 7,5 %.....	75
Lampiran 10. Kromatogram fermentasi malai dengan kosubstrat 15 %.....	77
Lampiran 11. Kromatogram fermentasi tangkai tanpa kosubstrat.....	79
Lampiran 12. Kromatogram fermentasi tangkai dengan kosubstrat 7,5 %.....	81
Lampiran 13. Kromatogram fermentasi tangkai dengan kosubstrat 15 %.....	83
Lampiran 14. Contoh cara perhitungan.....	85

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Indonesia adalah negara agraris yang mayoritas penduduknya bertani dan berkebun. Adapun jenis tanaman sereal yang banyak ditanam oleh petani sebagai makanan pokok adalah padi, jagung, dan gandum. Sedangkan sorghum yang juga termasuk tanaman sereal asli Afrika tidak banyak ditanam oleh para petani kita. Padahal di dunia sorghum sangat banyak ditanam oleh petani untuk ketahanan pangan maupun makanan ternak. Sebagai bahan pangan sorghum berada di urutan kelima setelah gandum, padi, jagung, dan barley. (ICRISAT/FAO 1996). Sorghum dikonsumsi oleh lebih dari 500 juta orang dari 30 negara. Produksi total sorghum dunia pada tahun 1990 berjumlah 58 juta ton dan negara produsen terbesarnya adalah Amerika (25 persen), India (21,5 persen), Meksiko (11 persen), China (9 persen), dan Nigeria (7 persen). Sebagian besar sorghum dikonsumsi dalam bentuk roti tak beragi dan bubur. (FAO, 1991).

Sorghum merupakan tanaman potensial untuk dibudidayakan dan dikembangkan di Indonesia, karena punya keunggulan dibandingkan dengan tanaman pangan yang lain. Keunggulan sorghum antara lain sifat ketahanannya terhadap lahan yang kering, lahan basa, lahan masam, dan sangat menjanjikan untuk ditanam pada lahan kritis atau marginal yang mungkin tidak digarap (lahan tidur). Lahan marginal dan lahan tidur di Indonesia tersedia sangat luas. Keunggulan yang lain dari tanaman sorghum adalah produksi yang tinggi dengan biaya yang relatif murah, lebih tahan terhadap serangan hama, penyakit dan dapat ditanam dilahan tegalan sebagai tanaman sela (tumpang sari). Tanaman ini memiliki kandungan nutrisi yang baik, bahkan kandungan protein dan unsur-unsur penting lainnya lebih tinggi dibanding beras dan jagung.

Para petani di Indonesia selain belum banyak tertarik untuk membudidayakan tanaman sorghum, ternyata sebagian petani sorghum pun belum bisa memanfaatkan tanaman sorghum dengan maksimal. Mereka hanya mengolah biji, batang dan daunnya untuk makanan ternak, bagi yang tidak punya binatang ternak batang dan daunnya dibuang begitu saja sebagai sampah (limbah). Padahal

jumlah limbah yang berasal dari hasil pertanian maupun perkebunan sudah melimpah. Oleh karena itu perlu dilakukan penanganan limbah yang baik agar dikemudian hari tidak menjadi masalah pencemaran lingkungan.

Limbah pertanian dan perkebunan merupakan bahan yang mengandung lignoselulosa yang kaya akan hemiselulosa. Limbah lignoselulosa mengandung 29-43% selulosa, 17-45% hemiselulosa dan 10-17% lignin yang tergantung jenis tanamannya (Lengyel and Annus, 1960). Limbah sorghum pada penelitian ini dibedakan antara malai dan tangkai. Pada kedua limbah tersebut dimungkinkan kandungan hemiselulosanya berbeda.

Hemiselulosa merupakan heteropolysakarida yang terdiri dari rantai pendek pentosa seperti D-xilosa dan L- arabinosa. Jika hemiselulosa dihidrolisis maka akan dihasilkan D-xilosa, kemudian xilosa yang dihasilkan dari limbah sorghum tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan xilitol. Dengan demikian limbah sorghum tersebut dapat dimanfaatkan lebih lanjut sehingga mempunyai nilai jual yang tinggi.

Xilitol mempunyai rasa manis seperti gula sehingga xilitol dapat menggantikan pemanis sukrosa. Konsumsi gula (sukrosa) yang berlebihan dalam makanan maupun minuman akan mengakibatkan ancaman berbagai penyakit antara lain karies gigi, diabetes, jantung dan lain-lain. Xilitol merupakan pemanis alami mempunyai tingkat energi yang lebih rendah yaitu 2,4 kal/g, sedangkan sukrosa 4,2 kal/g (Granstrom et al, 2007). Xilitol merupakan pemanis yang mempunyai sifat non kariogenik yaitu dapat melindungi gigi dari kerusakan seperti karies gigi. Hal ini disebabkan karena xilitol dapat menghambat pertumbuhan bakteri streptococcus mutans. Xilitol juga dapat memberikan sensasi dingin dan menyejukkan saat berada di mulut, sehingga xilitol dapat digunakan pada permen dan pasta gigi (Granstom et al, 2007).

Proses pembentukan xilitol dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu secara kimiawi dan secara bioteknologi. Dalam skala industri xilitol dapat diproduksi secara kimiawi melalui proses hidrogenasi dengan katalis nikel pada suhu 80-140° C dan tekanan 50 Atm. Namun proses ini menghasilkan limbah nikel yang sangat berbahaya dan tekanan yang tinggi berarti perlu mesin khusus dan biaya yang mahal (Granstom et al, 2007). Sehingga dikembangkan pembuatan xilitol dengan

proses bioteknologi memanfaatkan mikroba yang memiliki enzim xylose reductase untuk mereduksi xylosa menjadi xilitol (Lee et al,2002).

### 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah memanfaatkan limbah malai dan tangkai sorghum Galur 14 (MANDAU) untuk menghasilkan xilosa sebagai bahan baku pembuatan xilitol. Caranya dengan menghidrolisis malai dan tangkai sorghum kemudian difermentasi dengan menggunakan khamir penghasil enzim xylose reductase untuk menghasilkan xilitol. Pada proses ini khamir yang digunakan adalah *Candida fukuyamaensis* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi UICC Departemen Biologi, Universitas Indonesia.

### 1.3 Perumusan Masalah

Pada penelitian ini dilakukan hidrolisis serbuk halus malai dan tangkai sorghum Bicolor (MANDAU) menggunakan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 0,3 M pada suhu  $121^\circ C$  dengan variasi waktu hidrolisis untuk menentukan kondisi optimum. Untuk menyerap senyawa-senyawa yang mengganggu pertumbuhan khamir didecolorisasi dengan arang aktif 1% (w/v). Kemudian xilosa hasil hidrolisis difermentasi dengan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 dengan variasi waktu fermentasi 12 jam. Pada penelitian ini juga dibuat variasi pemberian kosubstrat fruktosa pada medium fermentasi. Untuk menentukan kadar xilitol hasil fermentasi dianalisa dengan HPLC.

### 1.4 Hipotesis

1. Limbah malai dan tangkai sorghum MANDAU mengandung hemiselulosa yang cukup tinggi sehingga bila dihidrolisis akan menghasilkan xilosa yang tinggi pula.
2. Xilosa hasil hidrolisis tersebut, dapat di fermentasi menjadi xilitol oleh khamir yang menghasilkan enzim xylosa reduktase.
3. Penambahan kosubstrat Fruktosa pada medium fermentasi dapat meningkatkan produksi xilitol.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Sorghum

Sorghum termasuk tanaman serealia asli Afrika yang sangat penting untuk ketahanan pangan dunia. Sebagai bahan pangan, sorghum menempati urutan kelima setelah gandum, padi, jagung, dan barley. (ICRISAT/ FAO, 1996). Selain sebagai bahan makan alternatif, di negara maju tepung sorghum juga dapat dibuat etanol, bir, kue, sirup, lem, sedangkan batang dan daunnya hanya untuk makanan ternak. Saat ini dikenal 5 ras sorghum yaitu Bicolor, Caudatum, Kafir, Guinea, dan Durra.

Keunggulan tanaman sorghum adalah dapat tumbuh dilahan kering, asam dan basa, tahan terhadap hama dan penyakit serta menjanjikan untuk ditanam di lahan tidur. Sementara itu tehnik budidaya sorghum sangat mudah, sekali tanam dapat panen tiga kali (tahan pangkas). Sorghum banyak dibudidayakan di Jawa, NTB, dan NTT. namun produksinya belum tersedia di pasar bebas.



**Gambar 2.1.** Tanaman Sorghum

### 2.1.1 Klasifikasi Sorghum

Klasifikasi botani tanaman sorghum adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Sub Kingdom : Tracheo bionta  
Super Division: Spermatophyta  
Divisi : Sion magnoliophyta  
Class : Liliopsida  
Sub Class : Commelinidae  
Family : Poaceae  
Genus : Sorghum  
Species : Sorghum Bicolor

Sorghum memiliki morfologi sebagai berikut:

- Berakar serabut
- Daun berbentuk sempit memanjang
- Batang dibagi 2 yaitu batang atas (tangkai) dan batang bawah
- Mempunyai pelepah daun
- Merang/ malai seperti padi
- Buah dan biji sulit dibedakan karena merupakan bulir
- Jumlah daun selalu sepuluh.

### 2.1.2 Kandungan Nutrisi Sorghum

Sebagai sumber bahan pangan alternatif, sorghum memiliki kandungan nutrisi yang baik, bahkan kandungan dan unsur-unsur penting lainnya lebih tinggi dibanding beras dan jagung.

**Tabel 2.1.** Perbandingan nutrisi sorghum dengan bahan pangan lain (Depkes, 1992)

Unsur Nutrisi	Kandungan / 100 gram				
	Beras	Sorghum	Singkong	Jagung	Kedelai
Kalori (cal)	360	332	146	361	286
Protein (g)	6,8	11,0	1,2	8,7	30,2
Lemak (g)	0,7	3,3	0,3	4,5	15,6
Karbohidrat (g)	78,9	73,0	34,7	72,4	30,1
Kalsium (mg)	6,0	28,0	33,0	9,0	196,0
Besi (mg)	0,8	4,4	0,7	4,6	6,9
Posfor (mg)	140	287	40	380	506
Vit. B1 (mg)	0,12	0,38	0,06	0,27	0,93

Dari tabel di atas dapat kita lihat bahwa kandungan protein sorghum lebih tinggi dari beras, singkong dan jagung. Begitu juga lemak dan beberapa nutrisi yang lain.

### 2.1.3 Pemuliaan Tanaman Sorghum

Untuk membuat variasi tanaman sorghum perlu direkayasa dengan teknologi nuklir. BATAN (Badan Tenaga Atom Nasional) bekerja sama dengan SEAMEO BIOTROP mengembangkan pemuliaan sorghum dengan teknologi nuklir (teknik mutasi) menggunakan sinar gamma (Soeranto, 2009). Hasil dari pemuliaan dengan tehnik mutasi tersebut terjadi peningkatan kualitas variasi dari sorghum "DURRA" yang berasal dari ICRISAT (India). Pemuliaan sorghum dengan tehnik mutasi ini menghasilkan beberapa galur harapan yang dapat tumbuh pada lahan kering, lahan masam, dan lahan basa. Uji adaptasi telah dilakukan di beberapa tempat antara lain; di Tangerang, Gunung Kidul, Lampung, dan Kalimantan Timur dengan hasil yang memuaskan. Adapun galur-galur sorghum yang dihasilkan dan ada di BATAN adalah Galur 1 (B-100), Galur 2 (B-95), Galur 3 (B-92), Galur 4 (B-90), Galur 5 (B-83), Galur 6 (B-76),

Galur 7 (B-75), Galur 8 (B-72), Galur 9 (B-69), Galur 10 (ZH-30), Galur 11 (CTY-33), Galur 12 (DURRA), Galur 13 (UPCA-S1), Galur 14 (MANDAU), Galur 15 (KAWALI) (Suprianto dan Soeranto, 2009)

Dari hasil Pemuliaan tersebut mendapatkan galur sorghum dengan bermacam sifat agronomi dan tingkat kualitas seperti kegenjahan, ukuran dan warna biji, bentuk dan ukuran malai, ketahanan terhadap kekeringan dan sebagainya.

#### 2.1.4 Malai dan Tangkai Sorghum

Malai dan tangkai sorghum adalah limbah hasil samping dari pertanian sorghum. Malai sorghum dinamakan ranting buah atau disebut juga merang, sedangkan batang dibagi dua yaitu batang atas dan batang bawah. Batang kemudian disebut tangkai yang batasnya adalah ruas setelah daun terakhir. Pemanfaatan limbah hasil samping dari pertanian sorghum, selama ini hanya sebatas untuk pakan ternak, dibakar untuk dijadikan pupuk kompos. Limbah dari pertanian sorghum (malai dan tangkai) banyak mengandung hemiselulosa yang dapat dihidrolisis menjadi xilosa yang merupakan bahan baku pembuatan xilitol. Pada penelitian ini dibedakan menjadi bagian malai dan tangkai, hal ini bertujuan untuk mengetahui bagian manakah yang menghasilkan xilosa lebih tinggi, yang berpotensi sebagai bahan baku pembuatan xilitol. Komponen utama dalam limbah sorghum (malai dan tangkai) adalah lignoselulosa yang tersusun oleh selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang komposisinya dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 2.2.** Komposisi lignoselulosa dari sorghum (Lengyel and Annus, 1960)

Tipe sorghum	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin (%)
Grain sorghum	29	24	16
Broomcorns	39	24	15
Sweet sorghum	26	17	10
Sudangrass	43	45	16
Johnsongrass	42	27	17



**Gambar 2. 2** Malai dan tangkai Sorghum G 14 (MANDAU)

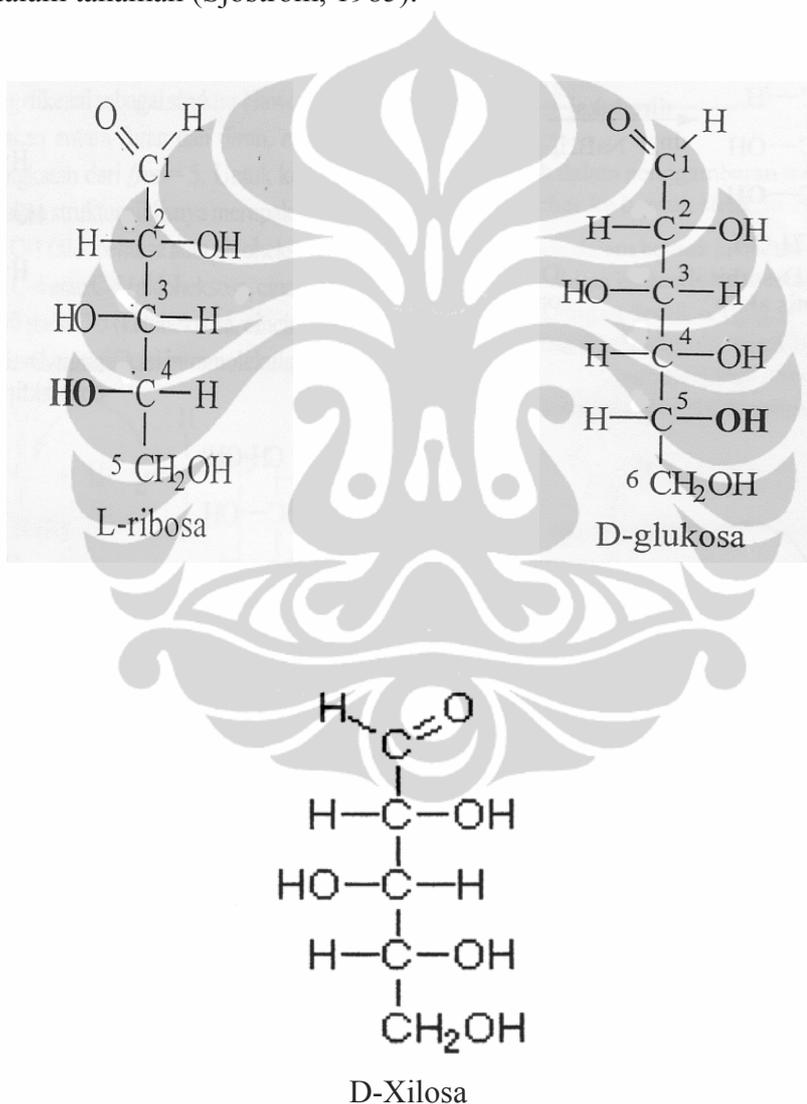
## 2.2 Karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa polihidroksi yang terdapat di alam, baik sebagai molekul-molekul yang relatif kecil (gula) maupun sebagai kesatuan makromolekul (polisakarida). Gula dalam tanaman biasanya berfungsi sebagai sumber energi, polisakarida misalnya pati untuk cadangan makanan, selulosa, hemiselulosa, lignin memberi kekuatan pada dinding sel sehingga kokoh (Sjostrom, 1981).

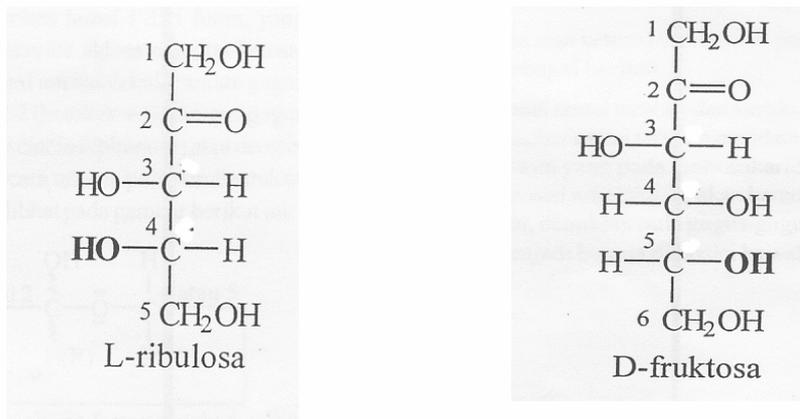
Rumus komposisi kimia karbohidrat adalah  $C_n(H_2O)_m$ . Karbohidrat diklasifikasikan menjadi 3 golongan utama, yaitu monosakarida, oligosakarida dan polisakarida (Winarno, 2008).

### 2.2.1 Monosakarida

Monosakarida disebut gula sederhana karena hanya memiliki satu unit polihidroksi aldehyd atau keton, tidak dapat dihidrolisa menjadi molekul yang lebih sederhana (Robinson, 1995). Monosakarida yang mempunyai gugus fungsi aldehyd disebut aldosa, contohnya D-Glukosa, D-Galaktosa, D-Ribosa, D-Arabinosa dan D-Xilosa. Sedangkan yang mempunyai gugus fungsi keton disebut ketosa, contohnya D-Fruktosa yang merupakan satu-satunya ketosa yang banyak terdapat dalam tanaman (Sjostrom, 1985).



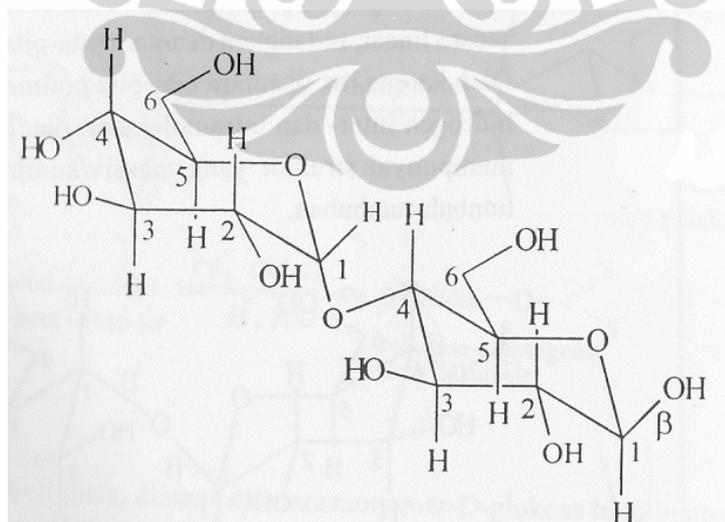
**Gambar 2.3.** Contoh monosakarida golongan aldehyd.



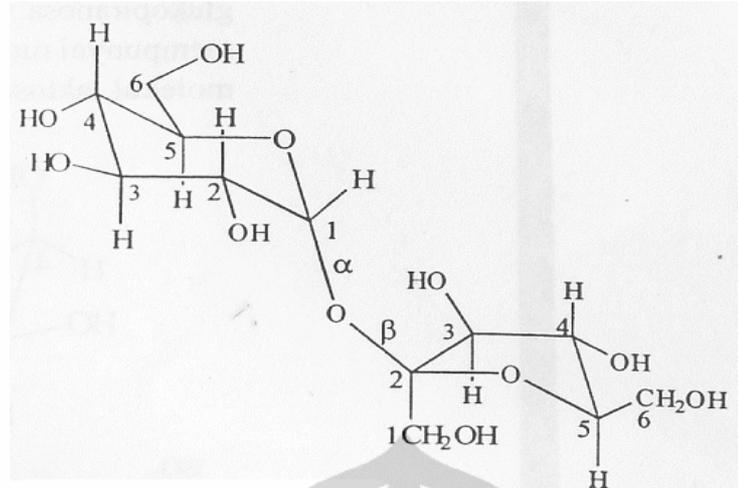
**Gambar 2.4.** Contoh monosakarida golongan keton

### 2.2.2 Oligosakarida

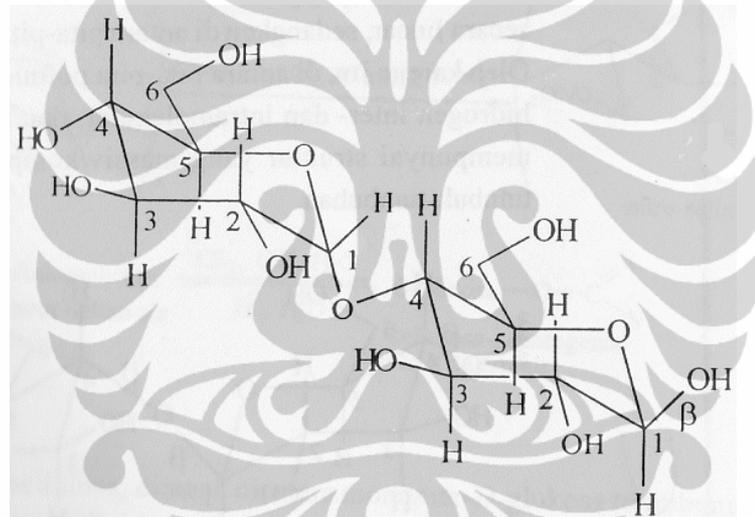
Oligosakarida merupakan karbohidrat yang terdiri dari dua sampai sepuluh unit monosakarida. Oligosakarida terdiri dari rantai pendek unit monosakarida yang digabungkan dengan ikatan glikosida (Robinson, 1995). Oligosakarida yang paling banyak dijumpai adalah disakarida yang terdiri dari dua unit monosakarida, contohnya sukrosa, maltosa, selobiosa dan laktosa (deMan, 1989). Struktur molekulnya adalah sebagai berikut:



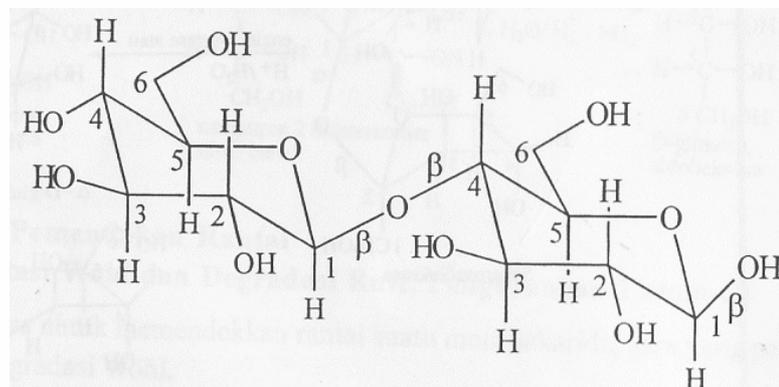
**Gambar 2.5.** Struktur  $\beta$ -D-maltosa ( $\alpha$ -D-glukopiranosil- $\beta$ -D-glukopiranososa)



**Gambar 2.6.** Struktur Sukrosa ( $\alpha$ -glukopiranosil- $\beta$ -D-fruktopiranososa)



**Gambar 2.7.** Struktur  $\alpha$ -laktosa ( $\beta$ -D-galaktopiranosil- $\alpha$ -D-glukopiranososa)



**Gambar 2.8.** Struktur sellobiosa ( $\beta$ -D-glukopiranosil- $\beta$ -D-glukopiranososa)

### 2.2.3 Polisakarida

Polisakarida terdiri dari monosakarida-monosakarida yang bergabung dengan ikatan glikosida. Polisakarida terdiri dari ratusan bahkan ribuan unit monosakarida, strukturnya linear dan bercabang. Yang termasuk polisakarida adalah pati, glikogen, selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Pati merupakan polimer D-Glukosa yang ditemukan sebagai karbohidrat simpanan dalam tumbuhan, sedangkan glikogen merupakan polimer dari glukosa untuk cadangan makanan pada hewan (Demam, 1989). Pada limbah pertanian polisakarida banyak terdapat pada lignoselulosa yang tersusun oleh selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Selulosa merupakan konstituen utama kayu, kira-kira 40-45% bahan kering dalam kebanyakan kayu adalah selulosa, terutama terdapat pada dinding sel. Hemiselulosa merupakan polisakarida kompleks non selulosa yang terdapat dalam jaringan tumbuhan, sedangkan lignin merupakan komponen paling keras yang berfungsi sebagai penguat dan pembentuk dinding sel yang kokoh (Sjostrom, 1981).

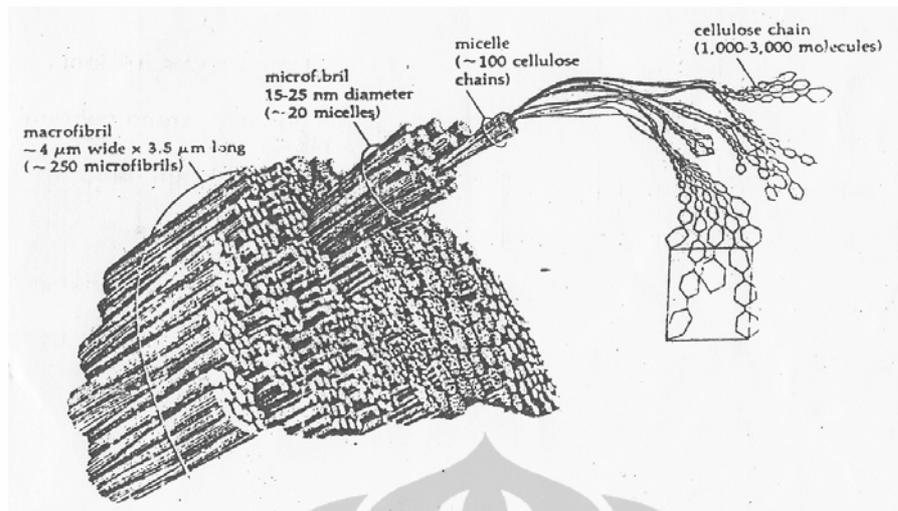
### 2.2.4 Selulosa

Selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun atas unit-unit  $\beta$ -D-glukopiranosida yang terikat satu sama lain dengan ikatan-ikatan glikosakarida (1-4). Selulosa berfungsi sebagai bahan struktur dalam jaringan tumbuhan.

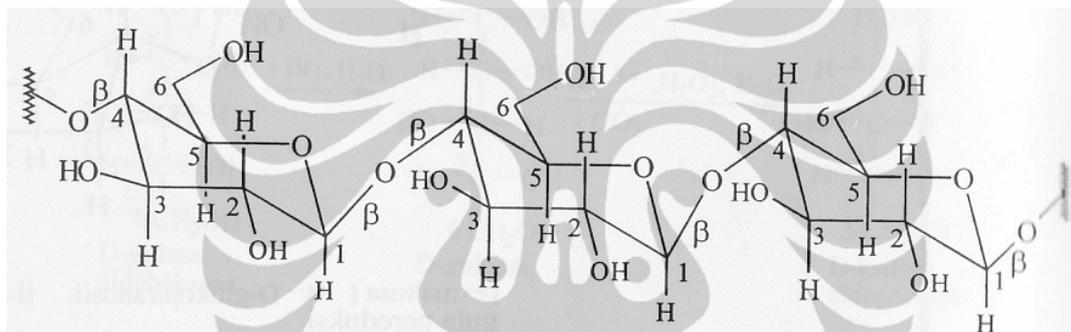
Molekul selulosa seluruhnya berbentuk linier dan mempunyai kecenderungan kuat membentuk ikatan hidrogen intra dan inter molekul membentuk lembaran yang menyebabkan polimer ini menjadi lebih kuat dan kaku (Antony et al, 1984).

Lembaran-lembaran tersebut tersusun menjadi lapisan yang membentuk mikrofibril yang sangat teratur (kristalin). Struktur kristalin ini yang menyebabkan agak susah dihidrolisis oleh enzim atau asam.

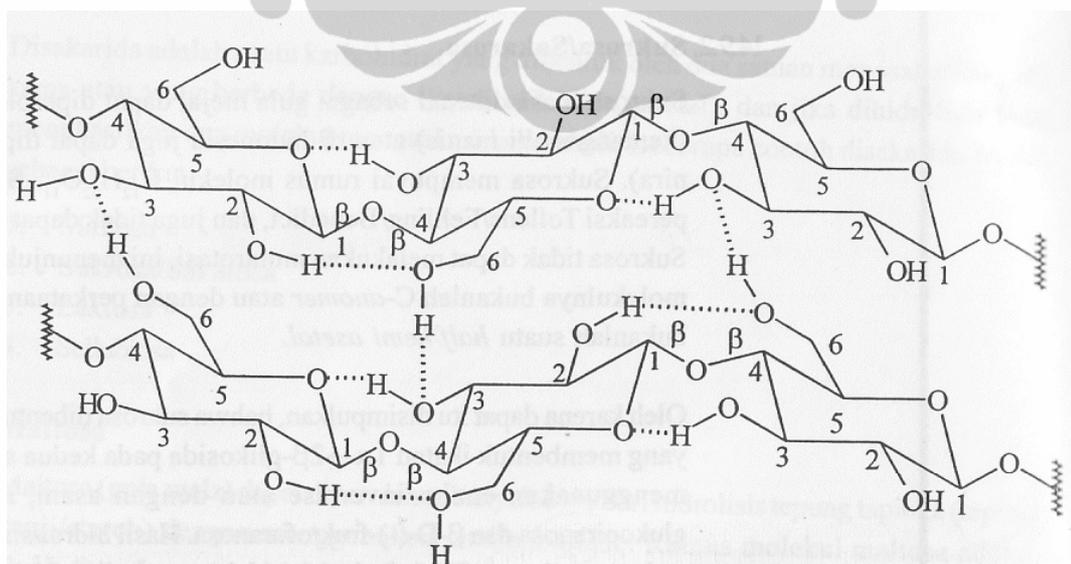
Mikrofibril berinteraksi membentuk serat-serat selulose yang memiliki derajat polimer hingga 10.000 molekul glukosa per molekul dengan bobot molekul hingga 1.620.000 (Demam, 1989).



**Gambar 2.9.** Serat Selulosa (Reyden and Van, 1992)



**Gambar 2.10.** Molekul Selulosa



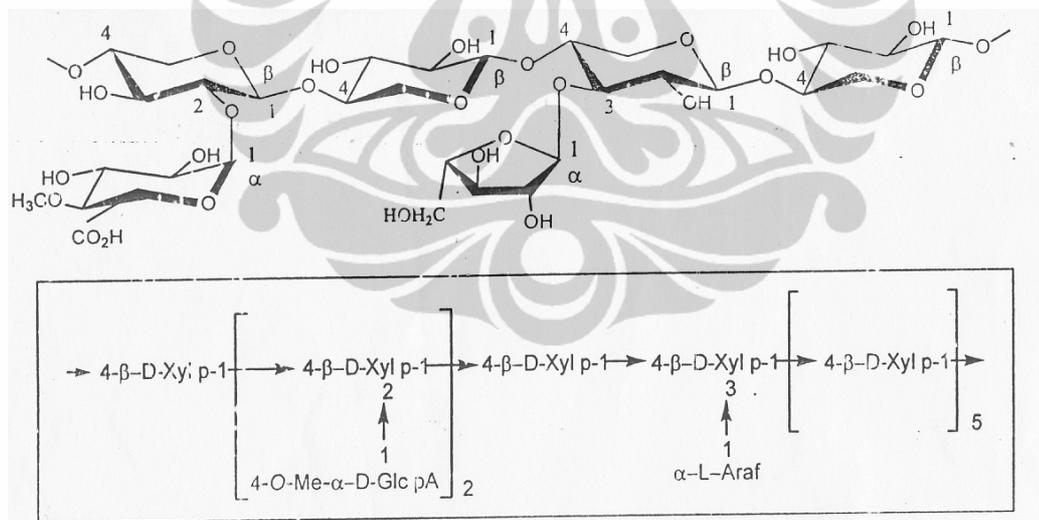
**Gambar 2.11.** Skema ikatan hidrogen pada rantai selulosa (French, 1985)

### 2.2.5 Hemiselulosa

Hemiselulosa ditemukan bersama-sama dengan selulosa di dalam dinding sel tanaman. Hemiselulosa adalah heteropolisakarida yang relatif mudah dihidrolisis oleh asam menjadi komponen-komponen monomernya yang terdiri dari D-Xilosa, L- Arabinosa, D- Glukosa, D- Manosa, dan D- Galaktosa.

Hemiselulosa mempunyai derajat polimerisasi rendah hanya kurang lebih 200. Hemiselulosa tak mempunyai serat-serat yang panjang seperti selulosa. Kadar hemiselulosa dari berat kering kayu biasanya antara 20-30% (Sjostrom, 1981).

Hemiselulosa dikelompokkan berdasarkan kandungan gulanya. Xilan adalah polimer xilosa, manan polimer manosa, dan galaktan polimer galaktosa. Kebanyakan hemiselulosa merupakan heteropolisakarida yang mengandung 2-4 satuan gula yang berlainan. Gula yang paling sering dijumpai dalam hemiselulosa dan pentosan sereal adalah D- Xilosa dan L- Arabinosa (deMan, 1989).

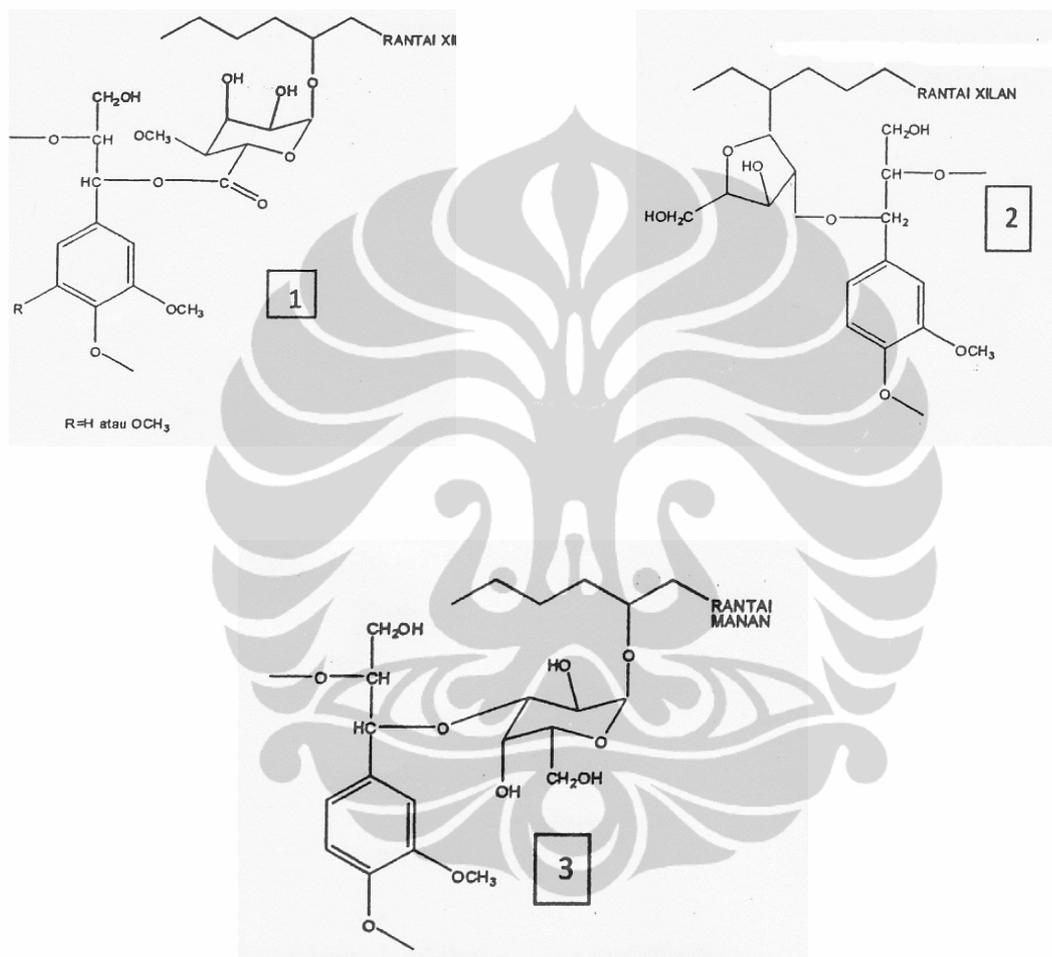


**Gambar 2.12.** Struktur dasar Arabinoglukoronoxilan (Sjostrom, 1981)

- (Xilp) =  $\beta$ -D-xilopiranososa  
 (Glc p A) = Asam 4-0-metil -  $\alpha$ -D-glukopiranosihinorat  
 (Araf) =  $\alpha$ -L-arabinofuranosa

### 2.2.6 Lignin

Lignin merupakan polimer dari unit-unit fenilpropana, sebagai komponen yang paling keras pada dinding sel tanaman sehingga berfungsi sebagai penguat dan pembentuk dinding sel yang kokoh. Ada indikasi ikatan-ikatan antara lignin, selulosa dan hemiselulosa, ikatan-ikatan tersebut dapat berupa ester atau eter.

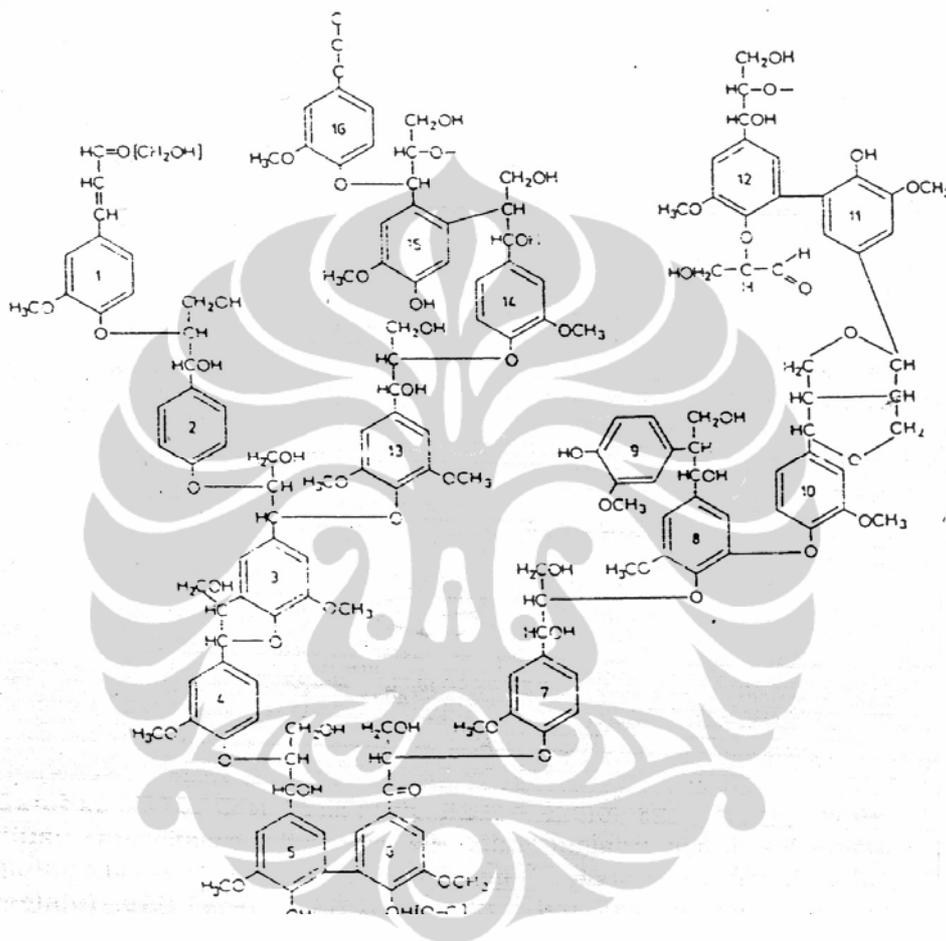


**Gambar 2.13.** Contoh ikatan lignin dengan hemiselulosa (Sjostrom, 1981)

Untuk ikatan (1) ikatan ester dengan xilan melalui asam 4-O-metil glukuronat sebagai gugus penghubung untuk ikatan (2) ikatan eter dengan xilan dan unit arabinofuranosa sebagai penghubungnya. Sedangkan ikatan (3) ikatan eter dengan galaktoglukomanan melalui unit galalitopiranosa. Lignin merupakan makromolekul yang besar dengan berat molekul lebih dari 10.000 unit dan

bersifat hidrofobik. Lignin juga mempunyai kelarutan yang rendah dalam kebanyakan pelarut (Sjostrom, 1981).

Berikut adalah gambar struktur lignin yang merupakan polimer unit-unit fenilpropana (Alder, 1977).



**Gambar 2.14.** Struktur Lignin

### 2.3 Xilosa

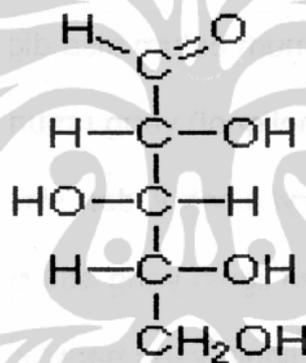
Xilosa adalah aldopentosa, monosakarida yang terdiri dari 5 buah atom karbon dengan gugus aldehyd (Prathumpai et al, 2003). Xilosa merupakan salah satu komponen utama hemiselulosa yang banyak terkandung pada limbah pertanian dan kehutanan dengan kadar 25% berat kering total (Hung et al, 1995). Produksi xilosa dihasilkan dari hidrolisis hemiselulosa. Tingginya kadar hemiselulosa dalam limbah pertanian dan kehutanan yang cukup melimpah,

mendorong para peneliti dalam dekade terakhir ini, memfokuskan pemanfaatan xilosa untuk produksi energi alternatif dan produksi pemanis xilitol (Pach et al, 1998; Kim et al, 1999; Eliasson et al, 2000).

### 2.3.1 Sifat Fisika dan Kimia Xilosa

Sifat fisika dan kimia dari xilosa adalah:

Nama kimia	: xilosa
Rumus kimia	: $C_5H_{10}O_5$
Berat molekul	: 150,13 g/mol
Titik leleh	: 144 – 145 °C
Densitas	: 1,52 g/cm <sup>3</sup>



**Gambar 2.15.** struktur D-xilosa

### 2.4 Xilitol

Xilitol adalah senyawa organik, merupakan gula alkohol yang mempunyai 5 atom karbon. Gula alkohol ini dapat dijumpai secara alami pada berbagai buah dan sayuran (Makinen, 1992; Uhari et al 1996). Xilitol pertama kali diperoleh dari tanaman Birch di Finlandia. Pada abad ke-20 dan diperkenalkan ke Eropa sebagai pemanis yang aman untuk penderita diabetes (Mattila et al, 2002). Xilitol punya pasar yang sangat menjanjikan karena xilitol merupakan pemanis alternatif yang penting saat ini. Kemanisan xilitol cukup tinggi dibandingkan dengan pemanis yang lain. Bila kemanisan sukrosa = 1 maka perbandingan gula yang lain adalah:

D -Galaktosa = 0,4-0,6 ; maltosa = 0,3-0,5 ; laktosa = 0,2-0,3 ; D-Fruktosa = 1,32 sedang xilitol hampir sama dengan sukrosa = 0,96-1,18 (Winarno, 2008).

Selain kemanisan yang tinggi xilitol mempunyai nilai energi 2,4 kal/g lebih rendah dari gula sukrosa 4 kal/g (Granstrom et al, 2007). Kandungan energi yang rendah ini, xilitol sangat bagus dikonsumsi oleh penderita diabetes, baik digunakan untuk makanan maupun minuman. Xilitol juga mempunyai panas negatif dan mudah larut dalam air sehingga dapat memberikan sensasi dingin dan menyejukkan saat dikonsumsi. Dengan sifat ini xilitol digunakan pada permen karet dan pasta gigi (Granstrom et al, 2007).

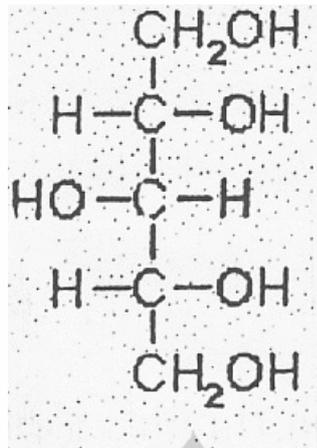
Berdasarkan penelitian, mikroorganisme kariogenik lebih menyukai gula yang mempunyai 6 karbon misalnya D-glukosa untuk pertumbuhannya. Xilitol memiliki 5 atom karbon sehingga bakteri kariogenik misalnya streptococcus mutans yang ada dalam mulut, tidak dapat mendegradasinya sebagai sumber energi, maka xilitol dapat digunakan untuk mencegah karies pada gigi (Aditya, 2004).

Infeksi telinga (otitis media akut) dapat dicegah dengan mengunyah permen karet yang mengandung xilitol, karena xilitol menghambat pertumbuhan bakteri di Tuba Eustachio yang menghubungkan hidung dengan telinga. Penelitian di Finlandia menyimpulkan bahwa xilitol mampu meningkatkan kepadatan tulang, sehingga dapat digunakan untuk melawan osteoporosis (Mattila et al, 2002).

#### **2.4.1 Sifat Fisika dan Kimia Xilitol**

Sifat fisika dan kimia dari xilitol adalah :

Nama kimia	: xilitol
Rumus kimia	: $C_5H_{12}O_6$
Wujud	: kristal putih
Bau	: tidak berbau
Berat molekul	: 152, 15 g/mol
Titik leleh	: 94°C
Densitas	: 1,52 g/cm <sup>3</sup>



**Gambar 2.16.** Struktur xilitol

#### 2.4.2 Proses Produksi Xilitol

Proses produksi xilitol dari xilosa dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara kimiawi dan bioteknologi.

Proses secara kimia dapat dilakukan dengan hidrogenasi D – xilosa dengan bantuan katalis logam nikel (Ni). Namun proses ini harus dalam kondisi yang sangat ekstrim yaitu suhu dan tekanan tinggi, sehingga butuh biaya tinggi. Selain itu proses kimia perlu beberapa langkah untuk pemurnian, karena hanya xilosa murni yang dapat diproses dengan cara ini (Granstrom et al, 2007). Proses kimia komersial untuk produksi xilitol dikembangkan sekitar tahun 1970 di Finlandia.

Cara kedua yaitu bioteknologi dengan memanfaatkan mikroba yang menghasilkan enzim xylose reductase, untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol. Proses secara bioteknologi ini mempunyai beberapa keuntungan antara lain reaksi reduksinya selektif terhadap xilosa, reaksinya berlangsung pada suhu dan tekanan rendah serta biaya lebih murah (Granstrom et al, 2001). Namun cara bioteknologi ini hasil xilitolnya tidak maksimal karena sebagian dari xilosa digunakan untuk pertumbuhan mikroba tersebut (Lee et al, 2002).

## 2.5 Hidrolisis Hemiselulosa dengan Katalis Asam

Hidrolisis adalah reaksi pembelahan suatu molekul besar menjadi bagian yang lebih kecil oleh air (Antony et al, 1992). Hidrolisis kimia untuk gula yang lebih rumit dilakukan dengan memanaskan dan menambah katalis asam. Dalam sistem hayati enzim bertindak sebagai katalis, dengan cara inilah gula, lemak dan protein dipecah menjadi bagian-bagian yang lebih sederhana (Antony et al, 1992).

Hidrolisis dengan asam akan menghasilkan produk berupa campuran. Maka dalam penelitian ini, tidak hanya hemiselulosa yang dihidrolisis, tetapi selulosa dan senyawa monosakarida lain juga terbentuk.

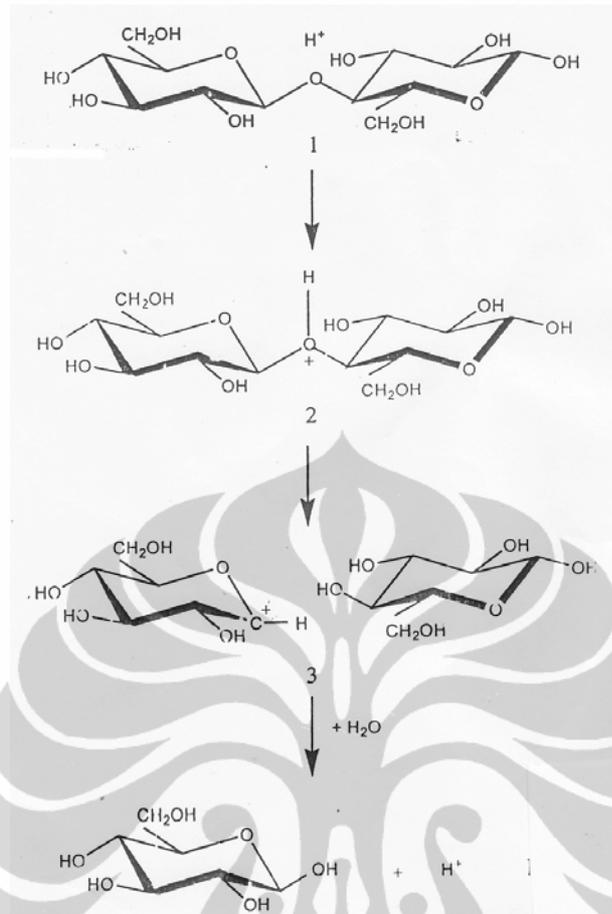
Hemiselulosa yang merupakan polimer bercabang, tidak membentuk mikrofibril yang kristalin seperti selulosa, sehingga lebih mudah dihidrolisis.

Hemiselulosa dihidrolisis oleh asam melalui pemutusan ikatan-ikatan glikosakarida menjadi monomernya. Monosakarida-monosakarida yang terbentuk selama hidrolisis oleh asam, akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asam dan waktu hidrolisis.

Akan tetapi pentosa dan heksosa, cenderung mengalami degradasi menjadi furfural dan 5-hidroksimetil furfural jika konsentrasi asam, waktu, suhu reaksi hidrolisis ditingkatkan (Buhner, 2010).

Pada prinsipnya hidrolisis selulosa adalah pemutusan ikatan  $\beta$ -(1,4) glikosida antara satuan-satuan glukosa dalam molekul glukosa. Selulosa lebih sulit dihidrolisis dari pada hemiselulosa, karena memiliki bentuk kristalin yang tinggi, serta ikatan hidrogen intramolekular yang menyebabkan selulosa tersusun rapat, teratur, dan rigid (Saha, 2003).

Proses hidrolisis dalam suasana asam berlangsung tiga tahap. Tahap pertama, proton (dari katalis asam) berinteraksi dengan oksigen glikosida yang menghubungkan dua unit gula dan membentuk asam konjugat. Tahap kedua adalah pemecahan secara lambat ikatan C-O menghasilkan intermediet kation karbonium siklik. Tahap ketiga mengalami adisi cepat, maka terbentuklah gula bebas. Reaksi tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



**Gambar 2.17.** Mekanisme hidrolisis asam pada ikatan glikosida  
(Xiang et al, 2004)

## 2.6 Khamir

Fungi merupakan mikroorganisme yang paling banyak dan tersebar diberbagai tempat. Hingga saat ini sudah lebih dari 250.000 spesies yang telah diidentifikasi dan terbagi menjadi 3 yaitu, khamir, kapang, dan jamur. Khamir (merupakan organisme bersel satu), kapang (organisme yang berfilamen), dan jamur (organisme yang berkumpul membentuk struktur makroskopik atau lendir) (Ingraham, 2000). Cabang dari mikrobiologi yang mempelajari fungi disebut mikologi.

Fungi merupakan organisme yang heterotrof yaitu menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon, nonfototrof tidak menggunakan sinar matahari sebagai sumber energi dan absorptif (menyerap nutrien dari larutan).

Kebanyakan fungi merupakan saprofit (makanannya dengan menguraikan bahan organik yang sudah mati).

Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik yang berada dalam kingdom fungi. Khamir merupakan mikroorganisme anaerob fakultatif atau dapat hidup dalam kondisi anaerob. Khamir ini bersel satu, kebanyakan berbentuk oval dan reproduksi secara aseksual dengan cara budding atau pertunasan walaupun ada sebagian dengan pembelahan biner (Pelczan and Chan, 1986).

Salah satu genus khamir adalah candida, dimana candida ini dapat dimanfaatkan untuk produksi xilitol.

Taksonomi candida adalah sebagai berikut:

Kerajaan : *Fungi*  
 Divisi : *Ascomycota*  
 Sub divisi : *Saccharomycotina*  
 Kelas : *Saccharomycetes*  
 Ordo : *Saccharomycetales*  
 Famili : *Saccharomycetaceae*  
 Genus : *Candida*  
 Contoh genus : *C. fukuyamaensis*; *C. boidinii*  
                   *C. albican* : *C. parapsilasis*  
                   *C. glabrata* : *C. tropicalis* dan lain-lain

### 2.6.1 *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

*Candida* ini dapat menghasilkan enzim xilose reductase sehingga dapat mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Berdasarkan penelitian sebelumnya, khamir ini merupakan penghasil xilitol paling tinggi dibanding dengan khamir yang lain. Khamir ini ditumbuhkan pada suhu ruang dalam medium yeast malt Agar (YMA). Koloninya berwarna putih agak krem; permukaan dan tekstur koloni licin, mengkilap seperti mentega: profil dan tepi koloni menggunung, lurus. Khamir ini mampu melakukan fermentasi menggunakan glukosa, galaktosa, dan sukrosa. Selain itu dapat mengasimilasi glukosa, selulosa, D-xilosa, dan L-arabinosa. Khamir ini juga bisa tumbuh membentuk koloni pada suhu 37°C. Isolat ini diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat (Fitrianingsih, 2005).

## 2.7 Metabolisme Pembentukan Xilitol oleh Khamir

Mekanisme terbentuknya xilitol dari xilosa yang menggunakan khamir dari genus *Candida*, maka xilosa akan masuk ke jalur metabolisme *Candida* yang seterusnya diubah jadi xilitol. Jalur katabolisme D-xilosa melibatkan tiga enzim, yaitu xylose reductase (XR), xylitol dehidrogenase (XDH), xilulokinase (XK). Mekanisme nya adalah sebagai berikut:

Mula-mula D-xilosa direduksi menjadi xilitol oleh enzim xylose reductase, xilitol yang terbentuk dioksidasi menjadi D-xilulosa oleh enzim xilitol dehidrogenase, lalu D-xilulosa difosforilasi menjadi xilulosa – 5 – fosfat oleh enzim xilulokinase akhirnya masuk ke jalur pentose phosphate pathway (PPP), jalur ini menggunakan energi berupa ATP (Granstrom et al, 2007). Xylose reductase memerlukan kofaktor baik NADH maupun NADPH, sedangkan enzim xilulokinase memerlukan ATP untuk membantu kerjanya.

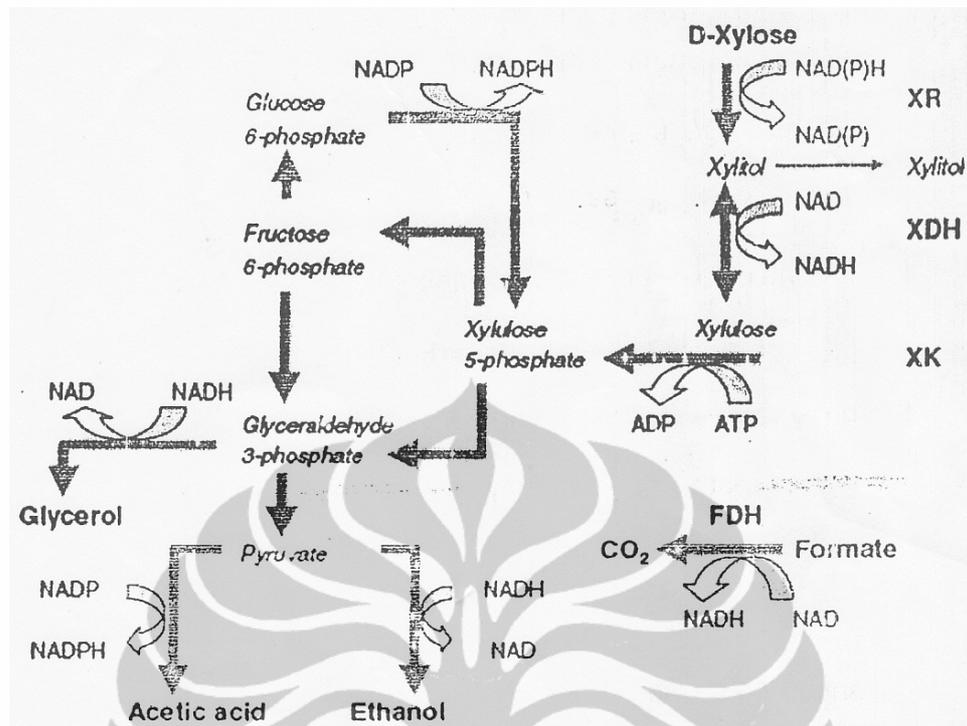
Untuk meningkatkan akumulasi xilitol dapat dilakukan penambahan gula pada hidrolisat untuk fermentasi. Gula yang ditambahkan sebagai kosubstrat bisa glukosa, arabinosa, fruktosa, maupun galaktosa. Penambahan gula pada hidrolisat ini, bertujuan agar sel khamir dapat tumbuh dari ATP yang dihasilkan dari proses glikolisis gula, sehingga xilosa dapat terkonsentrasi menjadi xilitol oleh enzim xylose reductase. Penambahan gula hanya pada konsentrasi tertentu, karena konsentrasi gula yang berlebih menyebabkan xilosa terabaikan oleh khamir sehingga xilitol tidak terbentuk.

Cara lain untuk meningkatkan xilitol adalah dengan membuat kondisi fermentasi anaerob. Jika khamir yang digunakan dari genus *Candida* maka oksigen punya peranan penting untuk menghasilkan xilitol dari xilosa.

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 xylose reductase dan menyebabkan akumulasi xilitol (Granstrom et al, 2007).

Selain dihasilkan xilitol, pada metabolisme diatas juga menghasilkan etanol dan asam asetat dari reaksi glukolisis.

Pembentukan asam asetat menggunakan enzim asetat kinose dan alkohol dengan enzim alcohol dehidrogenase.



**Gambar 2.18.** Jalur metabolisme xilosa oleh khamir (Granstrom et al, 2007).



## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Alat dan Bahan Kimia**

##### **3.1.1. Alat-alat yang digunakan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, labu erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, tabung reaksi, pipet volumetrik, beker gelas, batang pengaduk, corong gelas, tabung centrifuge, kondensor, cawan petri, botol semprot, pipet tetes, propipet (bulb) dan pipet ukur, Autoklap, Soxhlet, jarum ose, neraca analitik.

##### **3.1.2. Bahan-bahan kimia yang digunakan**

Bahan sampel; sorghum (malai dan batang). Bahan kimia yang digunakan; hexana, etanol, NaOH 1 %, aquadest, kertas saring, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 M, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

##### **3.1.3. Mikroorganisme yang digunakan**

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**

##### **3.2.1. Pembuatan Sampel Malai dan Tangkai**

Malai dan tangkai sorghum MANDAU dicuci untuk menghilangkan jamur, diangin-angin sampai kering, lalu malai dan tangkai dipotong kecil-kecil, di oven pada 50°C selama 8 jam, kemudian dihancurkan/ digiling sampai halus. Hasil dari penggilingan ini disaring lagi agar dihasilkan serbuk malai dan tangkai yang lebih halus. Sampel serbuk halus malai dan tangkai ini selanjutnya digunakan untuk pengujian berikutnya.

### **3.2.2. Delignifikasi Sampel**

Sampel malai dan tangkai di atas di dewax dengan cara ekstraksi heksana-etanol (2:1, v/v) selama 8 jam (dengan soxhlet). Kemudian endapannya ditambah NaOH 1% pada 55°C dengan perbandingan solid: liquid = 1: 25 selama 2 jam. Setelah itu padatnya diambil dan dinetralkan dengan aquades.

### **3.2.3. Pembuatan Hidrolisat**

Sampel malai dan tangkai sorghum MANDAU sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, dan ditambahkan 30 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3M. Kemudian sampel ditutup dengan sumbat kapas, dan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan variasi waktu hidrolisis 25, 30, 35, 40, dan 45 menit pada suhu 121°C. Kemudian ke dalam hidrolisat ditambahkan NaOH 0,5 M, untuk menetralkan asam sulfat. Setelah dinetralkan hidrolisat disaring menggunakan kertas saring, dan filtratnya disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan putar 3000 ppm. Untuk pengujian kadar xilosa dalam hidrolisat, filtrat yang didapatkan dari hasil sentrifugasi ditambahkan dengan resin penukar kation dan anion. Setelah itu disaring dengan menggunakan membran nitroselulosa dan dilakukan perhitungan kadar xilosa dengan menggunakan HPLC (High Performance Liquid Chromatography) shimadzu prominence 20 dengan kolom shimpack SCR-101C, merupakan kolom penukar kation terdiri dari kalsium dengan kopolimer stiren divinilbenzena. Waktu hidrolisis yang optimum akan dilanjutkan ke fermentasi.

### **3.2.4. Detoksifikasi Hidrolisat**

Ke dalam hidrolisat ditambahkan 1% arang aktif (w/v) kemudian dipanaskan selama 30 menit, disaring dan filtratnya siap digunakan untuk fermentasi.

### **3.2.5. Pembuatan larutan Standar**

#### **3.2.5.1. 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 berikutnya. Dengan variasi konsentrasi sebesar 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000ppm. Deret larutan 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.

#### **3.2.5.2. Larutan Standar Xilitol**

Larutan induk xilitol 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg xilitol, dimasukkan kedalam 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 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm.

#### **3.2.5.3. 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. Larutan ini selanjutnya digunakan untuk membuat larutan standar glukosa dengan konsentrasi sebesar 100 ppm.

#### **3.2.5.4. Larutan Standar Arabinosa**

Larutan standar arabinosa 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg arabinosa, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, dan ditambahkan air sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk membuat larutan standar arabinosa dengan konsentrasi sebesar 500 ppm.

#### **3.2.6. Sterilisasi Alat**

Semua alat-alat gelas yang digunakan untuk fermentasi disterilisasi kering menggunakan oven pada suhu 150°C selama 2 jam. Sedangkan alat plastik dan

media yang akan digunakan dilakukan sterilisasi basah menggunakan autoklaf (tekanan 2 atm pada suhu 160°C selama 15 menit).

### **3.2.7. Penyiapan Inokulum**

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

Medium agar yang digunakan untuk pertumbuhan adalah medium YMA 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 dimurnikan dengan metode cawan gores yakni:

- Petri berisi medium agar dibagi menjadi empat daerah.
- Secara aseptik, biakan yang berada dalam agar miring dipindahkan dengan cara menggoreskan jarum ose satu kali.
- Secara septik, jarum ose berisi biakan tadi digores bolak-balik ke dalam permukaan petri berisi medium yang telah disiapkan pada bagian tepi daerah pertama.
- Jarum ose dipijarkan di dalam api dan digunakan untuk menggores petri lagi.
- Kali ini 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. Setelah hari kedua, biakan dalam petri dilakukan pengamatan. Secara aseptis biakan yang dianggap berasal dari sel tunggal diambil dan dipindahkan ke dalam agar miring yang telah disiapkan. Biakan dalam agar miring tadi diinkubasi selama 2 hari suhu 30°C untuk dilakukan fermentasi.

### **3.2.8. Perhitungan Jumlah Sel Khamir (TPC)**

Sejumlah suspensi diencerkan sampai konsentrasi tertentu dengan air steril, kemudian ditanam dengan metode cawan tuang di atas medium yang sesuai. Diambil 1 ml suspensi sel khamir *Candida fukuyamaensis* (dari 10 ml), kemudian

dituangkan kedalam tabung yang berisi 9 ml air steril. Tabung tersebut merupakan tabung yang berisi suspensi sel khamir dengan pengenceran  $10^1$  kali. Selanjutnya dari tabung tersebut, dilakukan pengenceran  $10^3$  dan  $10^5$  kali. Dari tiap tabung hasil pengenceran  $10^3$  dan  $10^5$  suspensi khamir tersebut, diambil masing-masing sebanyak 1 ml dan 0,1 ml. Pengambilan volume suspense 0,1 ml dari pengenceran  $10^3$  merupakan pengenceran  $10^4$  kali, sedangkan pengambilan volume suspense 0,1 ml dari pengenceran  $10^5$  merupakan pengenceran  $10^6$  kali. Masing-masing pengenceran ini ( $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ) diinkubasi dalam cawan petri yang mengandung medium YMA selama 2 hari. Setelah 2 hari dilakukan perhitungan koloni yang diperoleh (diambil yang berjumlah 30 s.d 300 koloni sel).

### 3.2.9. Fermentasi

Komposisi medium yang digunakan untuk fermentasi yaitu xilosa 20 g/l, yeast ekstrak 2 g/l, kalium dihidrogen fosfat  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  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 suspensi sel terlebih dahulu:

- a. Secara aseptik, 9 ml akuades steril dituang ke dalam agar miring berisi biakan hasil pemurnian sebelumnya
- b. Secara aseptik, jarum ose digoreskan ke dalam tabung reaksi tadi dan suspensi yang didapat ditempatkan di dalam erlenmeyer steril.
- c. Suspensi yang didapat diaduk menggunakan vortex.

Setelah mendapatkan suspensi sel, kemudian diambil 5 ml dimasukkan ke dalam 100 ml medium fermentasi yang sebelumnya telah disterilisasi.

Medium fermentasi berisi suspensi sel dan kontrol sebagai pembanding, diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 2 hari dengan laju guncangan 110 rpm.

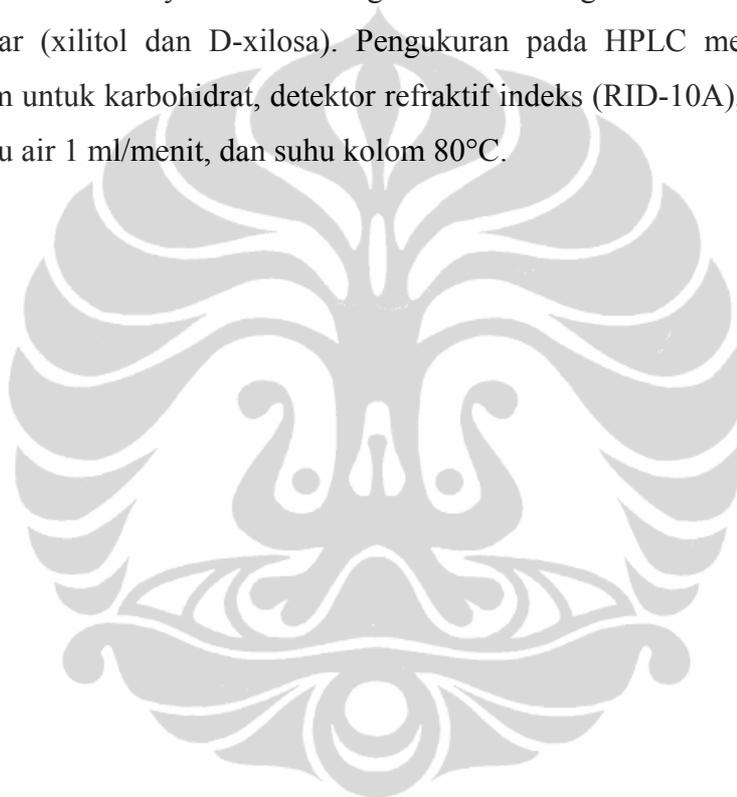
Fermentasi dihentikan setelah 2 hari dengan cara memanaskannya dalam penangas air pada suhu  $80^\circ\text{C}$  selama 5 menit. Kemudian disentrifugasi pada kecepatan 300 rpm selama 15 menit dan diambil filtratnya lalu ditambahkan resin penukar anion dan kation, kemudian disaring dan dilakukan perhitungan kadar xilosa dan xilitol menggunakan HPLC.

### 3.2.10. Variasi Kondisi

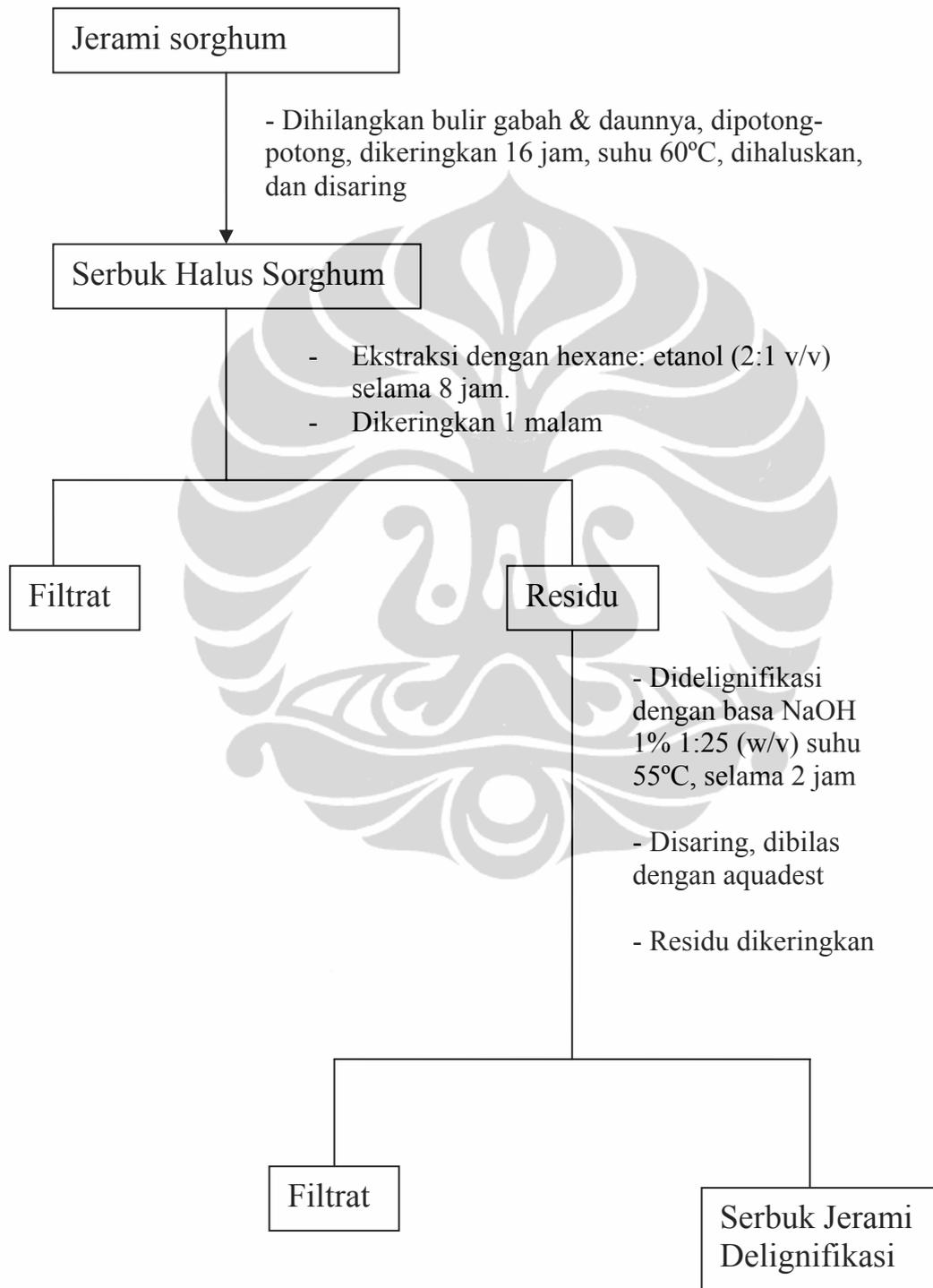
1. Variasi media starter

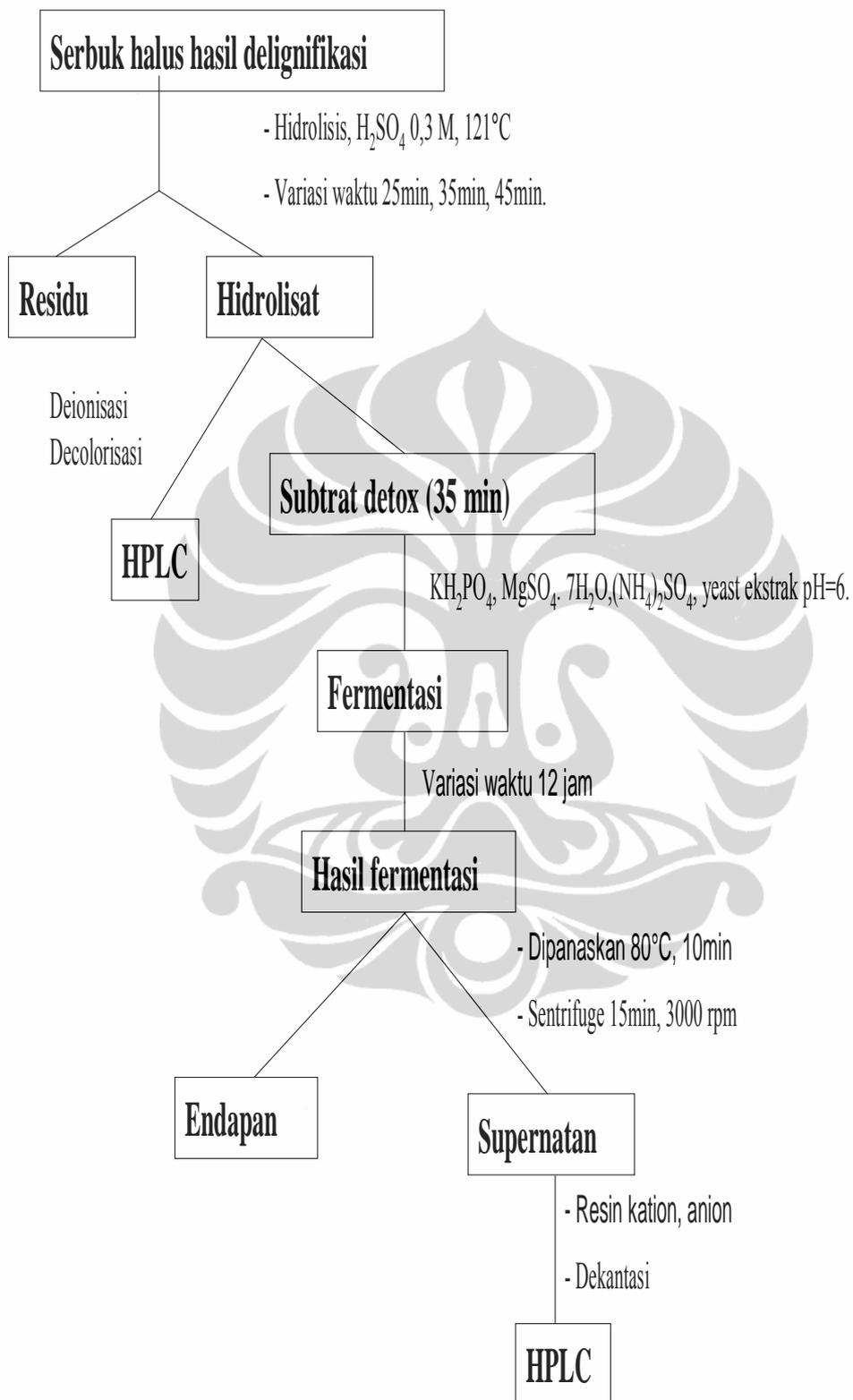
### 3.2.11. Analisis Produk dengan HPLC

Sampel hasil fermentasi disentrifugasi selama 20 menit, dengan kecepatan putar 3000 rpm. Supernatan yang didapatkan dari hasil sentrifugasi ditambah resin penukar kation dan anion, kemudian disaring dengan menggunakan membran nitroselulosa. Sebanyak 20  $\mu$ L larutan tersebut dianalisis dengan HPLC dan hasilnya diamati dengan membandingkan waktu retensinya dengan standar (xilitol dan D-xilosa). Pengukuran pada HPLC menggunakan kolom kalsium untuk karbohidrat, detektor refraktif indeks (RID-10A), fasa gerak aquabides, laju air 1 ml/menit, dan suhu kolom 80°C.



### 3.3. Diagram Kerja Secara Umum





### 3.4. JADWAL KEGIATAN PENELITIAN

No.	Jenis kegiatan	Bulan ke				
		1	2	3	4	5
1	Persiapan dan pencarian sampel					
2	Explorasi, pencarian dan penyusunan kajian pustaka					
3	Pelaksanaan penelitian					
4	Progress report					
5	Penyusunan data dan pelaporan					
6	Seminar, sidang dan pelaporan					

### RINCIAN ANGGARAN PENELITIAN

NO.	Jenis Pengeluaran	Perincian Anggaran
1	Pengambilan sampel dan penggilingan	Rp 500.000,00
2	Pembelian bahan pelarut, sediaan khamir	Rp 3.500.000,00
3	Penyusunan laporan	Rp 1.000.000,00
4	Seminar, sidang dan lain-lain	Rp 2.000.000,00
	Total anggaran	Rp 7.000.000,00

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini, dilakukan hidrolisis kimiawi pada limbah malai dan Tangkai sorghum MANDAU, menggunakan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) sebagai katalis, untuk menghasilkan xilosa. Xilosa yang dihasilkan digunakan sebagai bahan baku pembuatan xilitol, dengan metode fermentasi menggunakan khamir penghasil enzim xylose reduktase (XR), yaitu dari spesies *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247. khamir spesies ini dipilih karena menghasilkan xilitol yang paling banyak berdasarkan penelitian sebelumnya. Kandida ini diperoleh dari koleksi UICC yang diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat.

#### **4.1 Sampling Malai dan Tangkai Sorghum**

Malai dan Tangkai Sorghum MANDAU yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari kebun SEAMEO BIOTROP di Bogor. Beberapa alasan penggunaan limbah tangkai dan malai sorghum sebagai sumber selulose adalah sebagai berikut:

Pertama tangkai dan malai sorghum memiliki kandungan selulose yang cukup tinggi yaitu 24% lebih tinggi dibandingkan limbah lignoselulosa sekam padi (16,94 – 21,95%) dan sabut kelapa sawit (24%)

Kedua, sorghum adalah tanaman serealia yang punya prospek cukup bagus untuk tanaman pangan di Indonesia, karena tanaman sorghum punya banyak keunggulan dibanding tanaman yang lain. Pemanfaatan sorghum oleh para petani masih sebatas bijinya, sedang tangkai dan malainya dibuang sebagai sampah (limbah).

Beberapa alasan tersebut memungkinkan tangkai dan malai sorghum untuk diolah menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi, seperti xilitol.

#### **4.2 Pengolahan Malai dan Tangkai Sorghum**

Tangkai dan Malai Sorghum Mandau yang diperoleh dari SEAMEO BIOTROP dicuci bersih untuk menghilangkan jamur yang menempel, kemudian diangin-anginkan agar kering. Setelah kering dipotong kecil-kecil, dioven pada suhu  $50^{\circ}C$  selama 8 jam dan digiling sampai halus untuk memperoleh sampel

yang homogen. Proses oven dan penggilingannya dilakukan di LIPI Serpong. Hasil dari penggilingan disaring lagi dengan saringan tepung, agar lebih halus dan homogen. Penghalusan ini dilakukan untuk memperbesar luas permukaan, sehingga mempermudah proses hidrolisis, karena semakin besar luas permukaan, maka semakin besar kontak antara substrat dengan asam. Sampel serbuk halus malai dan tangkai ini akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

#### **4.3 Dewax (ekstraksi) Serbuk Malai dan Tangkai Sorghum**

Ekstraksi serbuk tangkai dan malai sorghum dengan soklet menggunakan campuran hexana dan etanol (2 : 1, v/v) untuk menghilangkan lemak, minyak dan lilin. Pada proses ekstraksi digunakan campuran Hexana-etanol karena campuran tersebut memiliki kepolaran yang hampir sama dengan lemak, minyak maupun lilin. Sehingga zat tersebut dapat terlepas dari tangkai/ malai dan larut dalam campuran tersebut. Selain itu titik uap campuran tidak berbeda begitu jauh, sehingga mudah dihilangkan dari substrat dengan jalan penguapan.

#### **4.4 Delignifikasi Serbuk Malai dan Tangkai Sorghum**

Proses ini bertujuan untuk menghilangkan lignin yang terdapat pada serbuk tangkai dan malai sorghum yang bisa menghambat terlepasnya hemiselulosa pada reaksi hidrolisis. Dengan hilangnya lignin diharapkan kontak antara asam dengan hemiselulosa lebih mudah dan senyawa-senyawa yang dapat menghibisi pertumbuhan Khamir dapat dihilangkan pada tahap ini. Delignifikasi digunakan larutan alkali yaitu larutan Natrium hidroksida (NaOH 1%) dengan perbandingan 1 : 25 (w / v). Dengan suhu kurang lebih 55° selama 2 jam. Larutan serbuk tangkai maupun malai sebelum didelignifikasi berwarna kuning bening, setelah didelignifikasi larutan berwarna coklat tua. Hal ini menunjukkan adanya sebagian lignin yang terlepas dari larutan serbuk tangkai maupun malai. Lignin merupakan polimer dari unit-unit fenil propana yang bersifat asam sehingga dapat bereaksi dengan basa (NaOH). Larutan NaOH yang bersifat basa akan bereaksi dengan lignin yang terkandung dalam sampel tangkai maupun malai sorghum. Caranya dengan memutus ikatan-ikatan eter antara unit-unit fenil propana menjadi monomer-monomernya, sehingga menurunkan berat molekul dan menghasilkan

gugus-gugus fenolik bebas. Dengan terlepasnya gugus fenolik bebas tersebut akan menaikkan hidrofilik lignin, sehingga lebih mudah larut dalam air.

Setelah didelignifikasi selama 2 jam kemudian dipisahkan antara filtrat dan residunya. Residu yang diperoleh dinetralkan dengan aquadest lalu dikeringkan, dan sampel ini disebut sampel delignifikasi.

#### 4.5 Hidrolisis Malai dan Tangkai Sorghum

Hidrolisis adalah peristiwa pemecahan molekul besar menjadi bagian-bagian yang lebih kecil yang merupakan komponen monomer dari senyawa itu sendiri. Pada hidrolisis tangkai dan malai sorghum bertujuan untuk memecah ikatan hemiselulosa. Proses hidrolisis ini dilakukan dengan menggunakan autoklat pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 2 atm. Pada suhu dan tekanan tersebut merupakan kondisi yang dibutuhkan untuk hidrolisis. Hidrolisis malai dan tangkai sorghum ini dibuat variasi waktu 25, 30, 35, 40, 45, menit. Pada hidrolisis ini digunakan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 0,3 M, karena asam sulfat merupakan katalis yang cukup baik. Konsentrasi 0,3 M merupakan kondisi yang paling optimum untuk menghidrolisis hemiselulosa, sedang selulosa belum banyak terhidrolisis, karena ikatan selulosa lebih kuat dibandingkan dengan ikatan pada hemiselulosa.

Hemiselulosa merupakan senyawa heteropolisakarida, apabila dihidrolisis oleh asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) akan menghasilkan produk campuran. Hal ini terjadi karena asam akan memecah ikatan glikosida pada polisakarida secara acak, sehingga tidak hanya monomer xilosa yang terbentuk tapi juga monomer-monomer yang lain, misalnya glukosa, arabinosa.

Proses hidrolisis menghasilkan hidrolisat yang berwarna bening, yang makin lama warnanya menjadi coklat kehitam, berbau harum, dan residu berupa endapan. Residu kemungkinan masih mengandung hemiselulosa yang belum terhidrolisis, sedangkan selulosa dan lignin sebagian mulai terhidrolisis. Karena pada ikatan glikosida yang mudah dipecah oleh asam menyebabkan monomer-monomer gula tidak hanya dari hemiselulosa tapi juga sebagian dari selulosa.

Hidrolisat yang bersifat asam dinetralkan dengan larutan NaOH 0,5 M hingga pH-nya netral. Tujuan dari penetralan ini adalah untuk menghentikan proses hidrolisis dan mencegah degradasi gula menjadi senyawa furfural.

Penambahan NaOH 0,5 M yang berlebihan Ph lebih dari 7 dapat merusak cincin karbohidrat.

Untuk menghilangkan ion-ion yang terdapat dalam hidrolisat maka dilakukan deionisasi. Caranya dengan menambahkan resin penukar kation dan anion secara bergantian sehingga hidrolisat bersifat netral. Tujuan penambahan resin tersebut untuk menghilangkan ion-ion logam yang dapat merusak kolom kromatografi.

Untuk mengetahui kadar xilosa dalam hidrolisat, dilakukan pengukuran dengan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Dalam pengukuran HPLC digunakan pelarut aquabidest, karena pelarut ini sangat baik untuk memisahkan gula misalnya xilosa, glukosa dan arabinosa.

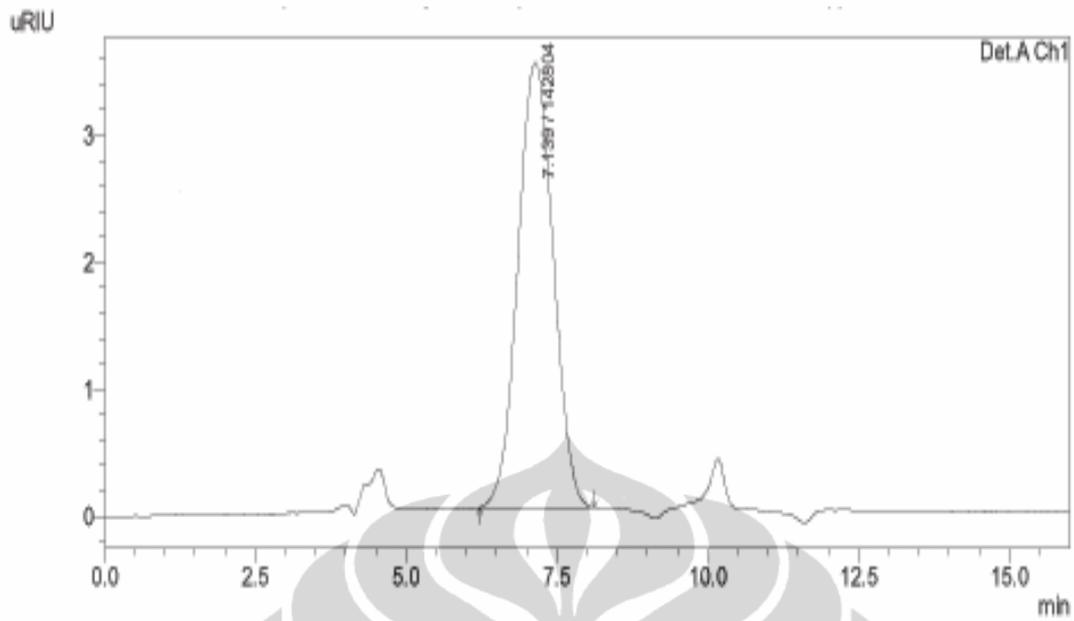
Kolom yang dipakai adalah kolom kalsium untuk karbohidrat, suhu kolom 80°C untuk menurunkan viskositas gula karbohidrat. Laju alir yang digunakan adalah 1 ml/menit.

#### **4.6 Identifikasi Standar Karbohidrat**

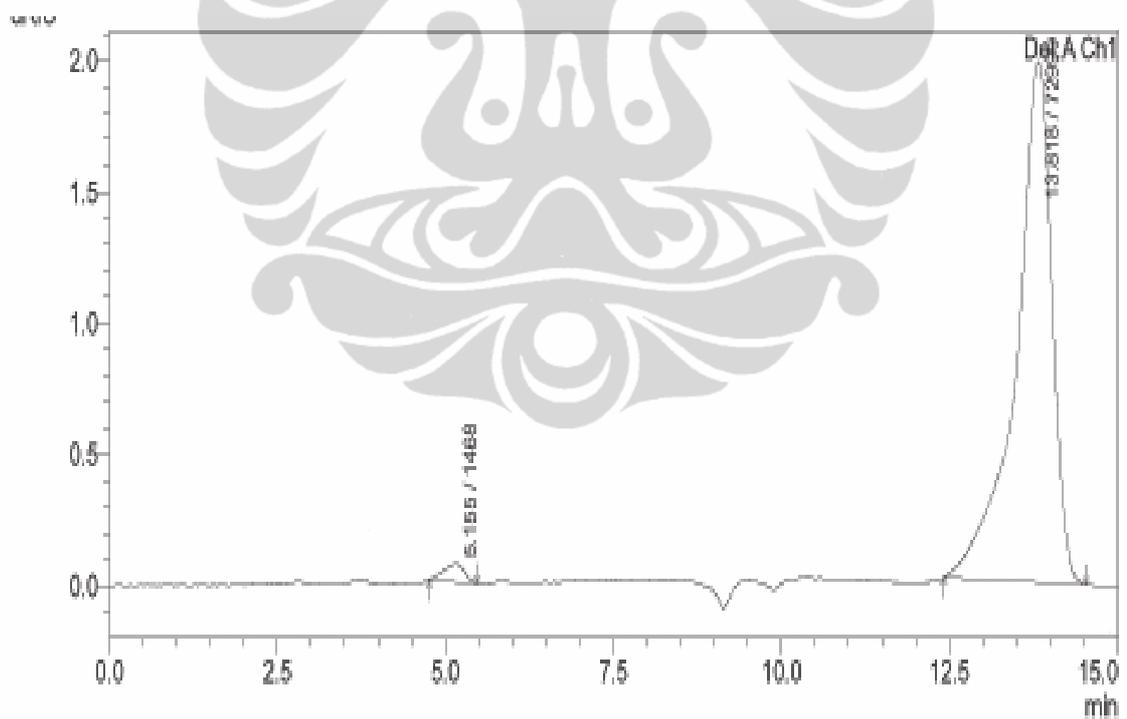
Larutan standar yang akan diidentifikasi adalah larutan standar xilosa, arabinosa, glukosa, xilitol murni dan fruktosa. Larutan standar tersebut dibuat dengan berbagai konsentrasi kemudian diukur dengan menggunakan HPLC Shimadzu Prominence 20 dengan kolom shimpack SCR-101 C, detektor refraktif indeks (RID-10A) untuk menentukan kandungan hasil hidrolisis.

Pengukuran ini untuk mendapatkan data, baik secara kualitatif maupun data secara kuantitatif. Pengukuran secara kualitatif dilihat dari waktu retensi yang muncul dari masing-masing standar sedangkan pengukuran secara kuantitatif dapat diketahui dari luas area peak setelah dibandingkan dengan standar.

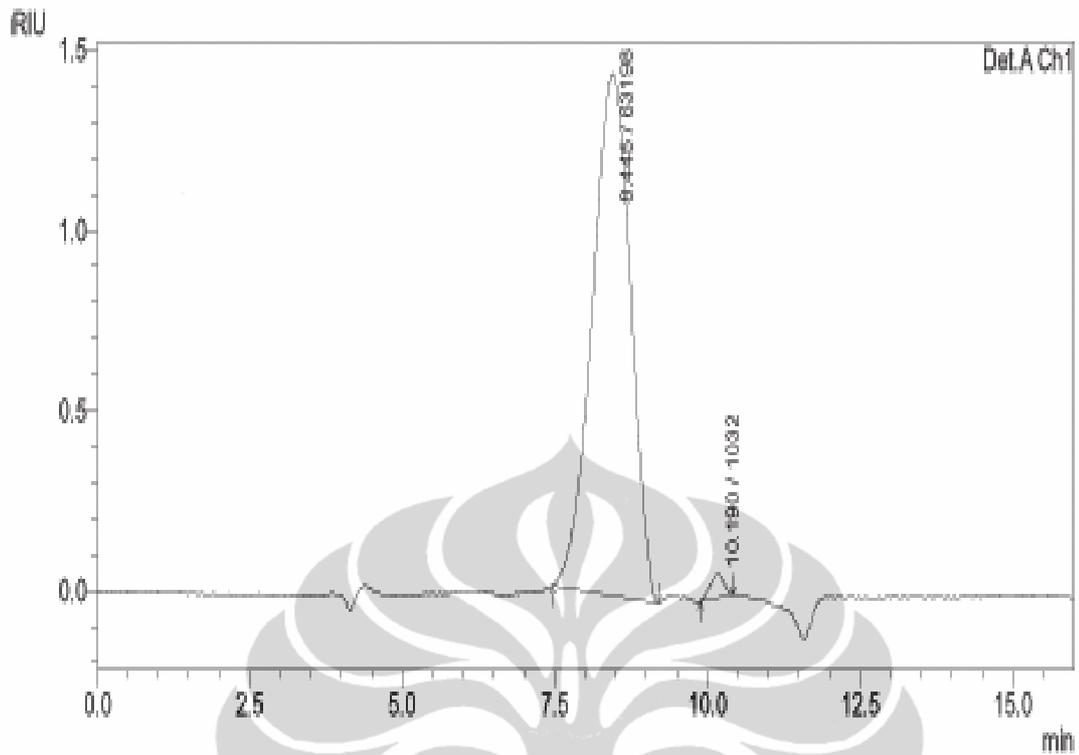
Penentuan waktu retensi dari setiap puncak berdasarkan pada interaksi gugus hidroksil dari masing-masing gula karbohidrat dengan kolom kalsium. Hasil pengukuran masing-masing larutan standar dapat dilihat dari kromatogram berikut ini. Untuk xilosa ditunjukkan dengan adanya puncak sekitar 7 menit, glukosa 6 menit, arabinosa 8 menit, fruktosa 8 dan xilitol pada 13menit.



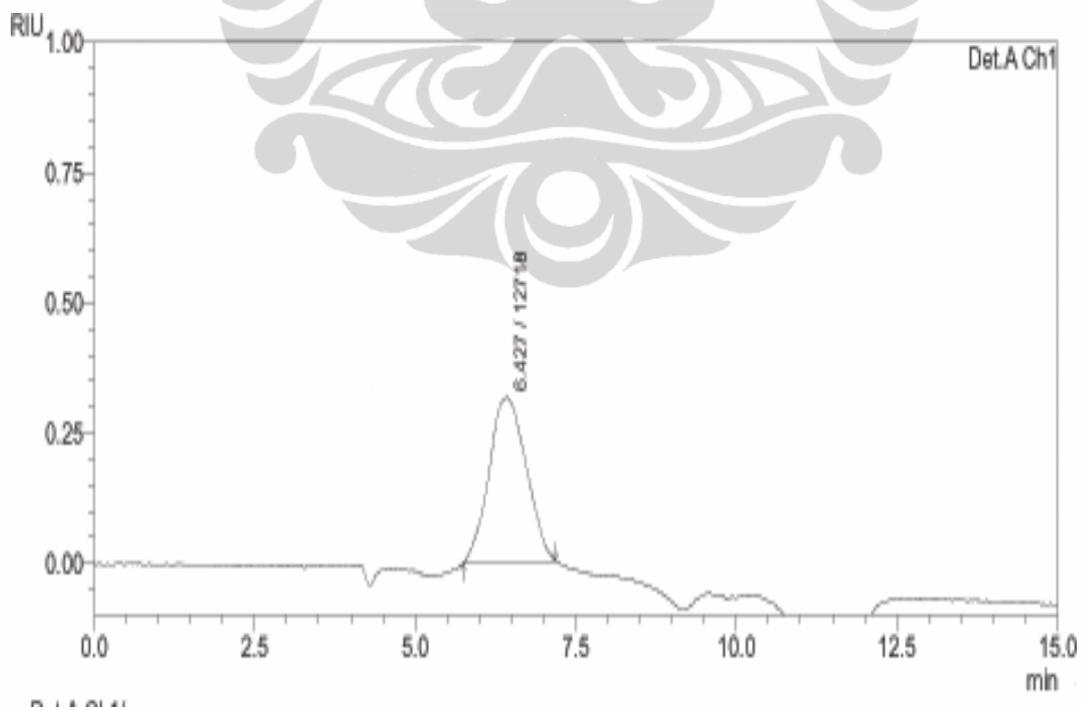
**Gambar 4.1.** Kromatogram standar xilosa 1000 ppm



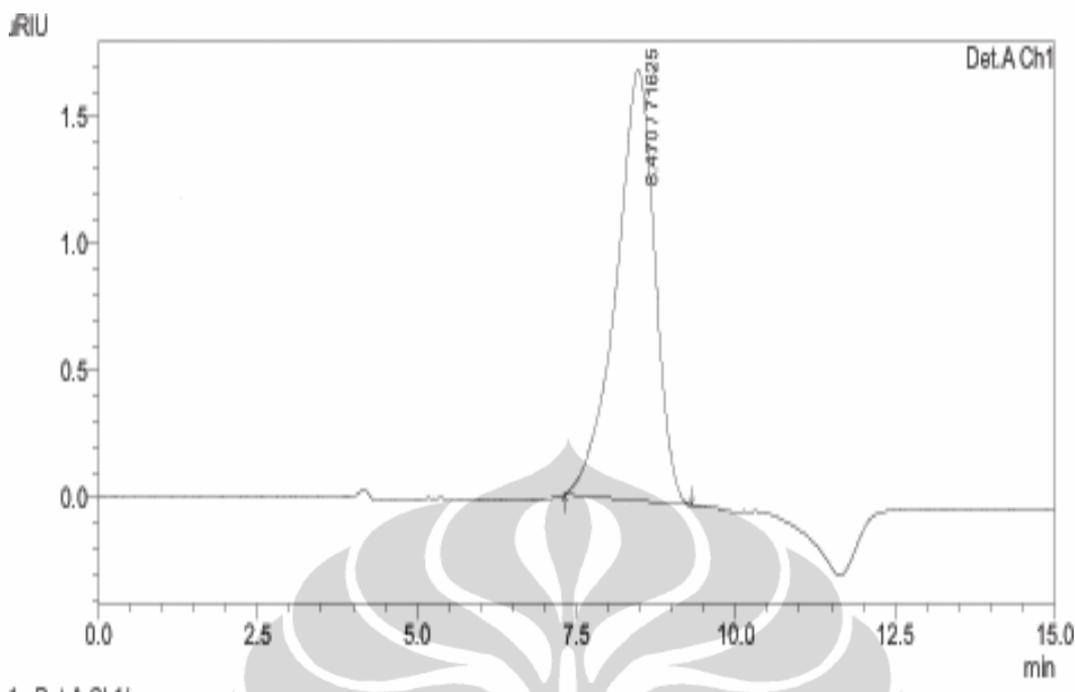
**Gambar 4.2.** Kromatogram standar xilitol 500 ppm



**Gambar 4.3.** Kromatogram standar fruktosa 500ppm



**Gambar 4.4.** Kromatogram standar glukosa 100 ppm



**Gambar 4.5.** Kromatogram standar arabinosa 500 ppm

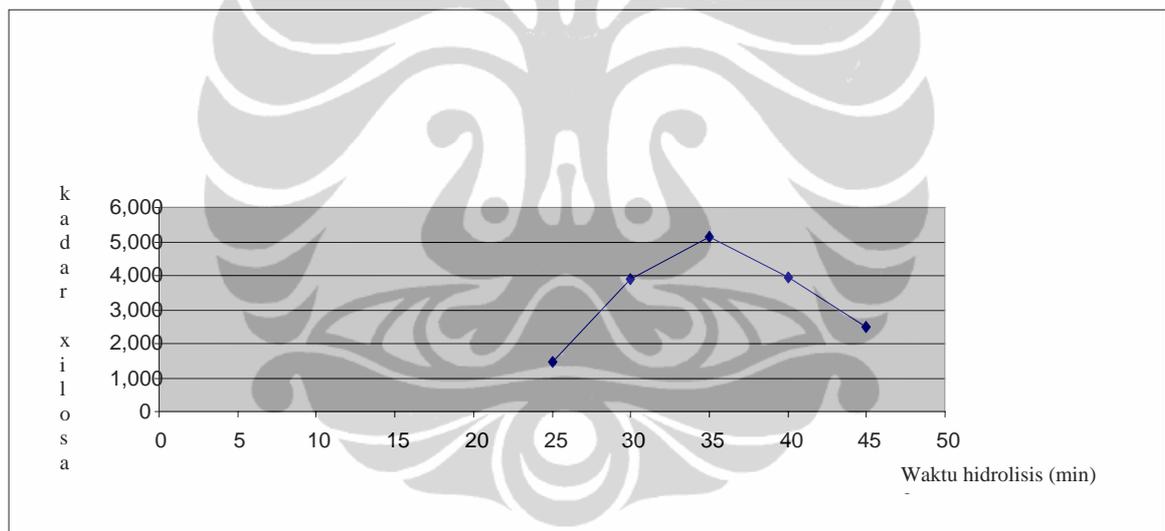
Hasil pengukuran selengkapnya yang berupa grafik deret standar dan kromatogram tertera pada lampiran.

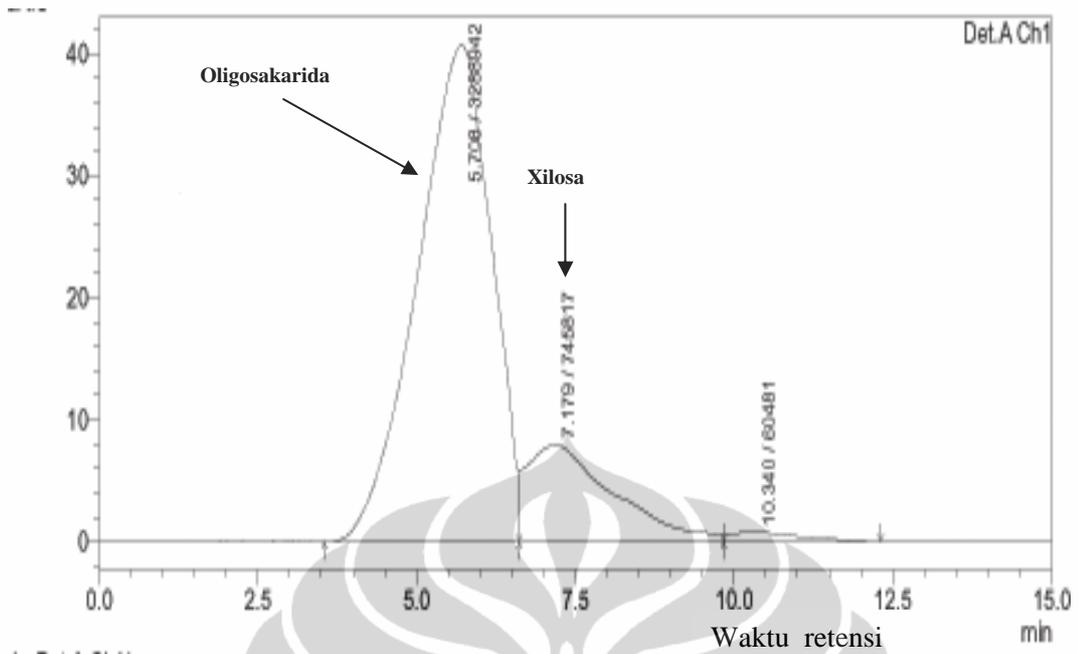
#### **4.7 Hasil Hidrolisis Malai dan Tangkai Sorghum**

Hidrolisis pada proses ini hanya dilakukan variasi waktu hidrolisis sedangkan konsentrasi asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 0,3 M dan suhu  $121^\circ C$  merupakan kondisi optimum pada penelitian sebelumnya. Variasi waktu hidrolisis yang dilakukan pada penelitian ini adalah 25, 30, 35, 40 dan 45 menit. Kondisi hidrolisis optimum baik tangkai maupun malai sorghum mandau diperoleh pada waktu 35 menit.

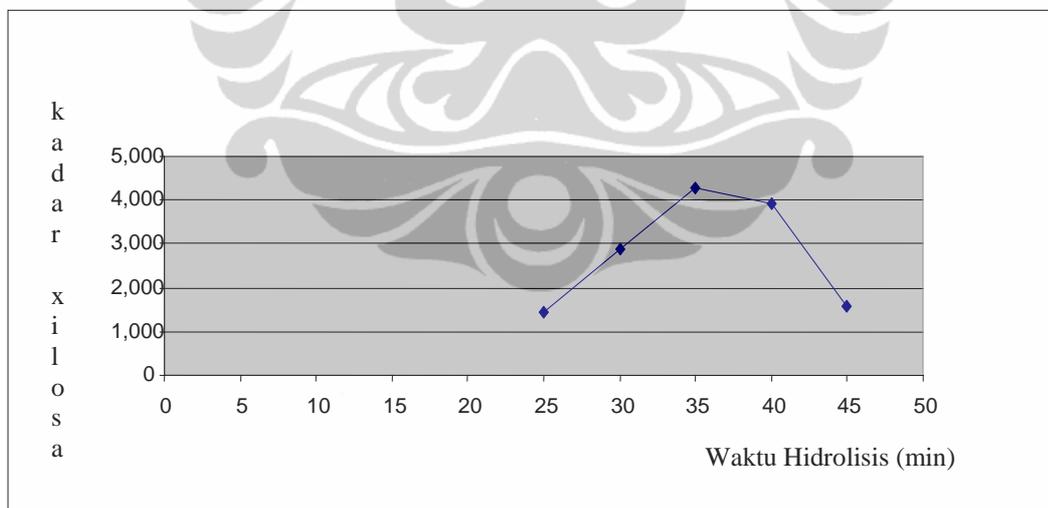
**Tabel 4.1.** Kadar xilosa dalam hidrolisis malai dan tangkai sorghum

Waktu hidrolisis (min)	Malai		Tangkai	
	Kadar xilosa (ppm)	% xilosa (w/w)	Kadar xilosa (ppm)	% xilosa (w/w)
25	1440,32	7,20	1459,87	7,00
30	3899,99	19,50	2882,51	13,80
35	5140,80	25,70	4269,15	20,56
40	3931,55	19,70	3583,35	17,92
45	2496,41	12,50	1555,50	7,48

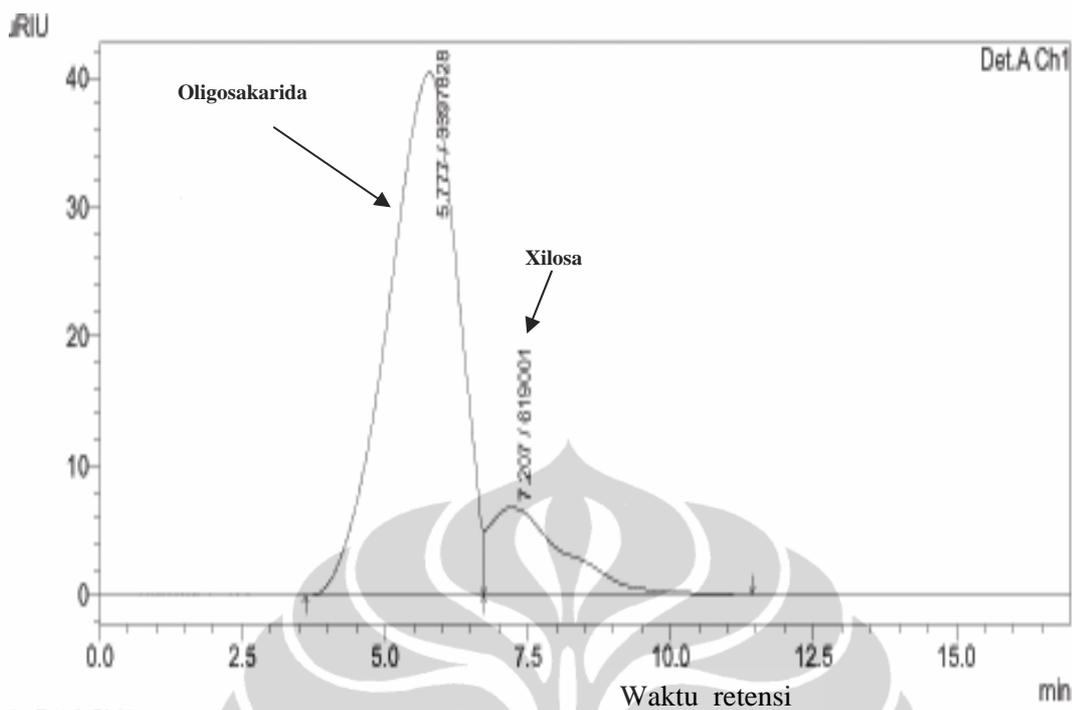
**Gambar 4.6.** Kurva kadar xilosa dalam hidrolisat.



**Gambar 4.7.** Kromatogram hidroisat malai sorghum waktu optimum (35 menit).



**Gambar 4.8.** Kurva kadar xilosa dalam hidrolisat



**Gambar 4.9.** Kromatogram hidrolisat tangkai sorghum waktu optimum (35 menit).

Dari data konsentrasi xilosa hasil hidrolisis malai dan tangkai pada (Gambar.4.6) dan (Gambar 4.8), menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis, maka semakin banyak ikatan-ikatan glikosida pada polisakarida yang terputus membentuk monomer-monomernya. Hal ini dapat kita lihat dari kurva hidrolisis malai maupun tangkai, mulai menit ke 25 kadar xilosa terus naik sampai menit ke 35, setelah mencapai waktu optimum kadar xilosa mulai berkurang. Penurunan kadar xilosa dikarenakan terbentuknya furfural dan HMF semakin meningkat. Dengan bertambahnya waktu hidrolisis maka terbentuknya xilosa jauh lebih sedikit dibandingkan dengan xilosa yang terdegradasi menjadi furfural dan HMF. Hal ini dapat dilihat dari warna hidrolisat yang terbentuk semakin coklat, karena terjadinya karamelisasi dari degradasi gula. Warna coklat pada hidrolisat merupakan indikasi dari senyawa furfural dan HMF yang terbentuk.

#### 4.8 Detoksifikasi Hidrolisat dengan Arang Aktif

Pada proses hidrolisis terhadap substrat malai dan tangkai sorghum selain mendegradasi polisakarida, juga menghasilkan beberapa senyawa pengotor yang bersifat toksik dan dapat menghambat (inhibitor) pertumbuhan mikroorganisme (*Candida fukuyamaensis*). Maka senyawa-senyawa pengotor tersebut harus dihilangkan. Pengotor-pengotor yang dimaksud adalah furfural dan hidroksi-metil-furfural (HMF) dari degradasi gula, asam asetat substansi yang dilepaskan dari struktur hemiselulosa, senyawa fenolik produk degradasi lignin. Inhibitor-inhibitor tersebut dapat dihilangkan dengan menambahkan arang aktif 1% (w/v) selama 30 menit ke dalam hidrolisat sampel serbuk malai dan tangkai sorghum. Metode detoksifikasi dengan arang aktif 1% (w/v) ke dalam hidrolisat sampel malai dan tangkai sorghum, dapat mengadsorpsi sebagian besar komponen toksik, untuk ditarik ke dalam pori-pori karbon aktif tanpa adanya xilosa yang hilang. Setelah 30 menit, maka filtrat dan endapannya disaring menggunakan kertas saring biasa (rangkap dua). Filtrat hasil saringan menjadi lebih bening dari sebelumnya karena senyawa-senyawa pengotor telah berkurang.

#### 4.9 Hasil Fermentasi Kontrol Xilosa

Penelitian ini menggunakan kontrol xilosa murni, untuk mengetahui kemampuan khamir dalam mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Konsentrasi xilosa murni yang digunakan adalah 0,2 g/L (2000 ppm), yang mendekati konsentrasi xilosa dalam sampel, agar dapat dipakai untuk acuan dan perbandingan. Sebelum fermentasi xilosa murni, ditambahkan nutrisi dan garam untuk pertumbuhan khamir lalu disterilisasi. Pengambilan hasil fermentasi dilakukan setiap 6 jam sampai jam ke-24. Proses fermentasi dihentikan dengan pemanasan, agar aktifitas khamir berhenti dan tidak merusak struktur karbohidratnya. Untuk memisahkan mikroorganisme dengan larutan hasil fermentasi disentrifugasi, ion-ion yang ada disupernatan dideionisasi agar tidak merusak kolom kromatografi. Kemudian dianalisis dengan menggunakan kromatogram cair kinerja tinggi (HPLC) untuk mengetahui kadar xilosa dalam sampel.



**Tabel 4.2. Data** hasil fermentasi xilosa murni

Waktu hidrolisis (menit)	Kadar xilosa sisa (ppm)	Kadar xilitol (ppm)	% konversi xilosa jadi xilitol
0	1933,59	tak terdeteksi	tak terdeteksi
6	1769,80	22,97	2,34
12	124,32	47,51	5,00
18	tak terdeteksi	tak terdeteksi	tak terdeteksi

Data tabel 4.2 menunjukkan bahwa proses fermentasi sebelum jam ke 6, produksi xilitol belum terdeteksi atau sangat kecil sekali, artinya xilitol yang terbentuk belum terakumulasi. Hal ini dikarenakan xilitol yang dihasilkan dari fermentasi xilosa oleh enzim xilitol reduktase, akan dioksidasi menjadi xilulosa oleh enzim xilitol dehidrogenase. Xilulosa yang terbentuk akan difosforilasi oleh enzim xilulokinase menjadi xilulosa-5-fosfat, dan akhirnya masuk jalur pentose phosphate pathway (ppp) untuk menghasilkan energi. (Granstrom, 2007; Burnberg, 1984). Jadi proses fermentasi xilosa sebelum jam ke 6 masih dimanfaatkan oleh khamir untuk menghasilkan energi pertumbuhan. Setelah jam ke 6, selain untuk menghasilkan energi, xilitol mulai terakumulasi dan jumlahnya terus meningkat hingga mencapai konsentrasi tertinggi pada jam ke 12. Setelah jam ke 12 konsentrasi xilitol makin menurun dan pada jam ke 18 sudah tidak terdeteksi. Menurunnya konsentrasi xilitol disebabkan xilosa sebagai sumber karbon mulai habis, sehingga xilitol yang ada dioksidasi menjadi xilulosa dan xilulosa difosforisasi menjadi xilulosa-5-fosfat yang akhirnya diubah menjadi energi pada jalur (ppp).

#### **4.10 Optimasi Fermentasi Hidrolisat Malai dan Tangkai Sorghum dengan *Candida fukuyamaensis* UICC-Y247**

Medium agar yang digunakan untuk pertumbuhan khamir adalah Yeast Malt Agar (YMA) yang terdiri dari: ekstrak khamir, ekstrak malt, pepton, glukosa dan agar.

Peralatan dan media yang akan digunakan untuk fermentasi dalam keadaan steril agar tidak terjadi kontaminasi dengan mikroorganisme yang lain. Sebelum digunakan untuk fermentasi, isolat khamir yang didapat dari laboratorium mikrobiologi UICC (Universitas Indonesia Culture Collection) difurifikasi dengan metode cawan gores, dengan media YMA dan diinkubasi. Metode ini merupakan cara yang umum dan mudah untuk pemurnian dari kontaminasi mikroorganisme yang lain. Petri yang telah digores diinkubasi, dalam inkubator pada suhu 30°C selama dua hari. Setelah hari kedua biakan diamati dan dipindahkan ke agar miring, kemudian diinkubasi selama dua hari sebagai stock culture. Untuk fermentasi disiapkan media aktivasi (strarter), yang terdiri dari media fermentasi ditambah xilosa dan suspensi sel khamir. Tujuan penambahan xilosa adalah untuk membiasakan khamir yang biasanya mengkonsumsi glukosa (C<sub>6</sub>) diganti dengan xilosa (C<sub>5</sub>). Dengan penambahan xilosa pada media starter diharapkan khamir telah siap mengubah xilosa menjadi xilitol, waktu media aktivasi dimasukkan ke dalam substrat malai dan tangkai sorghum. Komponen-komponen dalam media fermentasi fungsinya adalah xilosa sebagai sumber karbon, ekstrak khamir sebagai sumber nutrisi (vit B, sumber C dan N) sedangkan KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; MgSO<sub>4</sub> .7H<sub>2</sub>O; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> adalah sumber mineral. Untuk pH diatur pada pH 6 yang merupakan pH optimal untuk pertumbuhan khamir. Sebelum dilakukan proses fermentasi, sel khamir yang terdapat pada suspensi kita hitung jumlah selnya. Penghitungan jumlah khamir dengan metode kamar hitung. Jumlah sel yang terdapat pada suspensi sel adalah  $1,588 \cdot 10^8$  sel/ml.

Inokulum dimasukkan dalam media fermentasi secara aseptik, bersama dengan xilosa kontrol yang nanti untuk pembanding. Kemudian diinkubasi dalam inkubator shaker pada suhu 30°C dan laju guncangan 110 rpm selama 60 jam. Pengambilan produk dilakukan setiap 12 jam lalu dihitung kadar produknya dengan HPLC untuk diketahui waktu optimum pembentukan produk hasil fermentasi (xilitol).

#### **4.11 Hasil Fermentasi Substrat Malai dan Tangkai Sorghum.**

Setelah dilakukan fermentasi substrat malai dan tangkai sorghum, hasil fermentasi diambil setiap 12 jam mulai dari 0, 12, 24, 36 dan 48 jam. Proses



fermentasi dihentikan dengan memanaskan tabung reaksi yang berisi sampel dipanaskan air dengan suhu 80°C selama 10 menit. Pemanasan dengan suhu tersebut bertujuan menghentikan aktivitas Khamir, tapi tidak merusak struktur karbohidratnya. Kemudian untuk memisahkan mikroorganisme yang telah mati dengan filtrat hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3000 rpm selama 15 menit. Kemudian dilakukan dekantasi untuk memperoleh supernatannya. Sampel di deionisasi untuk menghilangkan ion-ion yang ada agar tidak merusak kolom kromatografi. Untuk mengetahui kadar xilosa dan xilitol dalam sampel, dilakukan analisis dengan menggunakan HPLC. Kromatogram hasil pengukuran ditentukan luas areanya dan besarnya dibandingkan dengan luas area standar xilosa dan xilitol.

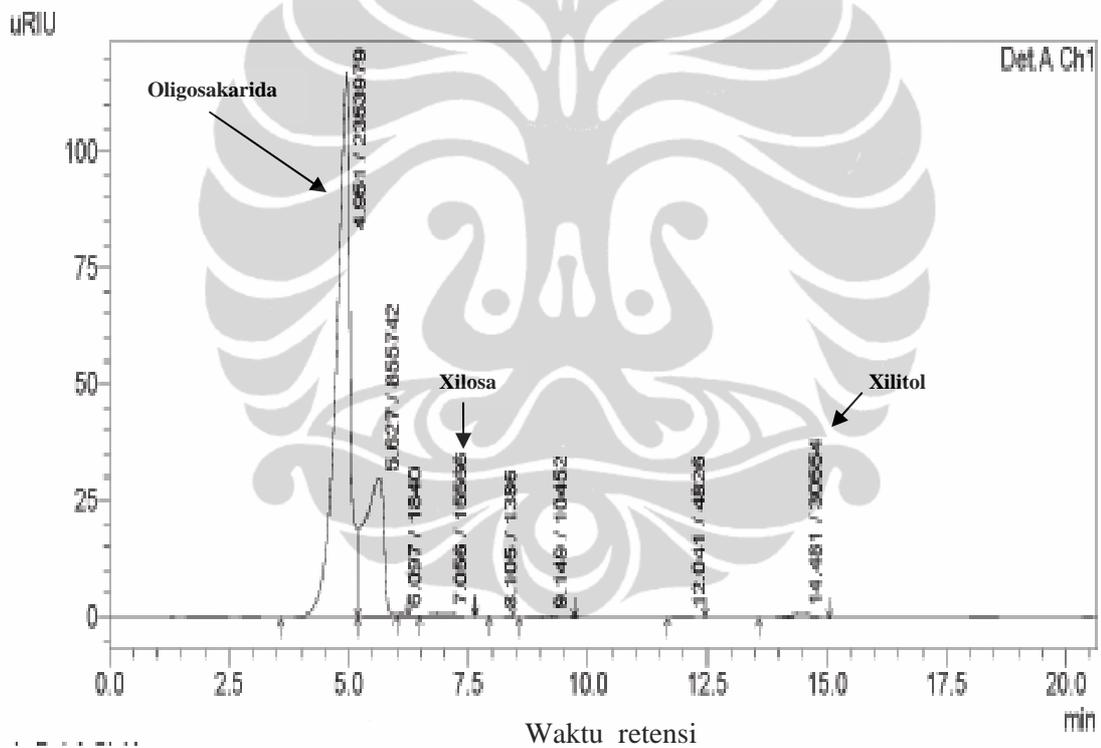
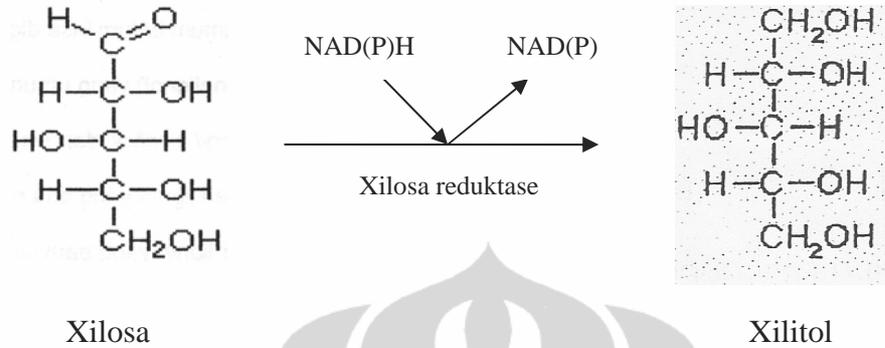
**Tabel 4.3.** Data hasil optimasi fermentasi substrat malai dan tangkai sorghum

Waktu fermentasi (jam)	Malai			Tangkai		
	Xilosa sisa (ppm)	Xilitol (ppm)	% konversi xilosa menjadi xilitol	Xilosa sisa (ppm)	Xilitol (ppm)	% konversi xilosa menjadi xilitol
0	3071,07	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd
12	122,23	217,68	14,30	3027,87	143,26	9,56
24	ttd	27,88	1,64	143,41	ttd	ttd
36	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd
48	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd

Data optimasi fermentasi malai dan tangkai sorghum menunjukkan, bahwa produksi xilitol sebelum jam ke 12 tidak terdeteksi, karena xilitol yang terbentuk dioksidasi lagi untuk mendapatkan energi pertumbuhan. Xilitol mulai terakumulasi pada jam ke 12, artinya khamir mulai menghasilkan metabolit yaitu xilitol. Xilitol yang terbentuk pada jam ke 12 merupakan hasil tertinggi dengan kadar xilitol 217,68 ppm dan persen konversi xilosa menjadi xilitol sebesar 14,30 % untuk malai, sedangkan untuk tangkai kadar xilitolnya 143,26 ppm dan persen konversi xilosa menjadi xilitol sebesar 9,56. Setelah jam ke 12 produksi xilitol menurun dan akhirnya tidak terdeteksi. Menurunnya kadar xilitol dikarenakan xilosa sebagai sumber karbon mulai habis,

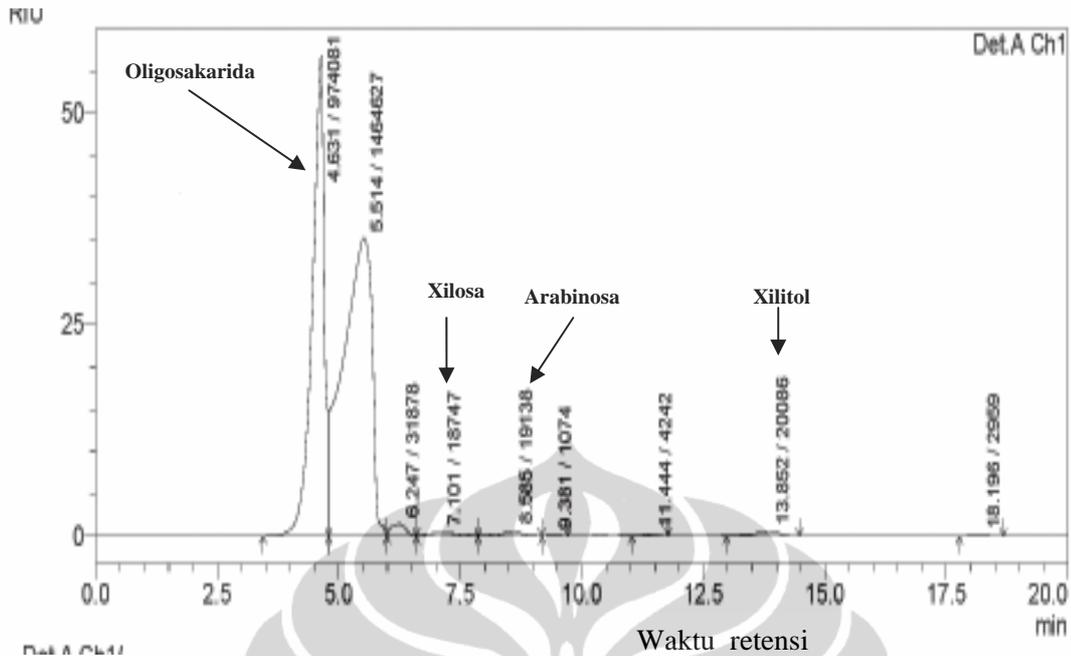
sehingga khamir akan memakan xilitol yang sudah terakumulasi untuk menghasilkan energi pertumbuhan.

Reaksi terbentuknya xilitol dari xilosa (reaksi hidrogenasi)



**Gambar 4.10.** Kromatogram optimasi fermentasi substrat malai (12 jam)





**Gambar 4.11.** Kromatogram optimasi fermentasi substrat tangkai (12 jam)

## 4.12. Fermentasi Malai dan Tangkai Sorghum

### 4.12.1. Fermentasi tanpa Kosubstrat

Substrat malai dan tangkai sorghum difermentasi, kemudian hasil fermentasi diambil setiap 6 jam, mulai dari 0, 6, 12, dan 18 jam.

**Tabel 4.4.** Hasil fermentasi substrat malai dan tangkai tanpa kosubstrat

Waktu fermentasi (jam)	Malai			Tangkai		
	Kadar xilitol (ppm)	% yield dalam 1g sampel	% konversi xilosa jadi xilitol	Kadar xilitol (ppm)	% yield dalam 1g sampel	% konversi xilosa jadi xilitol
0	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd
6	ttd	Ttd	ttd	ttd	ttd	ttd
12	115,967	1,20	12,88	103,77	1,04	10,88
18	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd

#### 4.12.2. Fermentasi dengan Kosubstrat

Kosubstrat fruktosa yang ditambahkan pada fermentasi adalah 7,5 % dan 15 % dari kadar xilosa hidrolisat. Malai konsentrasi xilosa hidrolisatnya 1774 ppm dan tangkai 1900 ppm, sehingga fruktosa yang ditambahkan untuk malai masing-masing 133 ppm dan 266 ppm, sedangkan tangkai 142 ppm dan 284 ppm. Pengambilan hasil fermentasi dilakukan setiap 6 jam.

Hasil fermentasi adalah sebagai berikut:

**Tabel 4.5.** Hasil fermentasi malai dan tangkai dengan kosubstrat fruktosa 7,5%.

Waktu fermentasi (jam)	Malai			Tangkai		
	Kadar xilitol (ppm)	% yield dalam 1g sampel	% konversi xilosa jadi xilitol	Kadar xilitol (ppm)	% yield dalam 1g sampel	% konversi xilosa jadi xilitol
0	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd
6	51,09	0,52	5,00	123,72	1,24	14,40
12	180,59	1,82	18,04	142,02	1,42	16,50
18	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd

Data hasil fermentasi pada tabel 4.4 dan 4.5 menunjukkan bahwa ada perbedaan antara fermentasi tanpa kosubstrat dengan fermentasi ditambah kosubstrat. Pada fermentasi tanpa kosubstrat, terbentuknya xilitol pada jam ke 12 dengan konsentrasi 115,97 ppm, konversi xilitol 12,88 % untuk malai, sedangkan tangkai kadar xilitolnya 103,77 ppm, konversi xilitol 10,88 %. Fermentasi dengan kosubstrat 7,5 % ternyata xilitol terbentuk mulai dari jam ke 6, yang terus meningkat sampai konsentrasi tertinggi jam ke 12.

Fermentasi tanpa kosubstrat, energi untuk pertumbuhan diambil dari xilosa sehingga pada awal fermentasi xilitol tidak terakumulasi, karena xilitol yang terbentuk akan diubah menjadi energi. Pada fermentasi dengan kosubstrat 7,5 % ternyata xilitol mulai terbentuk pada jam ke 6. Hal ini dikarenakan energi untuk

pertumbuhan khamir diperoleh dari glikolisis fruktosa yang ditambahkan, sehingga fermentasi xilosa terakumulasi menjadi xilitol mulai jam ke 6. Penambahan kosubstrat 7,5 % juga meningkatkan kadar xilitol menjadi 180,59 ppm, konversi xilitol 18,04 % untuk malai dan 142,02 ppm, konversi xilitol 16,50 % untuk tangkai.

**Tabel 4.6.** Hasil fermentasi malai dan tangkai dengan kosubstrat fruktosa 15%.

Waktu fermentasi (jam)	Malai			Tangkai		
	Kadar xilitol (ppm)	% yield dalam 1g sampel	% konversi xilosa jadi xilitol	Kadar xilitol (ppm)	% yield dalam 1g sampel	% konversi xilosa jadi xilitol
0	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd
6	42,12	0,42	5,36	ttd	ttd	ttd
12	69,71	0,70	8,22	41,92	0,42	4,88
18	ttd	ttd	ttd	39,82	0,38	4,56

Penambahan kosubstrat ternyata tidak selalu menaikkan kadar xilitol yang terakumulasi, tetapi penambahan kosubstrat dengan konsentrasi tepat yang dapat menaikkan kadar xilitol. Penambahan kosubstrat yang berlebih justru akan menghibisi terbentuknya xilitol, karena xilosa akan terabaikan oleh khamir. Hal ini terbukti pada penambahan kosubstrat fruktosa 15 %, xilitol yang terbentuk justru menurun. Pada penambahan kosubstrat 15 % kadar xilitol yang terbentuk hanya 69,71 ppm, konversi xilitol 8,22 % untuk malai dan 41,92 ppm, konversi xilitol 4,88 % tangkai.

**Tabel 4.7.** Perbandingan konversi xilitol hasil fermentasi tanpa kosubstrat dan menggunakan kosubstrat

Waktu fermentasi (jam)	Malai			Tangkai		
	Tanpa kosubstrat	Kosubstrat fruktosa 7,5%	Kosubstrat fruktosa 15%	Tanpa kosubstrat	Kosubstrat fruktosa 7,5%	Kosubstrat fruktosa 15%
0	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd
6	ttd	5,00	5,36	ttd	14,40	ttd
12	12,88	18,04	8,22	10,88	16,50	4,88
18	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	4,56

Tabel 4.7. menunjukkan bahwa penambahan kosubstrat fruktosa 7,5 % dapat menaikkan konversi xilitol dari 12,88 % menjadi 18,04 % untuk malai dan 10,88 % menjadi 16,50 % tangkai. Penambahan kosubstrat fruktosa 15 % ternyata menurunkan konversi xilitol dari 12,88 % menjadi 8,22 % untuk malai dan 10,88% menjadi 4,88 % tangkai.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Pada penelitian ini, kondisi optimum hidrolisis malai dan tangkai sorghum menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 M, suhu 121<sup>0</sup> C adalah 35 menit dengan kadar xilosa yang dihasilkan 25,7% untuk malai dan 20,56% untuk tangkai.

Produk xilitol tertinggi hasil fermentasi tanpa kosubstrat terjadi pada waktu fermentasi 12 jam, dengan kadar xilitol 115,97 ppm persen konversi xilitol 12,88% untuk malai dan 103,77 ppm, 10,88% tangkai.

Produk xilitol tertinggi hasil fermentasi dengan kosubstrat fruktosa 7,5% terjadi pada waktu fermentasi 12 jam, dengan kadar xilitol 180,59 persen konversi xilitol sebesar 18,04% untuk malai dan 142,02 ppm, 16,50% tangkai.

Produk xilitol tertinggi hasil fermentasi dengan kosubstrat fruktosa 15% terjadi pada waktu fermentasi 12 jam, dengan kadar xilitol 69,71ppm, persen konversi xilitol sebesar 8,22% untuk malai dan 41,92 ppm, 4,88% tangkai.

Penambahan kosubstrat fruktosa 7,5% dapat menaikkan produksi xilitol, sedangkan penambahan kosubstrat 15% produksi xilitol turun.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan optimasi konsentrasi yang lebih variatif untuk penambahan kosubstrat baik itu glukosa,arabinosa,maupun fruktosa mulai dari kadar yang lebih kecil.

Untuk limbah sorghum ini perlu variasi antara sampel yang didelignifikasi dengan yang tidak didelignifikasi.

Untuk mendapatkan xilosa yang lebih banyak perlu dicari bahan baku alternatif lain yang bukan hanya limbah tanaman sereal tapi perlu Dikembangkan pada kulit kayu keras.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abu – Ellen, Khaled H. The influence of dietary carbohydrates on in vitro adherence of four candida species to human buccal epithelial cells. *Microbial Ecology in Health and Disease* (2005). 17 (3). 156 – 162
- Aditya, A. 2004, 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. FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
- de Man, John M. 1997. *Kimia Makanan*, terjemahan dari *Principles of Food Chemistry*, oleh Padmawinata, Kosasih. ITB, Bandung: 550 halaman
- Fitrianingsih, 2005. Inventarisasi dan Identifikasi Khamir dari Serasah di Taman Nasional Gunung Halimun. Karya utama sarjana Biologi FMIPA UI. Depok.
- Fatmawati, Ria. 2009. Produksi Xilitol dari Hidrolisat Hemiselulosa Jerami Padi (*Oryza Sativa*) dengan Khamir *Candida Fukuyamaensis*. Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
- Granstrom, T.B., Ken I, & Matti L. 2007. A Rare Sugar Xylitol. Part I: The Biochemistry and Biosynthesis of Xylitol. *Appl Microbial Biotechnol* 74: 227 – 281
- Granstrom, T.B., Ken I, & Matti L. 2007. A Rare Sugar Xylitol. Part II: Biotechnological Production and Future Applications of Xylitol. *Appl Microbial Biotechnol* 74: 273 – 276
- Hang Lee, Coralie R. Sopher & Kerrm Y.F. Yau. 1996. Induction of Xylose Reductase and xylitol Dehydrogenase Activities on Mixed Sugars in *Candida Guiller Mondii*. *J. Chem. Tech. Biotechnol* 66: 375 – 379
- Human, Soeranto. 2009. Iptek Nuklir dalam Pemuliaan Gandum dan Sorghum untuk Diversifikasi Pangan dan Energi. Badan Tenaga Nuklir Nasional
- Human, Soeranto, Eko Pranoto, Erawan Effendi. *Tanaman Sorghum*. Badan Tenaga Nuklir Nasional
- Katsner, James R., Mark A.E & Sarah A.L. 2001. Glucose Repression of Xylitol Production in *Candida Tropicalis* Mixed Sugar Fermentation. *Biotechnol Letters*. 23: 1663 – 1667.

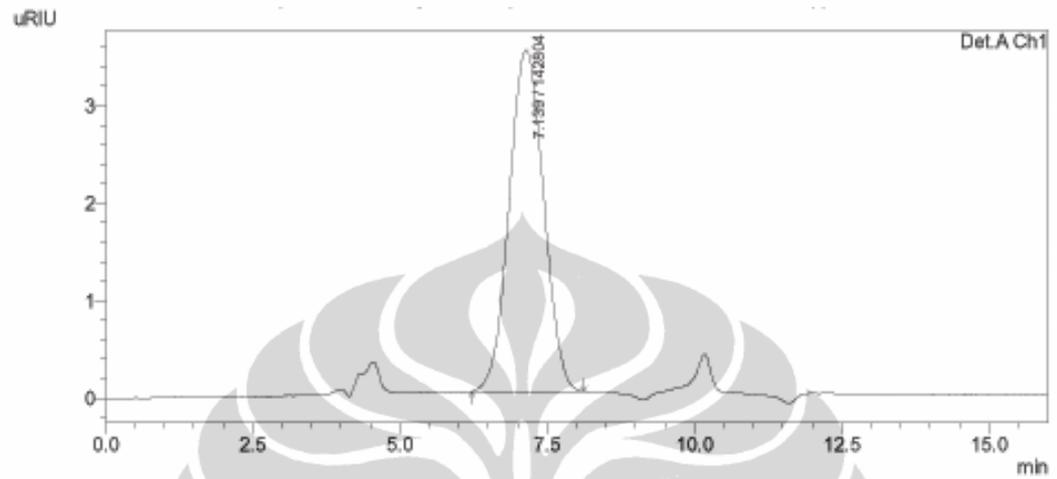
- Karhuman, Kaisa, Romain F. & Mario F. 2007. High Activity of Xylose Reductase and Xylitol Dehydrogenase Improves Xylose Fermentation by Recombinant *Saccharomyces Cerevisiae*. *AAPL Microbiol Biotechnol.* 73: 1039-1046.
- Kim, S.Y. & Kim S.Y. 1998. Increase of xylitol Yield by Feeding Xylose and Glucose in *Candida Tropicalis*. *AAPL Microbiol Biotechnol.* 50: 419-425
- Lee, W.J., Kim M.d., Ryu Y.W. & Bisson L.F. 2002. Kinetik Studies on Glucose and Xylose Transport in *Saccharomyces Cerevisiae*. *AAPL Microbiol Biotechnol.* 60: 186-191
- Machfud, E. Gumbira Said, Krisnani. *Fermentor*. Institut Pertanian Bogor. 1989.
- Mattila P.T., Svanberg M.J., Jamsa T., Knuutila M.L. 2002. Improved bone Biomechanical Propertis in Xylitol - Fed Aged Rats. *Metabolisme* 51(1): 92-6
- Puspita, Cicilia Aristya D. 2009. Pemanfaatan Limbah Serbuk Gergajian Kayu Jati (*Tectonia Grandis*) dan Kayu Melinjo (*Gnetum Gnemon*) untuk Produksi Xilitol oleh Khamir *Candida fukuyamaensis* U11CC Y-247. Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA.
- Robinson, Trevor. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, terjemahan dari *The Organic Constituents of Higher Plants*, 6<sup>th</sup> edition.
- Riki. 2008. Seleksi Berbagai Species Khamir untuk Menghasilkan Xilitol Menggunakan Bahan Dasar D-Xilosa. Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
- Renko, Marjo; Volkonen P., Topiainen T., Kontiotari T., Mattila P., Knuutila M.; Swanberg M., Leinonen M., Karttunen. 2008. Xylitol Supplemented Nutrition Enhances Bacterial Killing and Prolongs Survival of Rats in Experimental Pneumococcal Sepsis. *BMC Microbiology* 8: 45
- Seliman, S. "Xylitol – our Sweet Salvation?" ghalamon <http://www.laleva.cc/food/xylitol.html>. 16 Maret 2010, pukul 15:30
- Solange I. Musatto dkk. 2004. Optimal Experimental Condition for Hemicellulosic Hydrolyzate Treatment with Activated Charcoal for Xylitol Production. Departement of Biotechnology. Brazil.
- Sorghum Taxonomy (Induk): [www. Agribusinesdwd. Com/ admin/ descfolder/ 11.pdf](http://www.Agribusinesdwd.Com/admin/descfolder/11.pdf). sabtu 9 Januari 2010; 10.51

- Supriyanto, Soeranto. 2009. Uji Adaptasi Galur-galur Batan di Bogor Kerjasama Penelitian dengan SEAMEO BIOTROP. SEAMEO BIOTROP Bogor.
- “Savety data for d-(+)-xylose” [http://www.psychem.ox.ac.uk/MSDS/d-\(+\)-xylose.html](http://www.psychem.ox.ac.uk/MSDS/d-(+)-xylose.html). 16 Februari 2010, pukul 14.00
- Sjostrom, E. 1995. Kimia Kayu, Dasar-dasar dan Penggunaan, terjemahan dari Wod Chemestery Fundamental an Aplications, oleh Sastro Hamijoyo, H. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. Viii + 390 halaman.
- Uhari, M. 1998. Anovel use of Xylitol Sugar in Preventing Acute Otitis Media. Pediatrics 102(4): 879-974.
- Wall, Joseph J. & Charless w. Blessin. 1993. Composition of sorghum Plant and Grain.
- Wilbraham, Antony. C, Michael s. Matta. 1992. Pengantar Kimia Organik dan Hayati, terjemahan dari Introduction to organic and Biological Chemistery, oleh Suminar Achmadi. ITB, Bandung.
- Winarno, F.G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta, Gramedia.

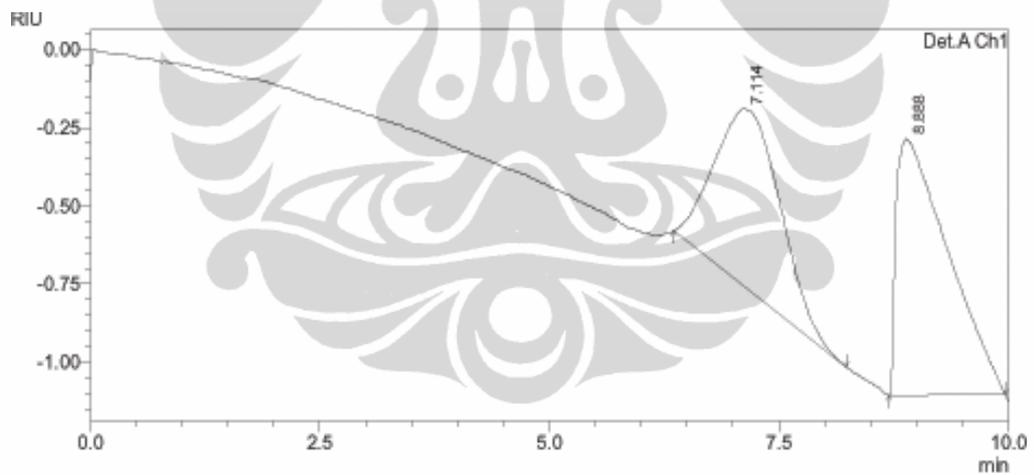
## LAMPIRAN 1

### Kromatogram Standar Xilosa

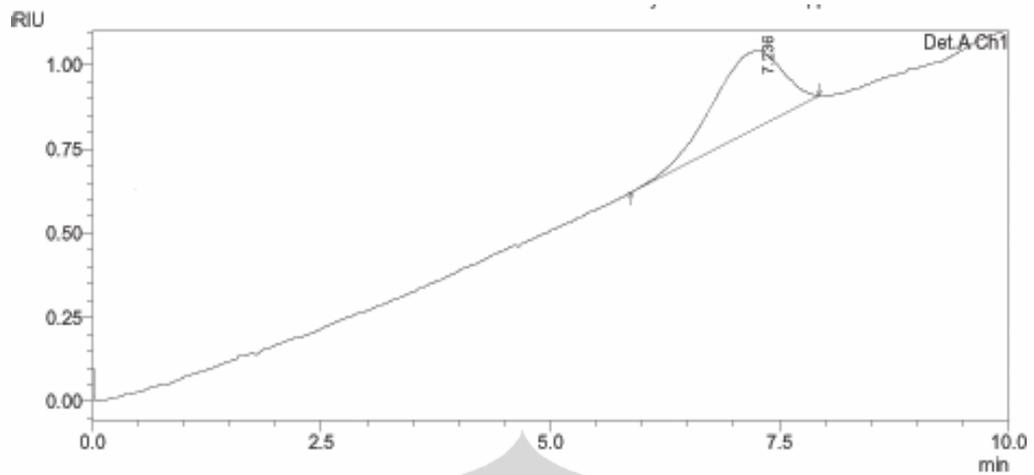
#### 1. 1000 ppm



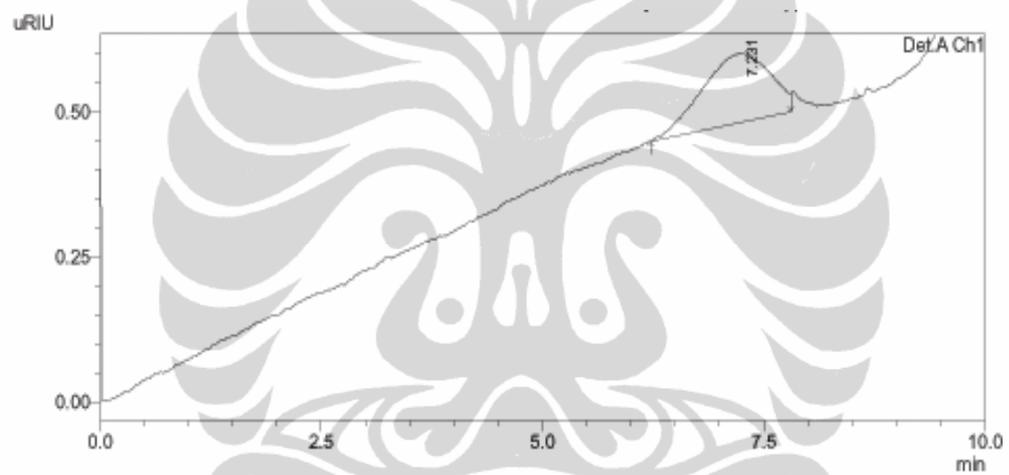
#### 2. 250 ppm



#### 3. 100 ppm



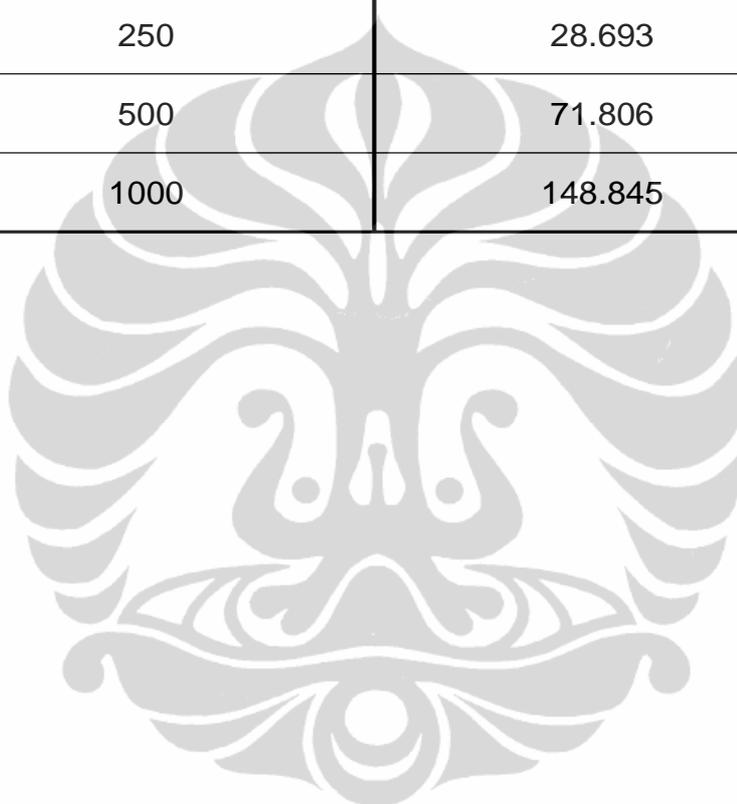
#### 4. 50 ppm



**LAMPIRAN 1: Lanjutan**

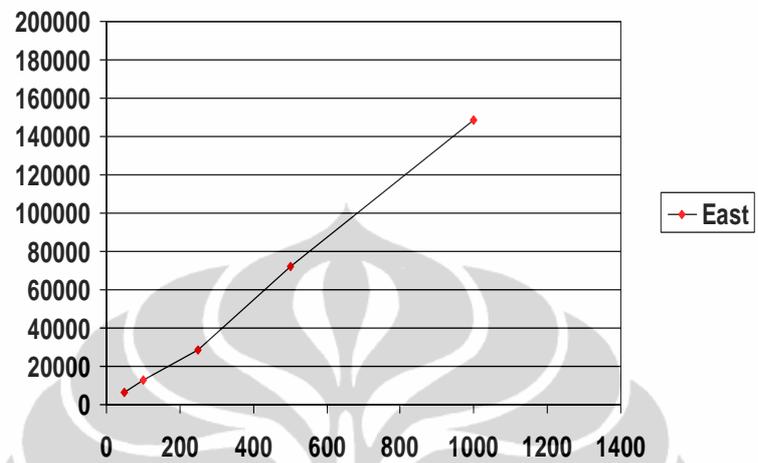
Tabel Standar Xilosa

Konsentrasi (ppm)	Luas Area
50	6.424
100	12.656
250	28.693
500	71.806
1000	148.845





## Grafik Standar Xilosa Murni

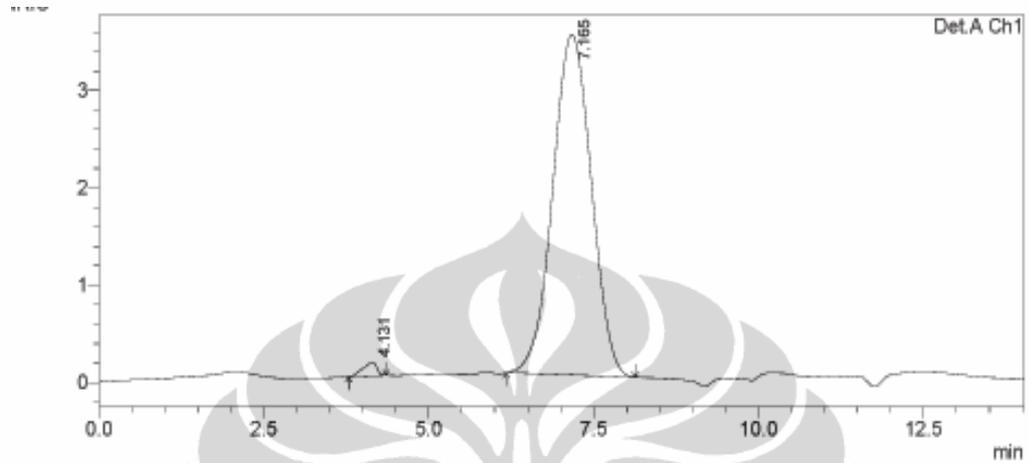


$$Y = 145,49X - 2118,1$$

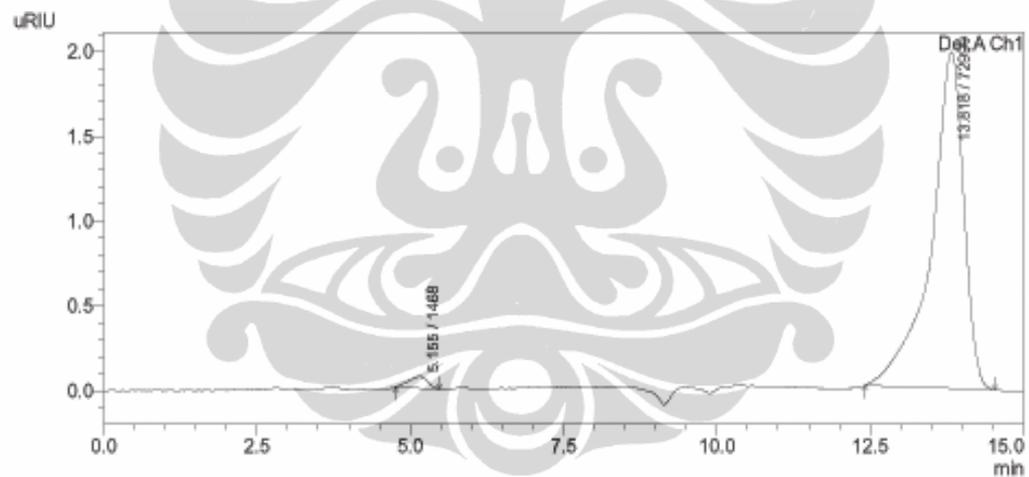
$$R^2 = 0,9998$$

**LAMPIRAN 2**  
Kromatogram Standar Xilitol

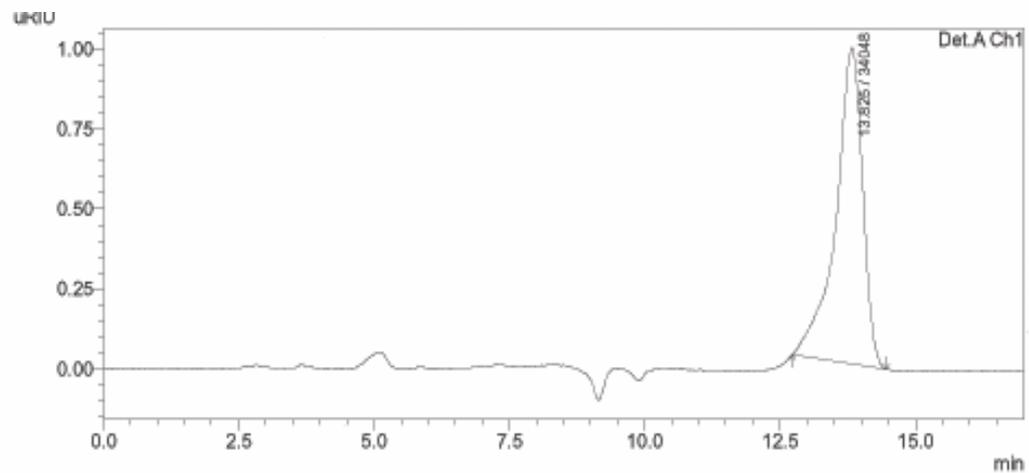
**2.1 1000 ppm**



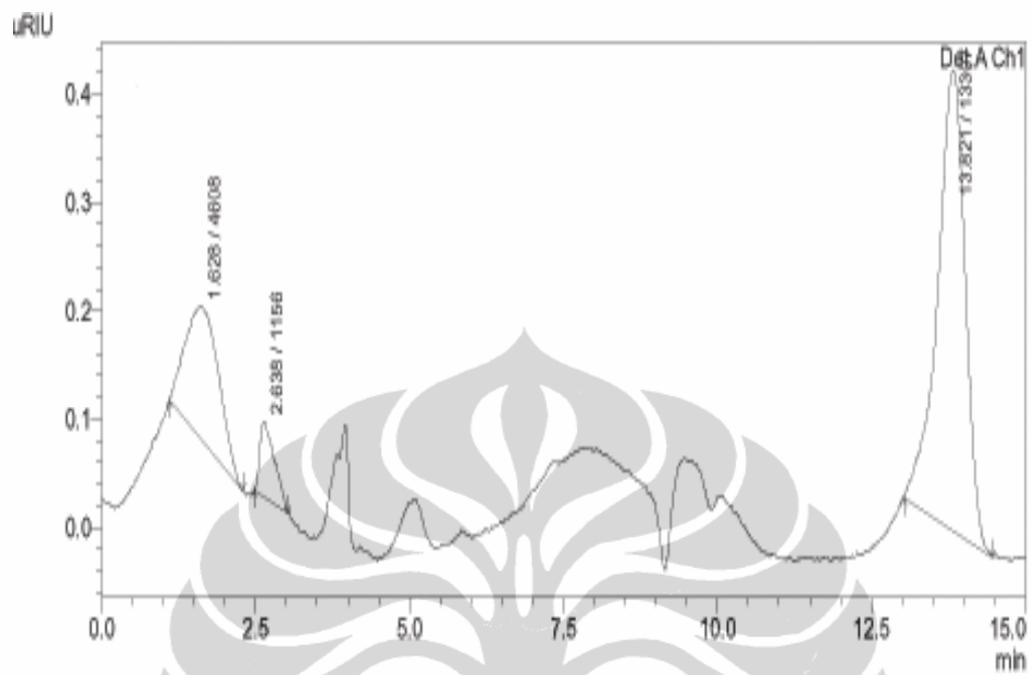
**2.2. 500 ppm**



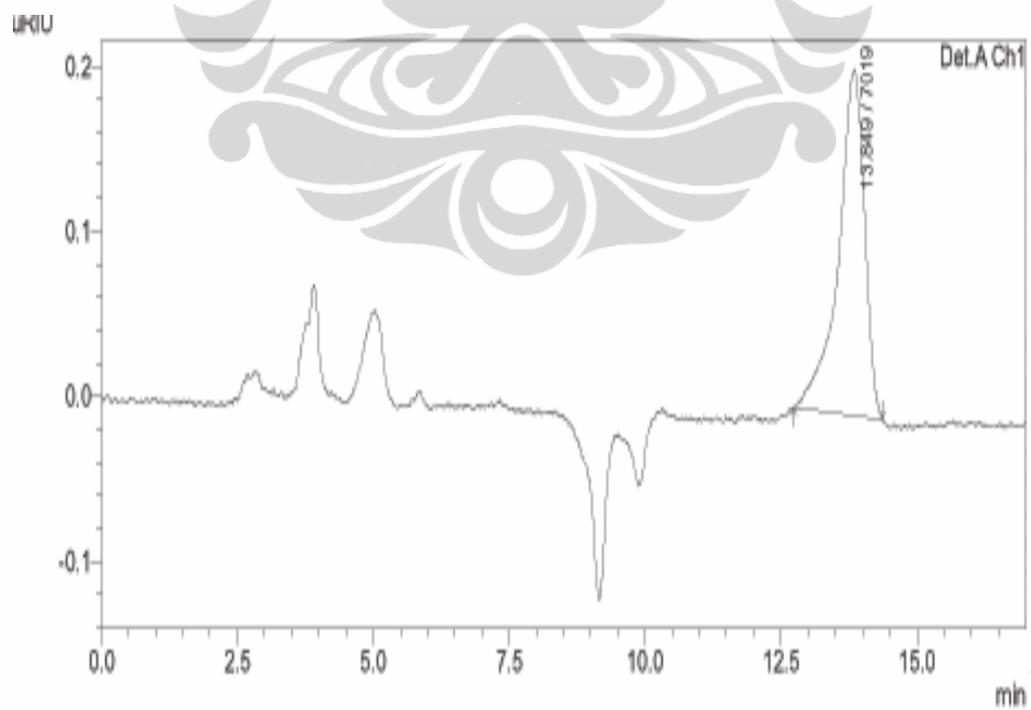
**2.3. 250 ppm**



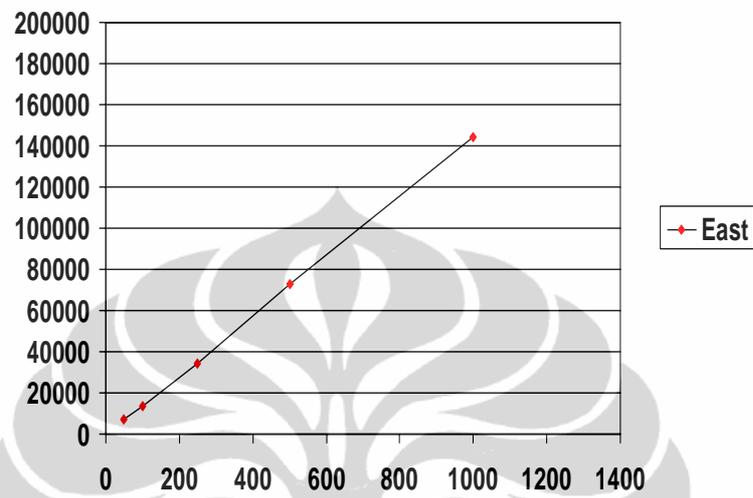
#### 2.4. 100 ppm



#### 2.5. 50 ppm



## Grafik standar xilitol



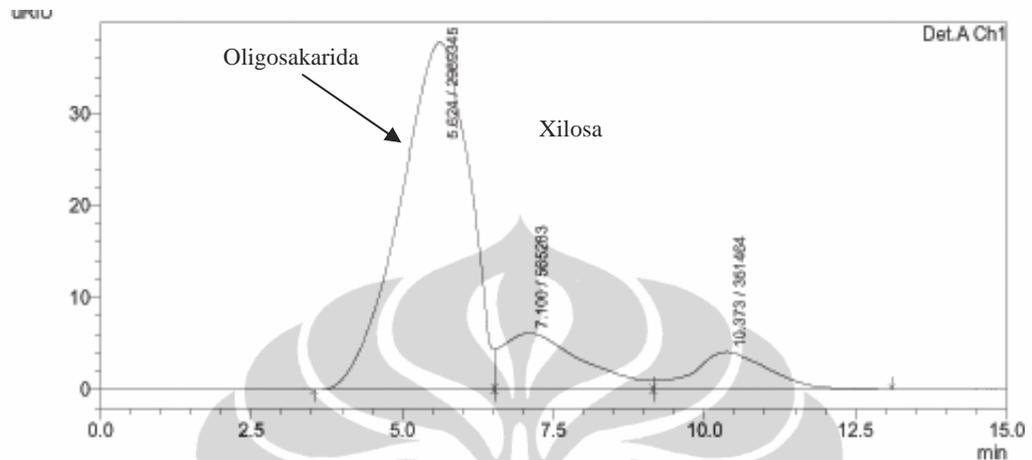
$$Y = 140,66X - 64,954$$

$$R^2 = 0,9992$$

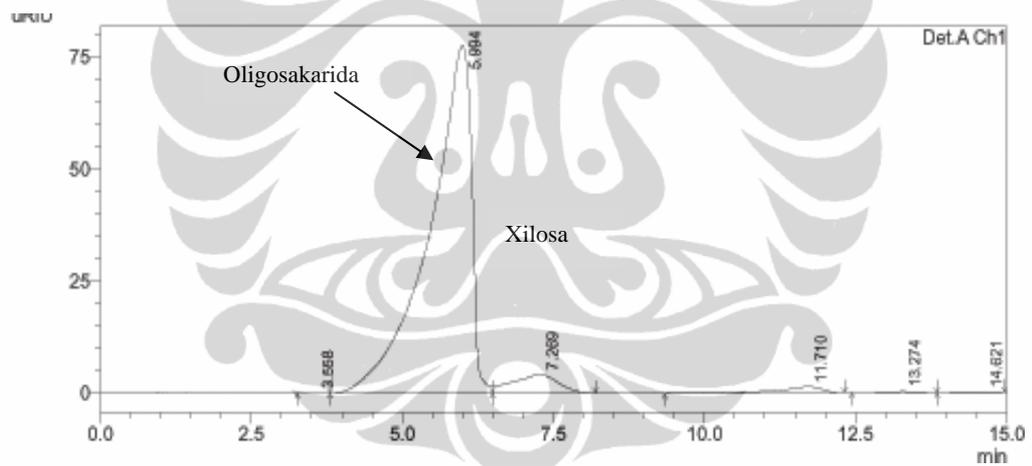
### LAMPIRAN 3

#### Kromatogram Hidrolisat Malai dengan Variasi Waktu

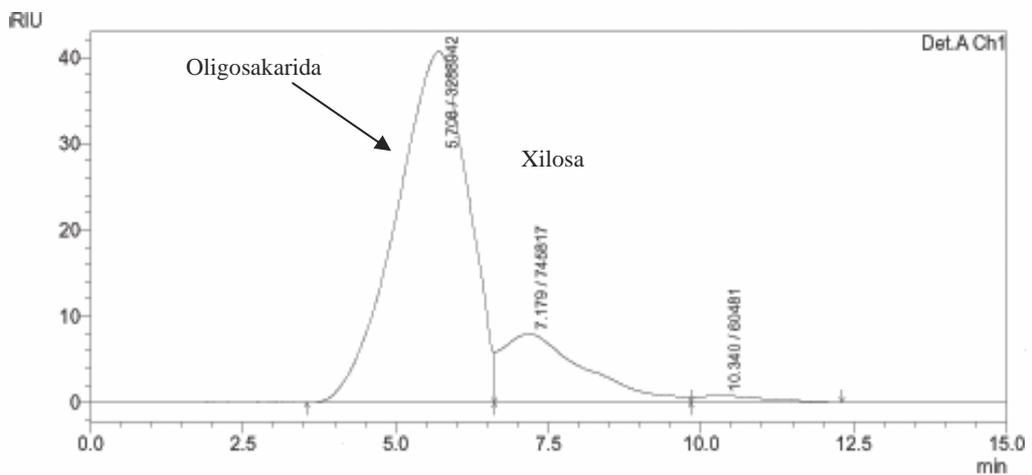
##### 3.1. Waktu Hidrolisis 25 menit



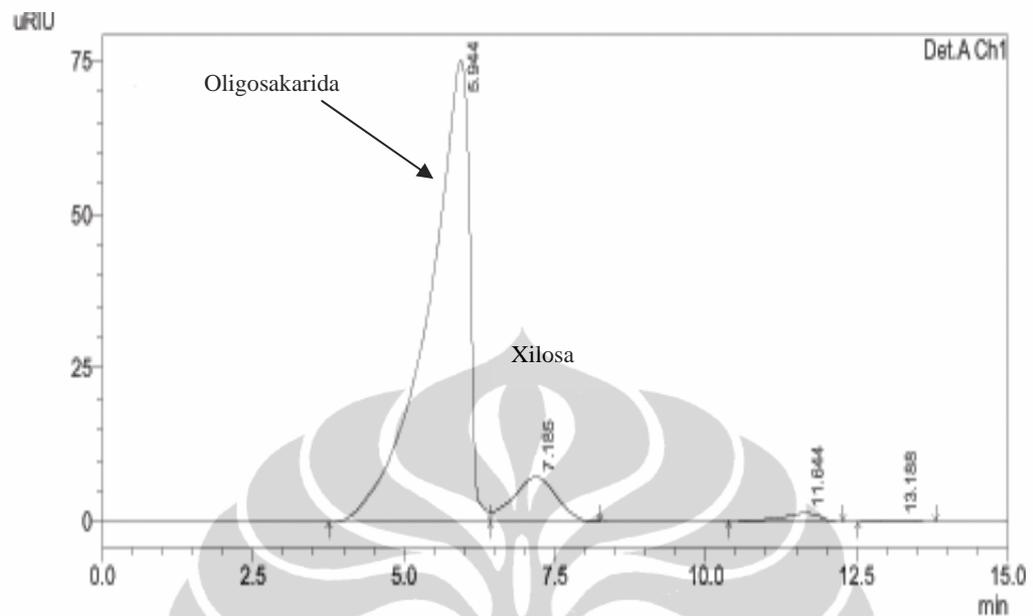
##### 3.2. Waktu Hidrolisis 30menit



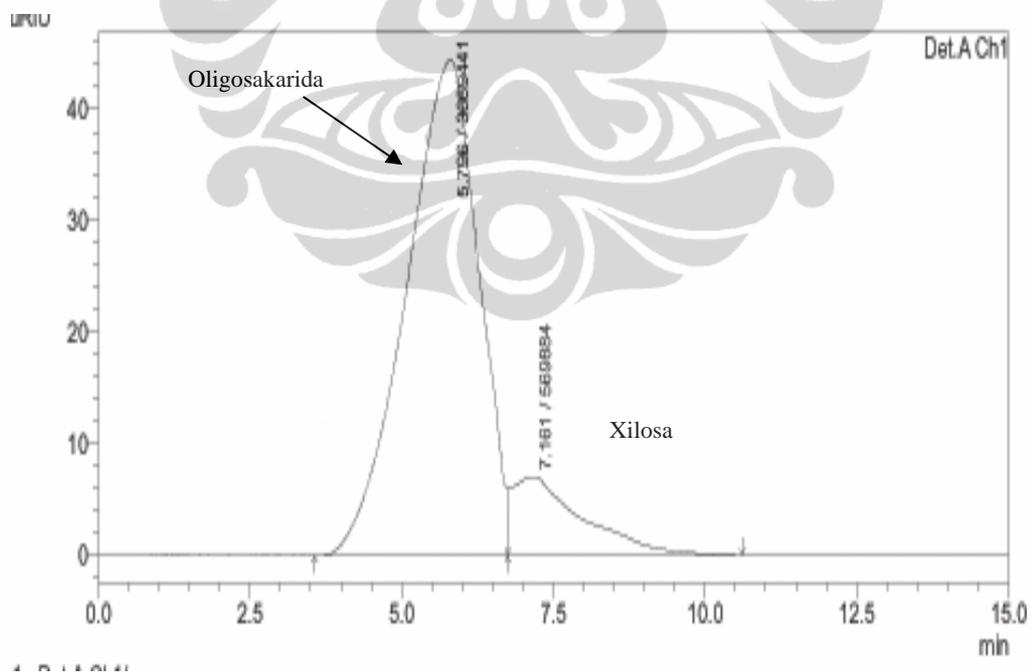
##### 3.3. Waktu Hidrolisis 35 menit



### 3.4. Waktu Hidrolisis 40 menit



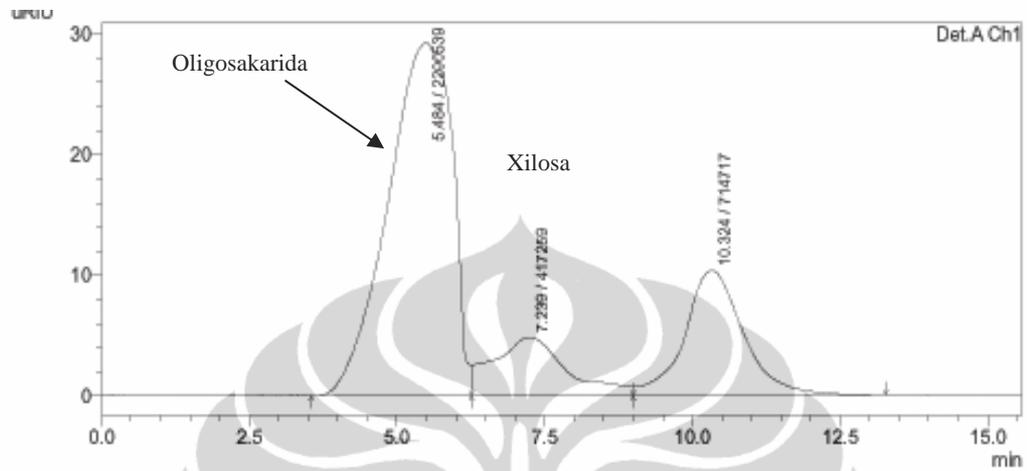
### 3.5. Waktu Hidrolisis 45 menit



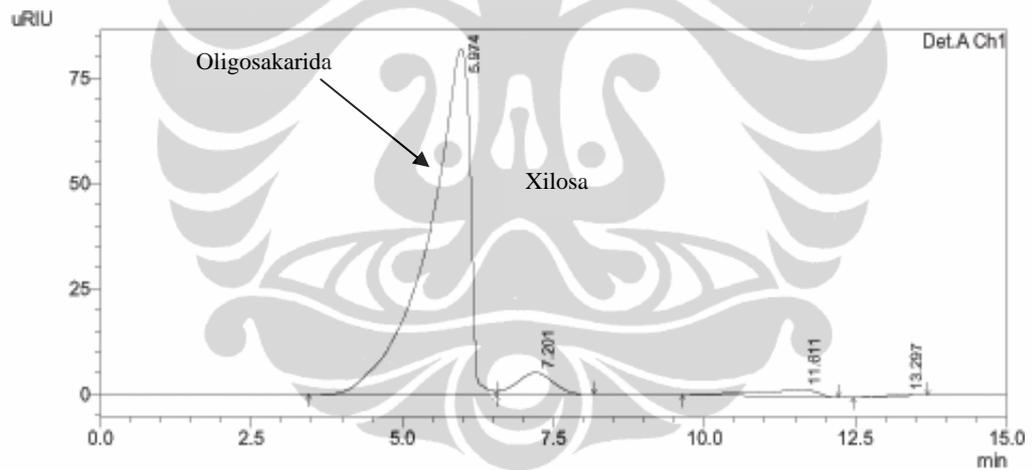
## LAMPIRAN 4

### Kromatogram Hidrolisat Tangkai dengan Variasi Waktu

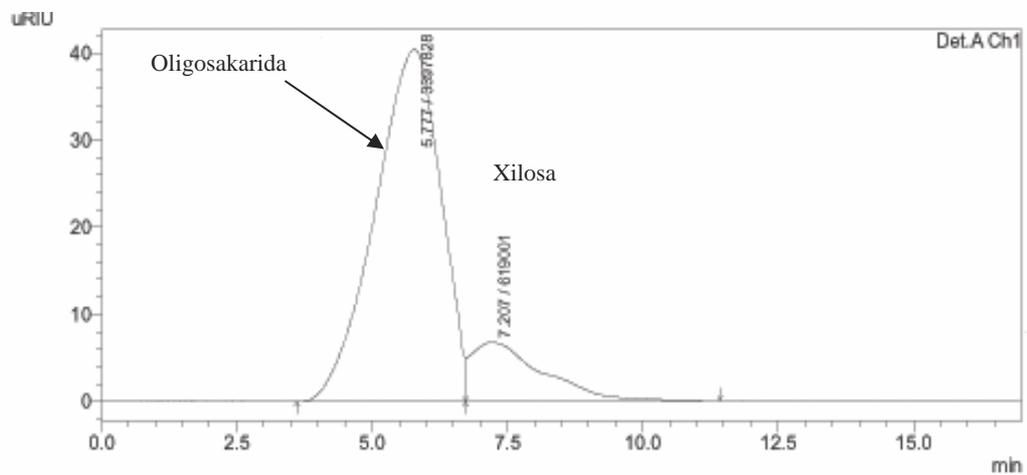
#### 4.1. Waktu Hidrolisis 25 menit



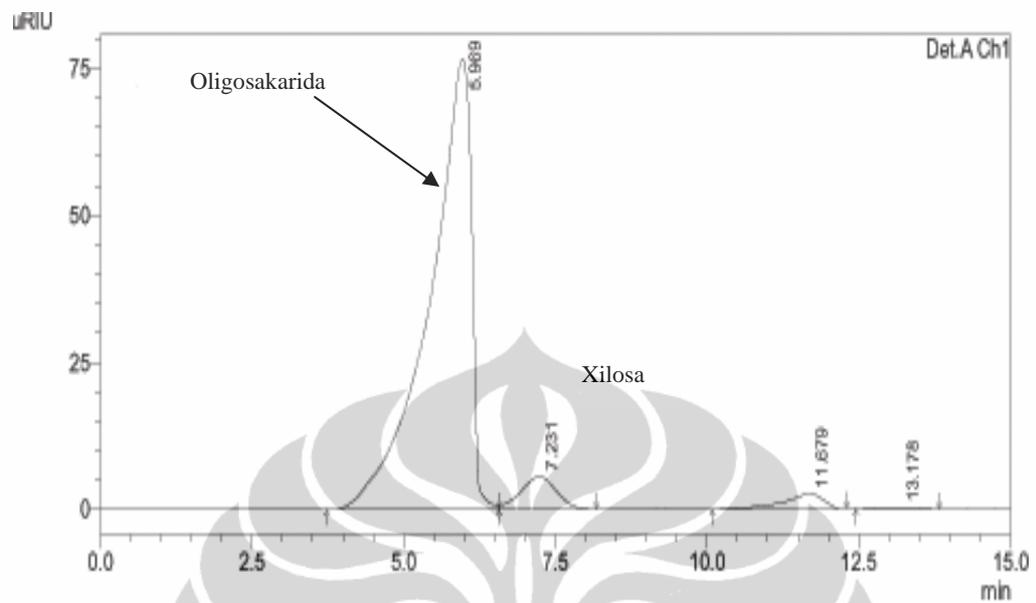
#### 4.2. Waktu Hidrolisis 30 menit



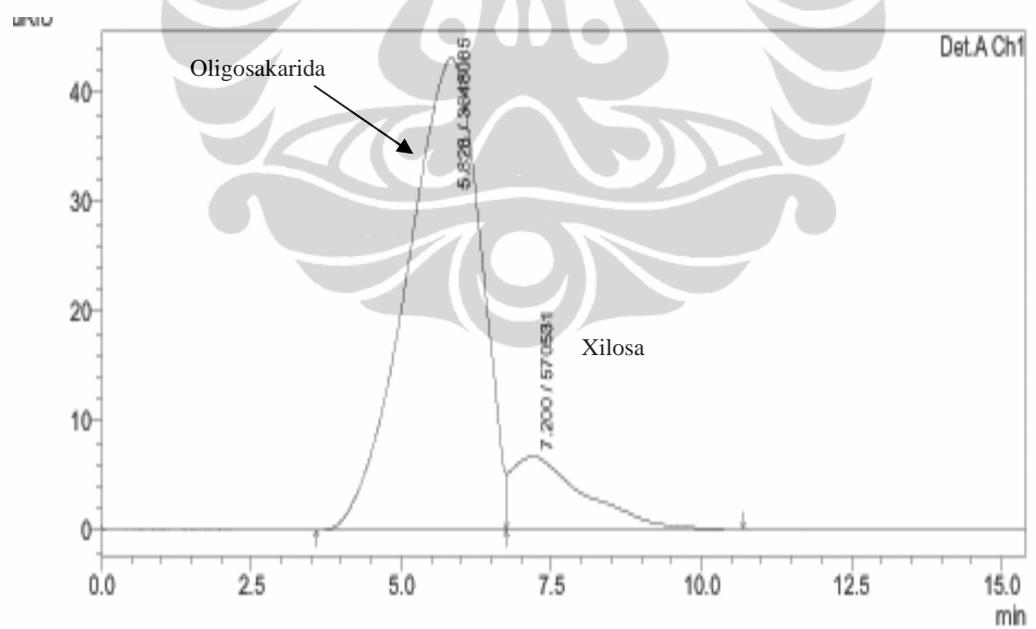
#### 4.3. Waktu Hidrolisis 35 menit



#### 4.4. Waktu Hidrolisis 40 menit



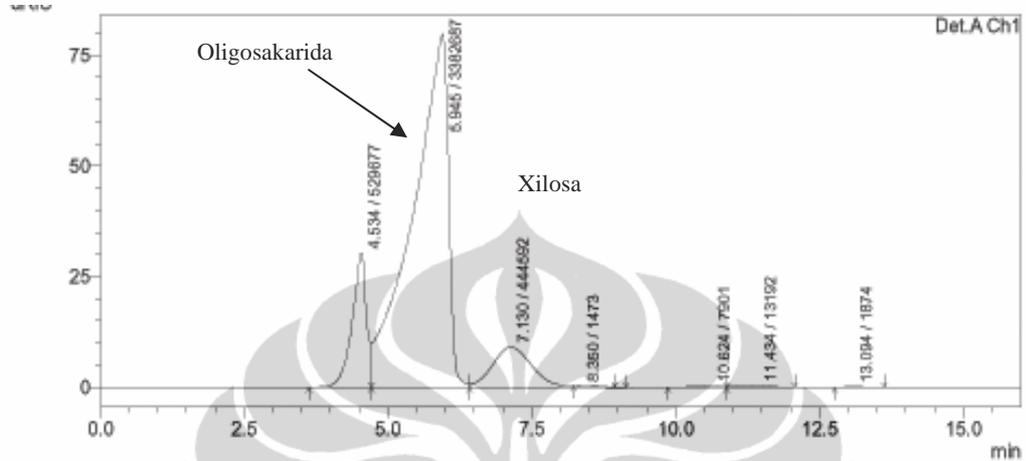
#### 4.5. Waktu Hidrolisis 45 menit



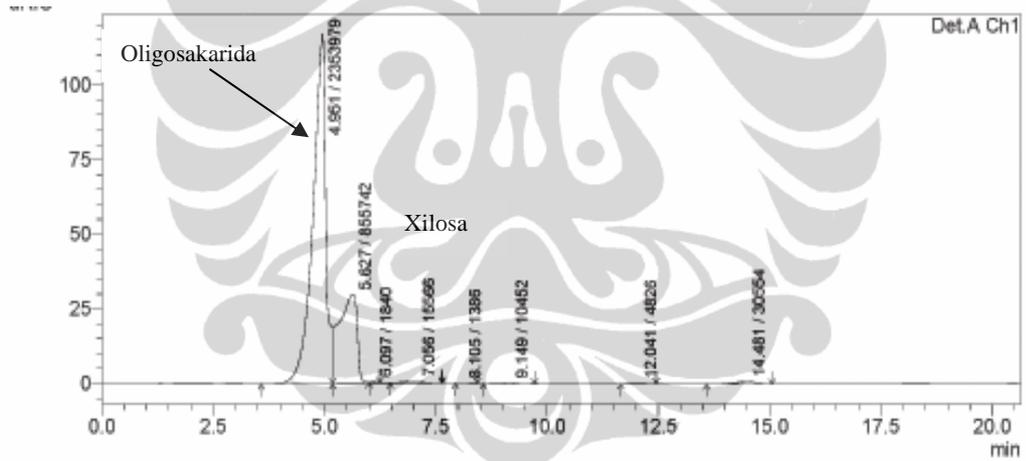
## LAMPIRAN 5

### Kromatogram Optimasi Fermentasi Substrat Malai dengan Variasi Waktu

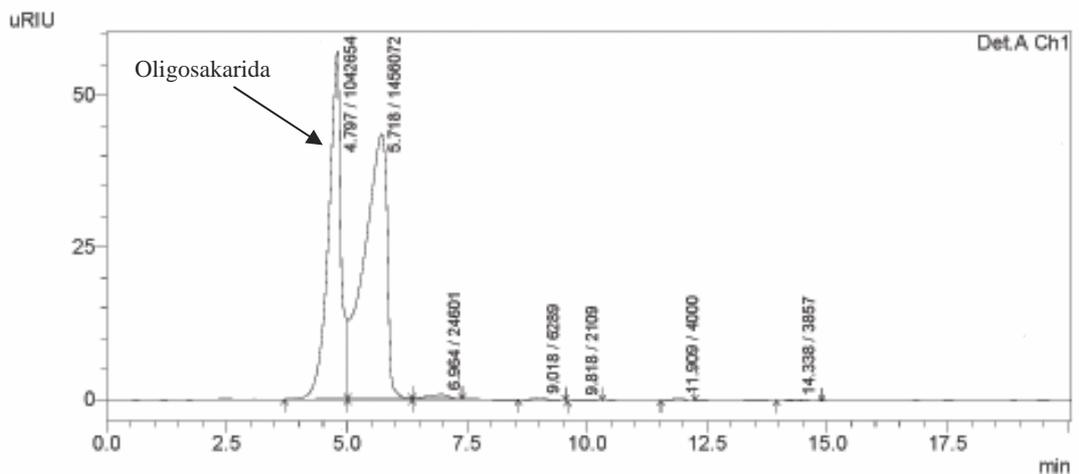
#### 5.1. Kromatogram Fermentasi 0 jam



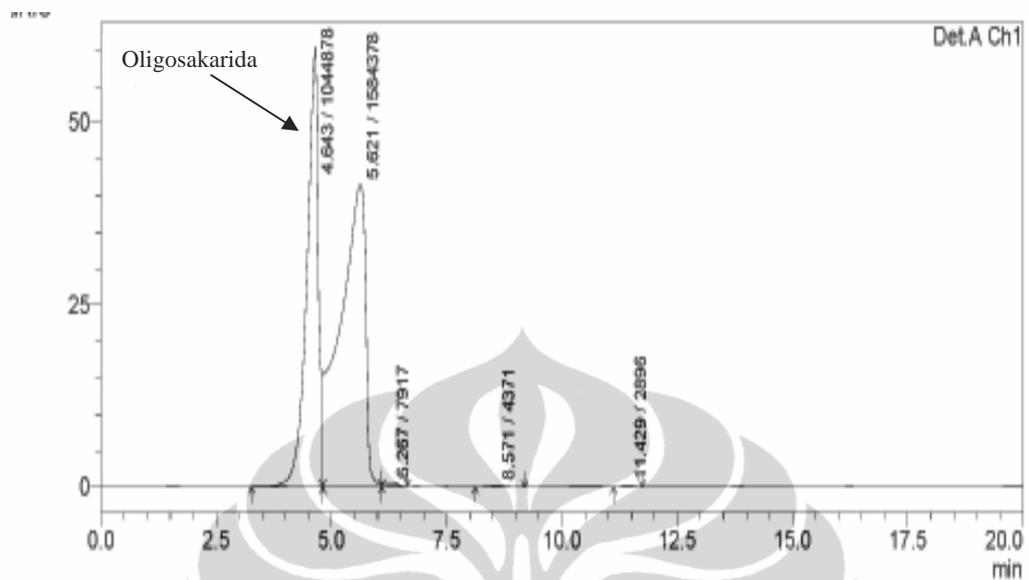
#### 5.2. Kromatogram Fermentasi 12 jam



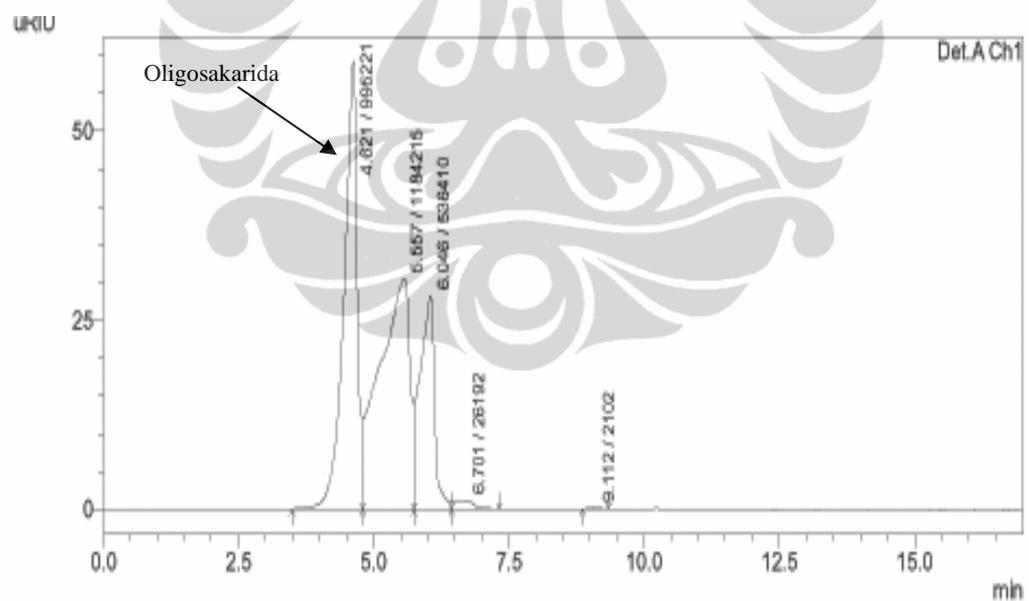
#### 5.3. Kromatogram Fermentasi 24 jam



#### 5.4. Kromatogram Fermentasi 36 jam



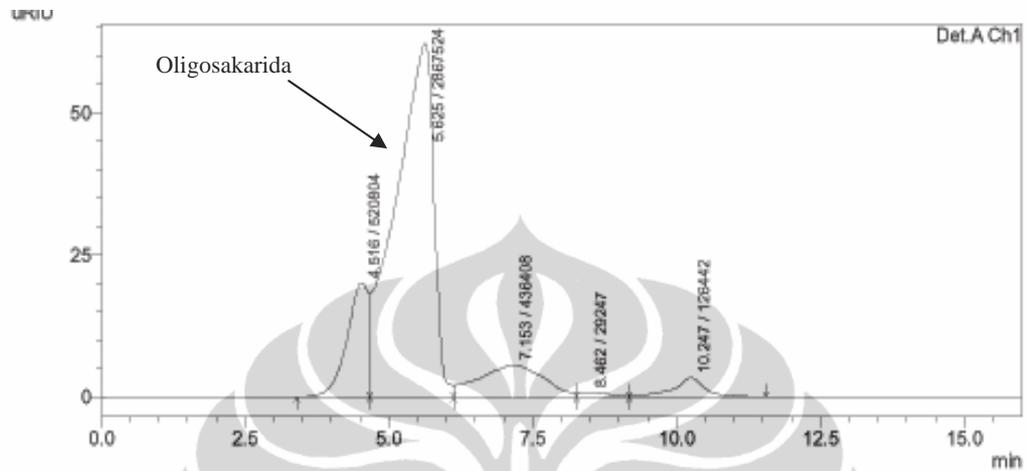
#### 5.5. Kromatogram Fermentasi 48 jam



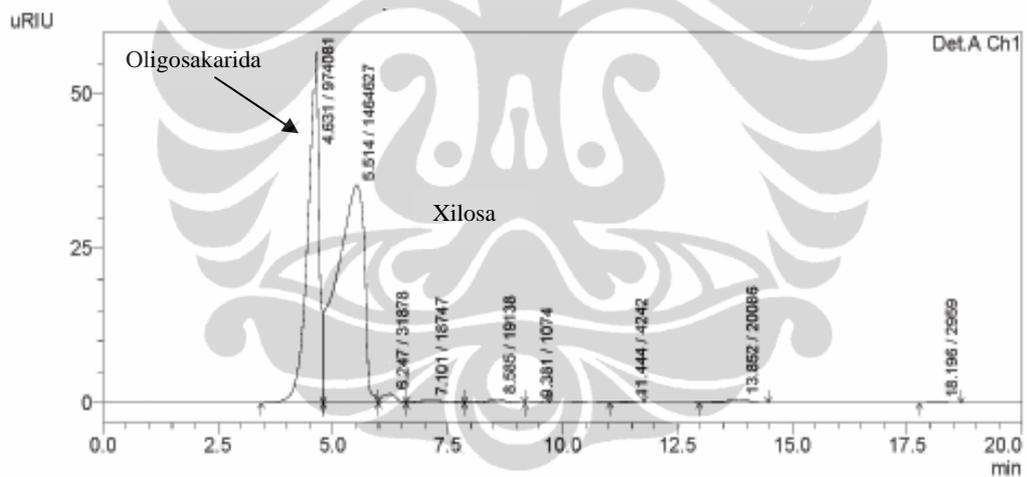
## LAMPIRAN 6

### Kromatogram Optimasi Fermentasi Substrat Tangkai dengan Variasi Waktu

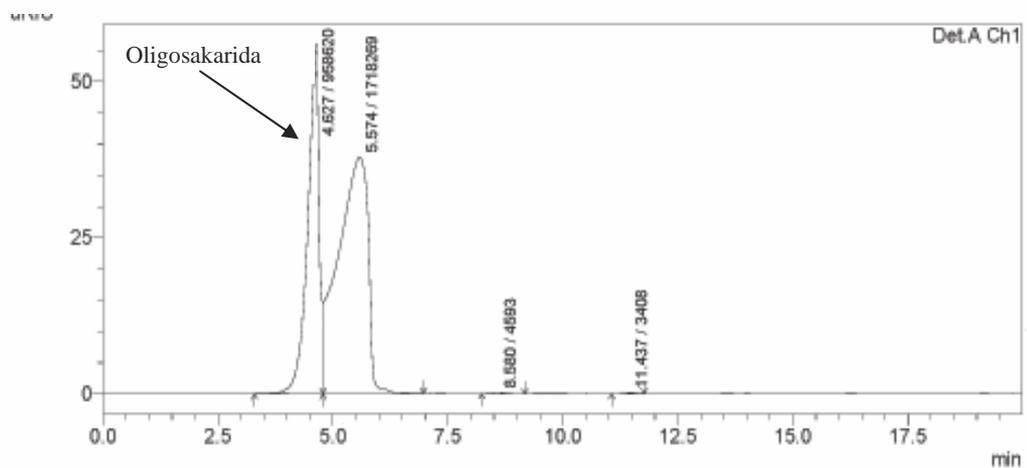
#### 6.1. Kromatogram Fermentasi 0 jam



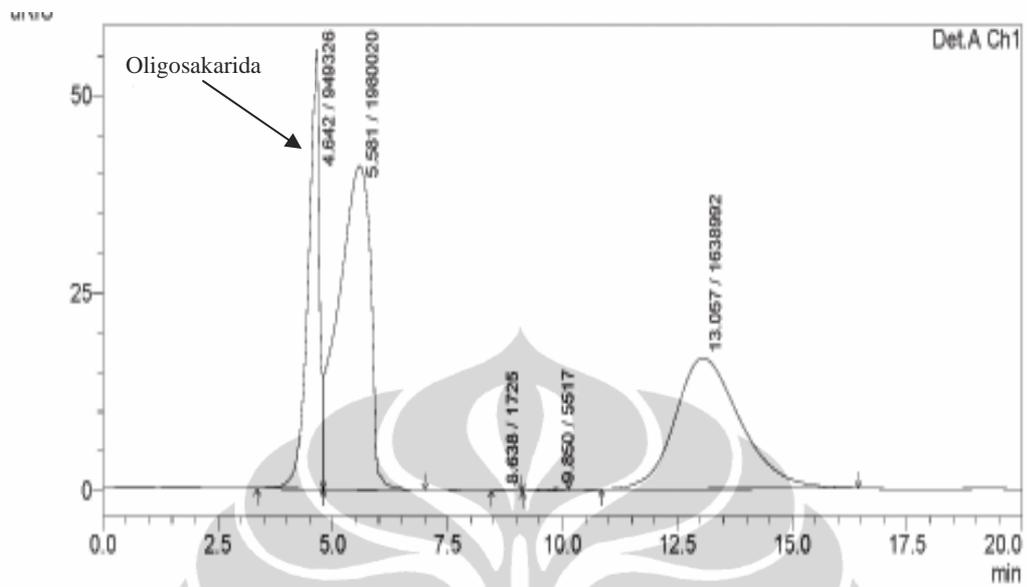
#### 6.2. Kromatogram Fermentasi 12 jam



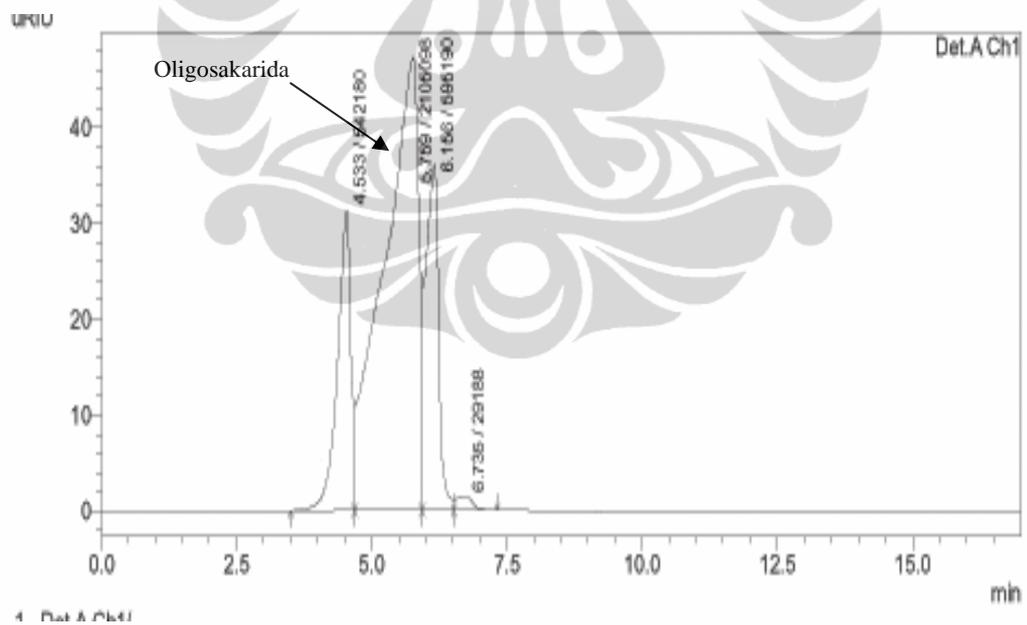
#### 6.3. Kromatogram Fermentasi 24 jam



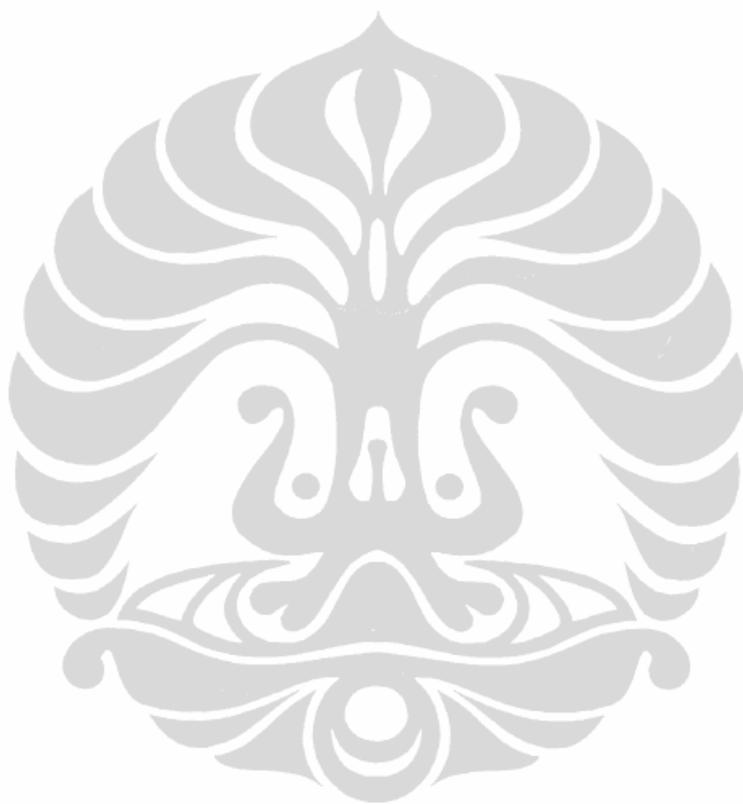
#### 6.4. Kromatogram Fermentasi 36 jam



#### 6.5. Kromatogram Fermentasi 48 jam



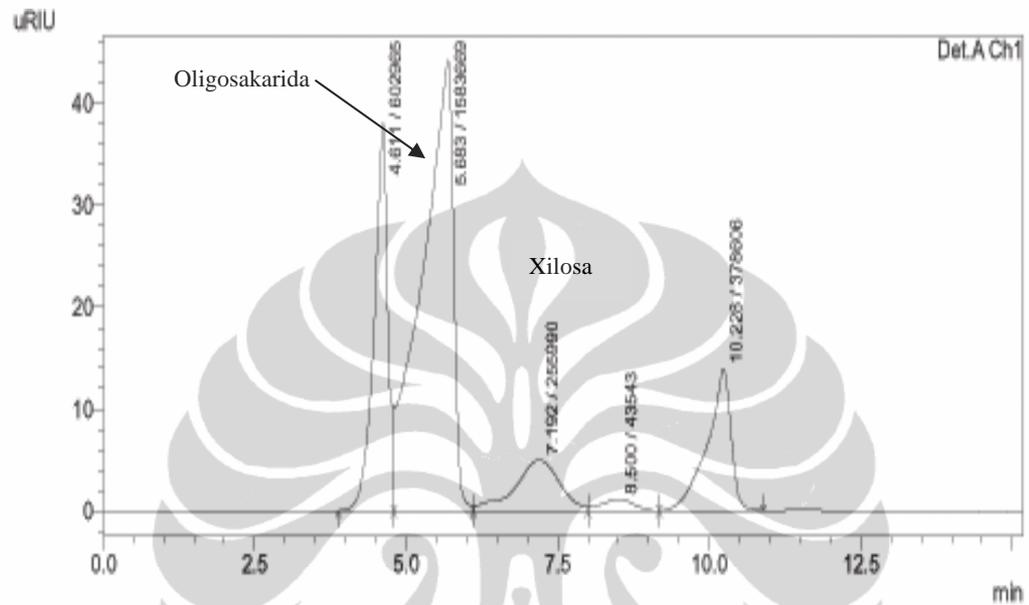




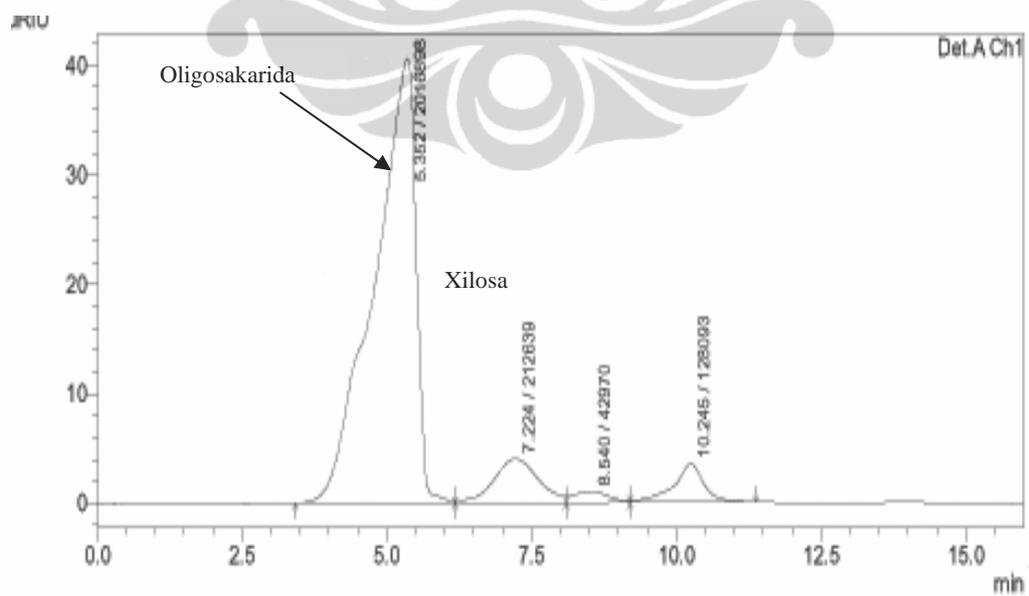
## LAMPIRAN 8

### Kromatogram Fermentasi Substrat Malai Tanpa Kosubstrat

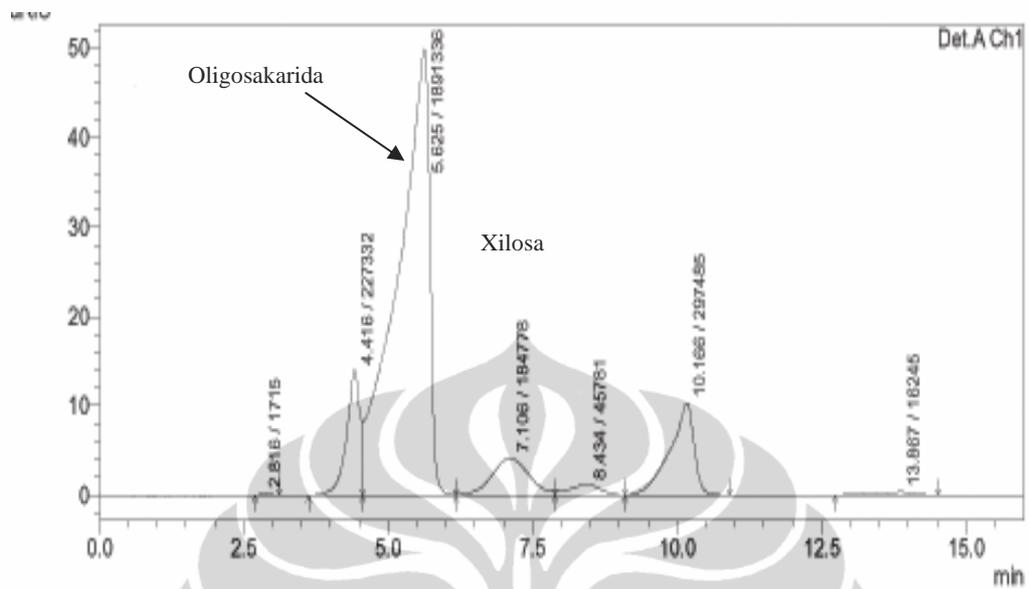
#### 8.1. Fermentasi 0 jam



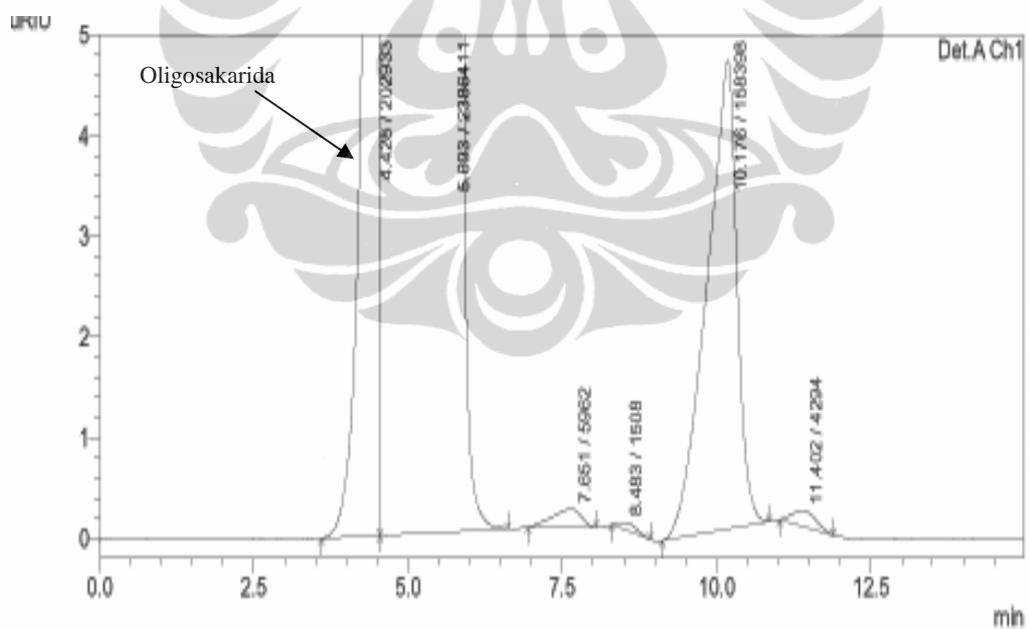
#### 8.2. Fermentasi 6 jam



### 8.3. Fermentasi 12 jam



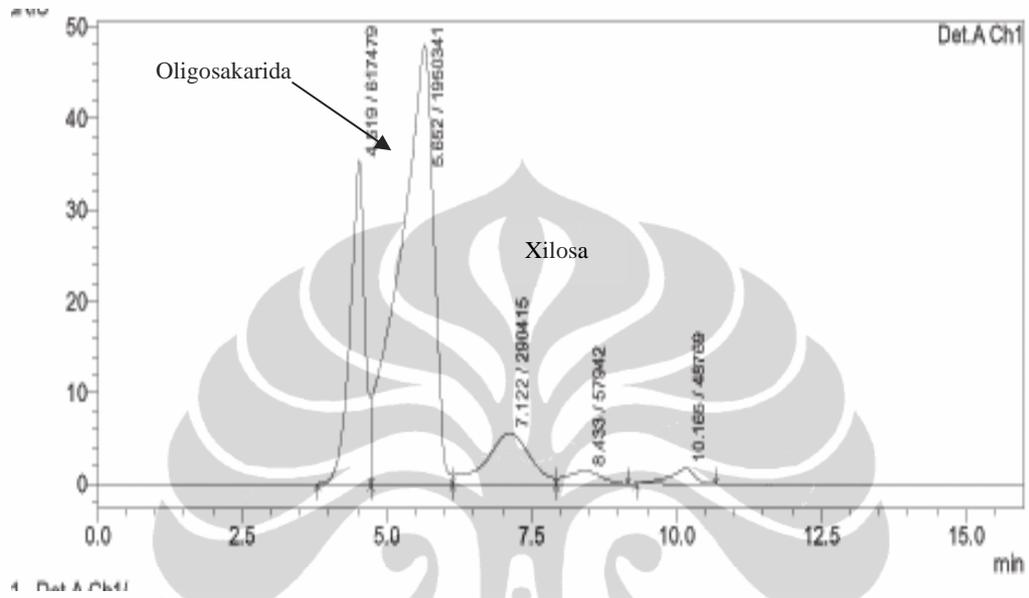
### 8.4. Fermentasi 18 jam



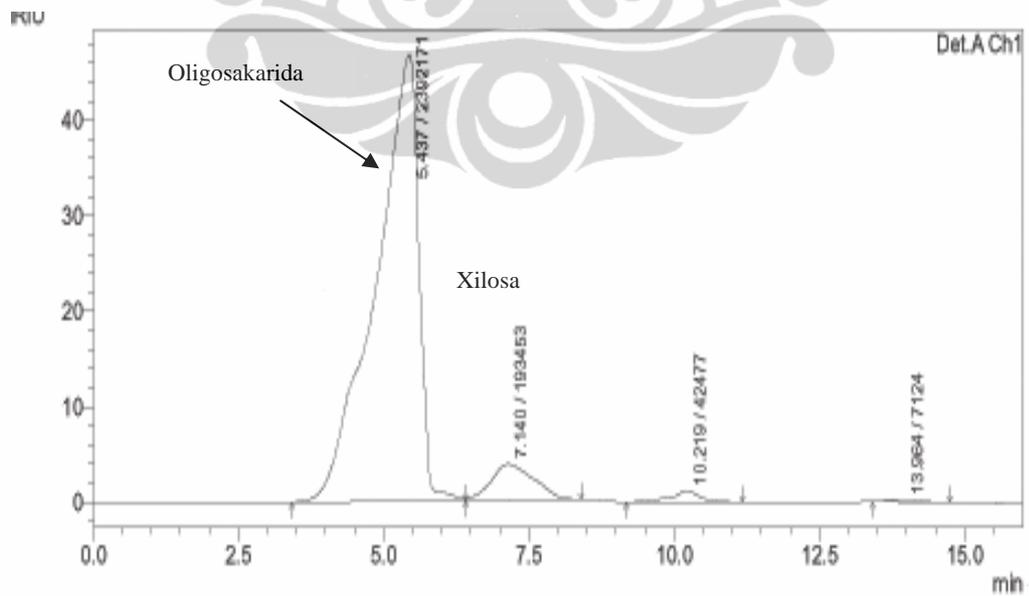
## LAMPIRAN 9

Kromatogram Fermentasi Malai dengan Kosubstrat Fruktosa 7,5%

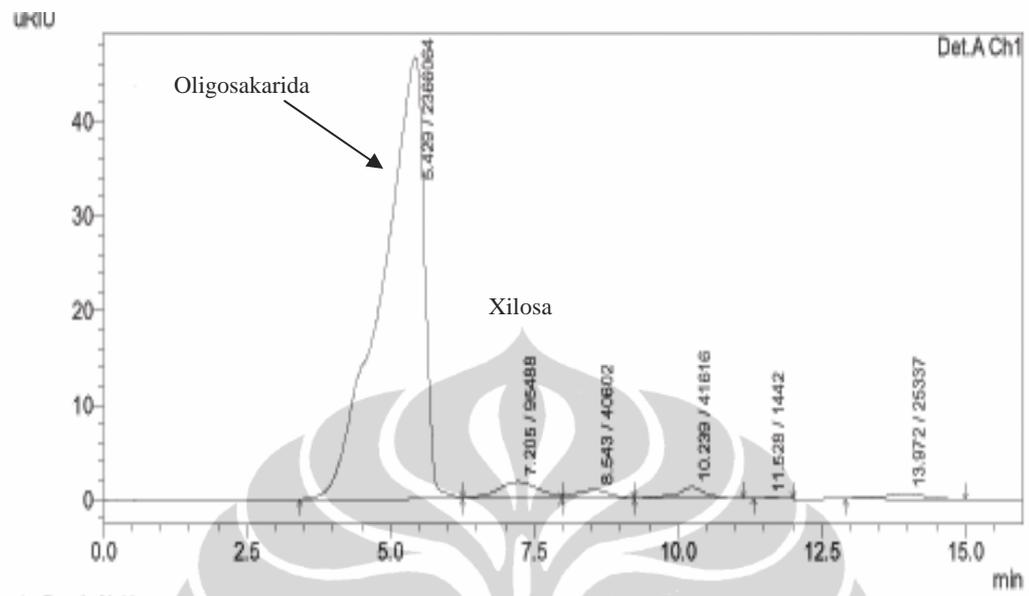
### 9.1. Fermentasi 0 jam



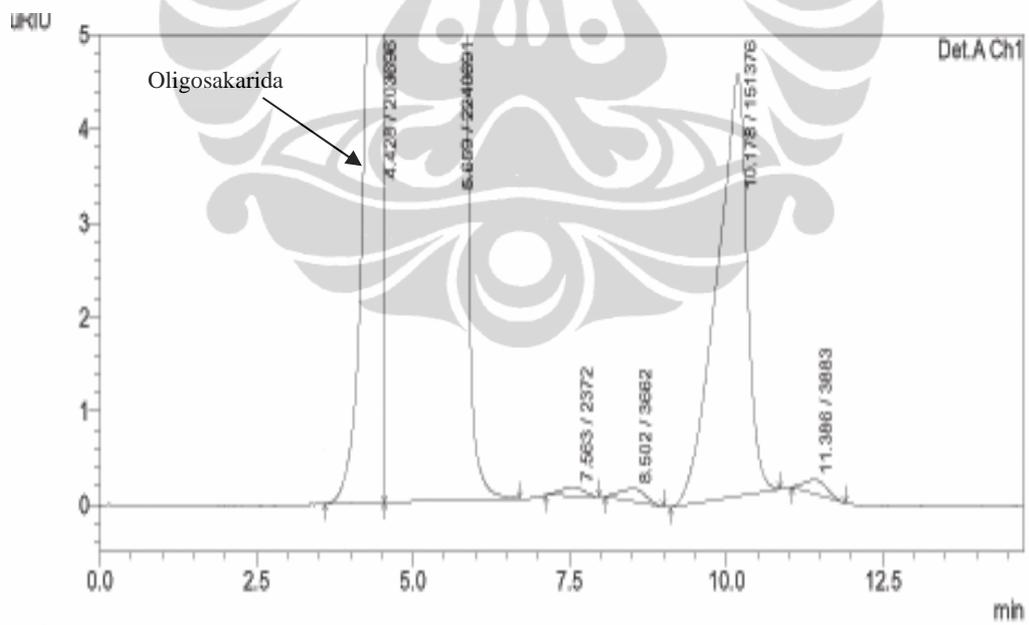
### 9.2. Fermentasi 6 jam



### 9.3. Fermentasi 12 jam



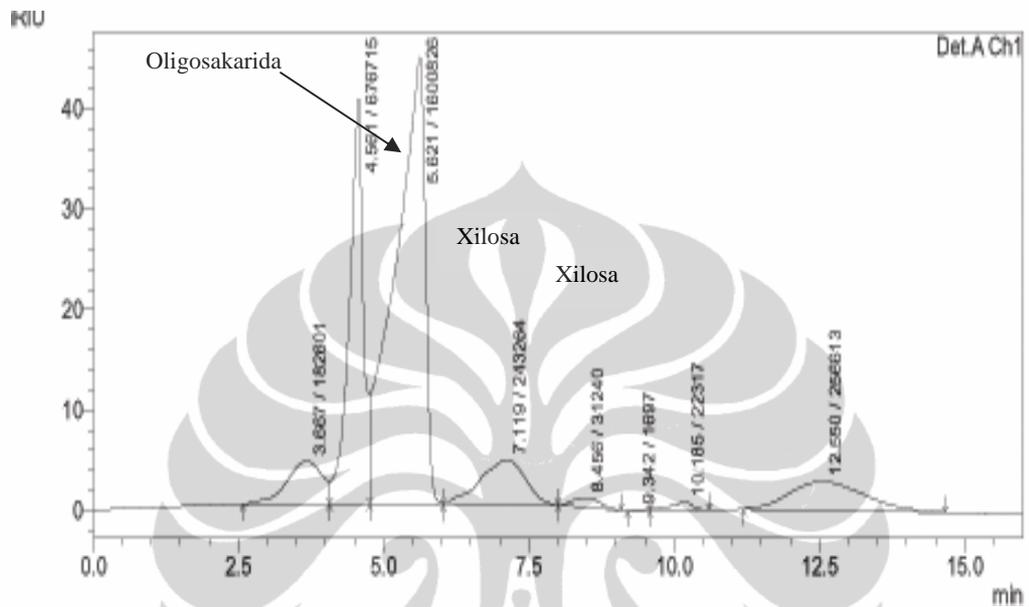
### 9.4. Fermentasi 18 jam



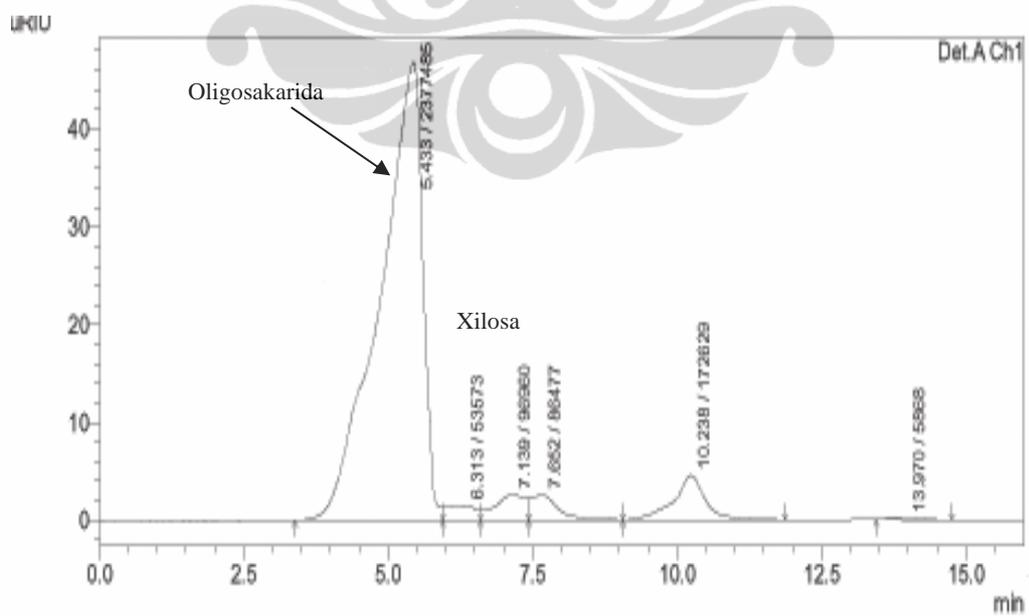
## LAMPIRAN 10

Kromatogram Fermentasi Malai dengan Kosubstrat Fruktosa 15%

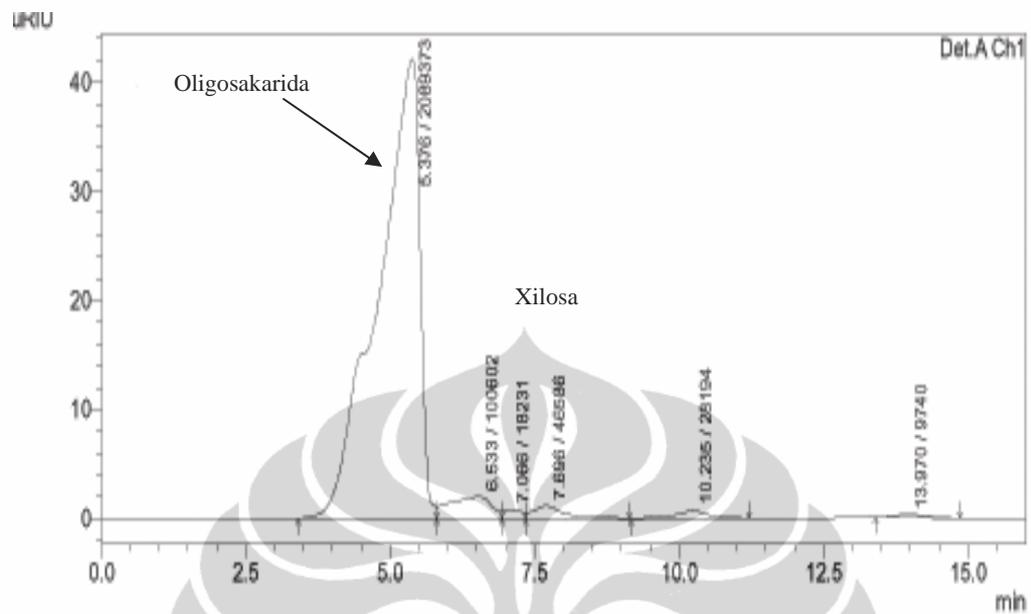
### 10.1. Fermentasi 0 jam



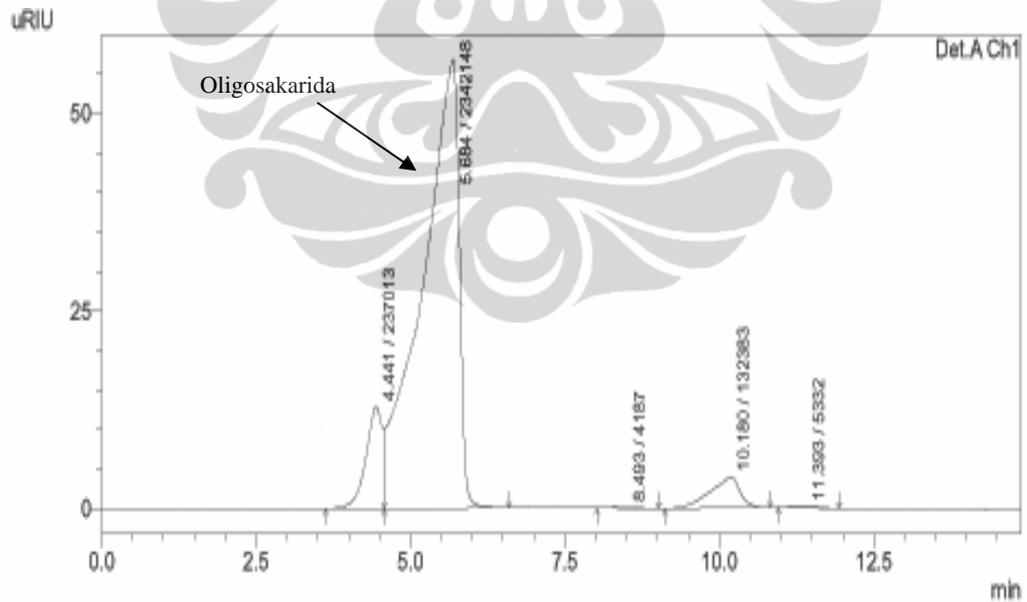
### 10.2. Fermentasi 6 jam

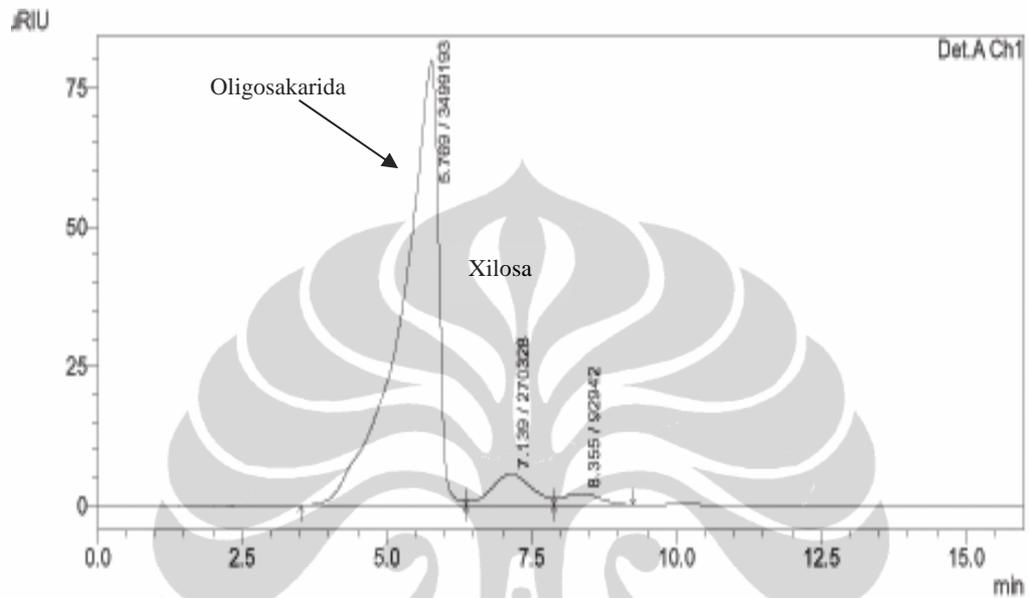
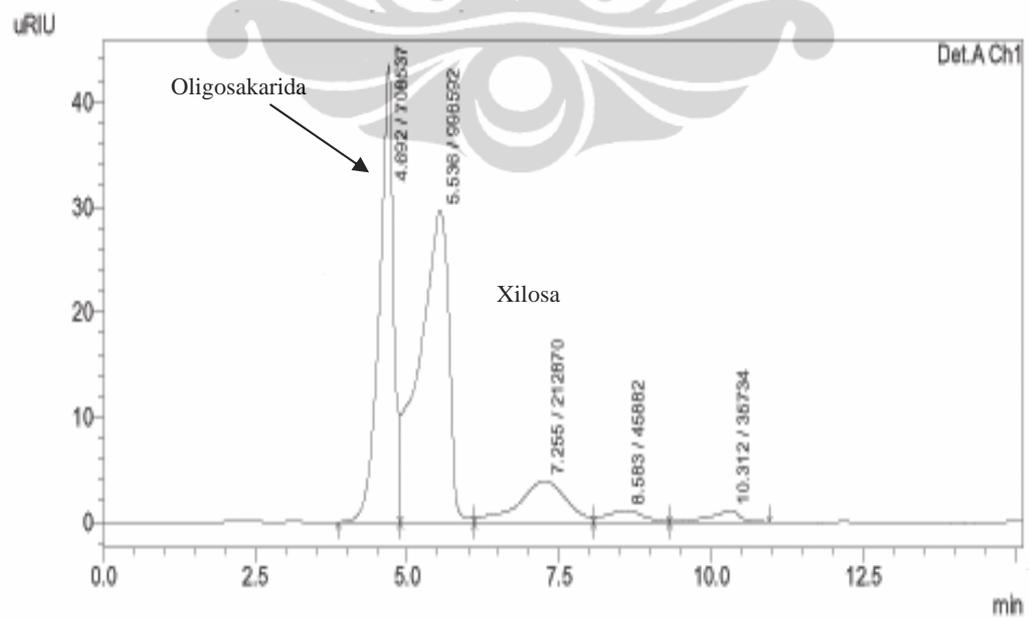


### 10.3. Fermentasi 12 jam

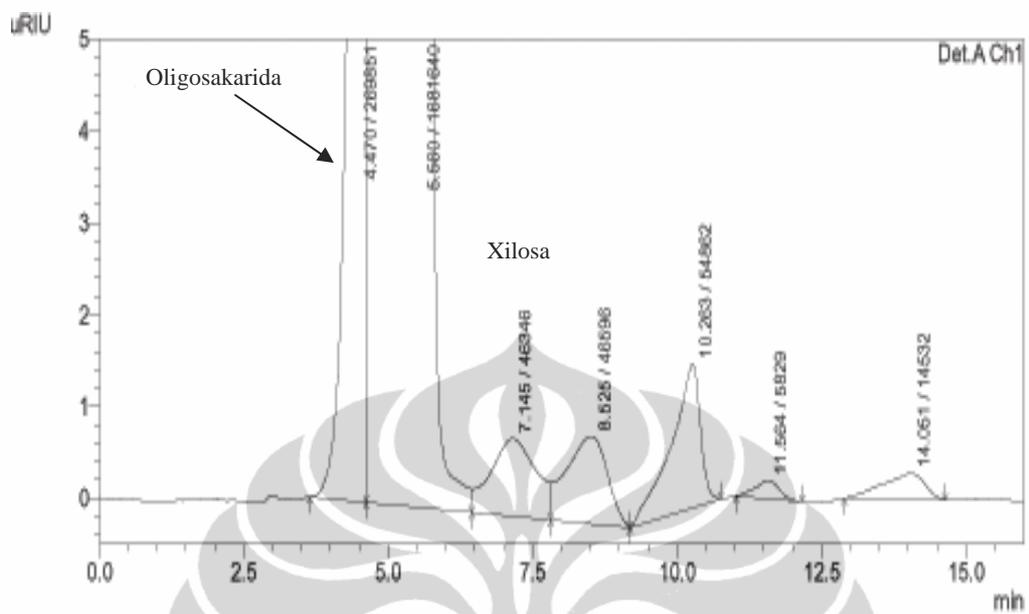


### 10.4. Fermentasi 18 jam

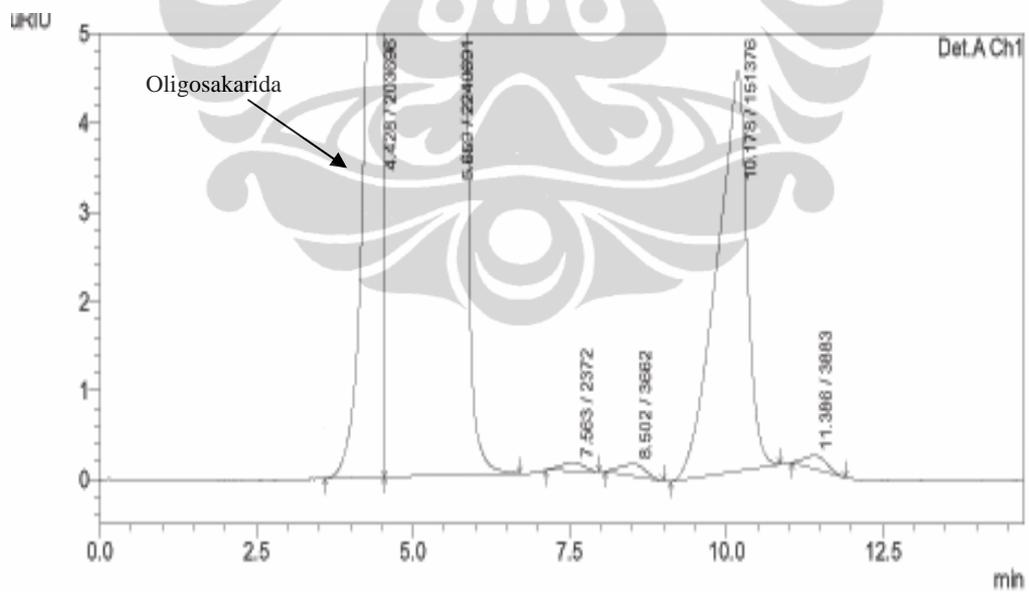


**LAMPIRAN 11****Kromatogram Fermentasi Batang Tanpa Kosubstrat****11.1. Fermentasi 0 jam****11.2. Fermentasi 6 jam**

### 11.3. Fermentasi 12 jam



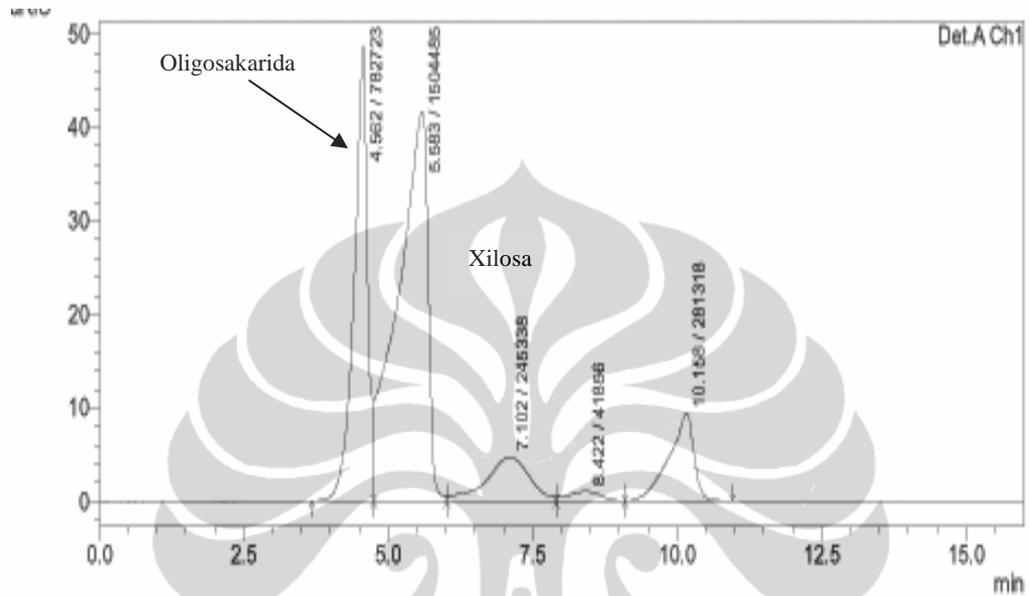
### 11.4. Fermentasi 18 jam



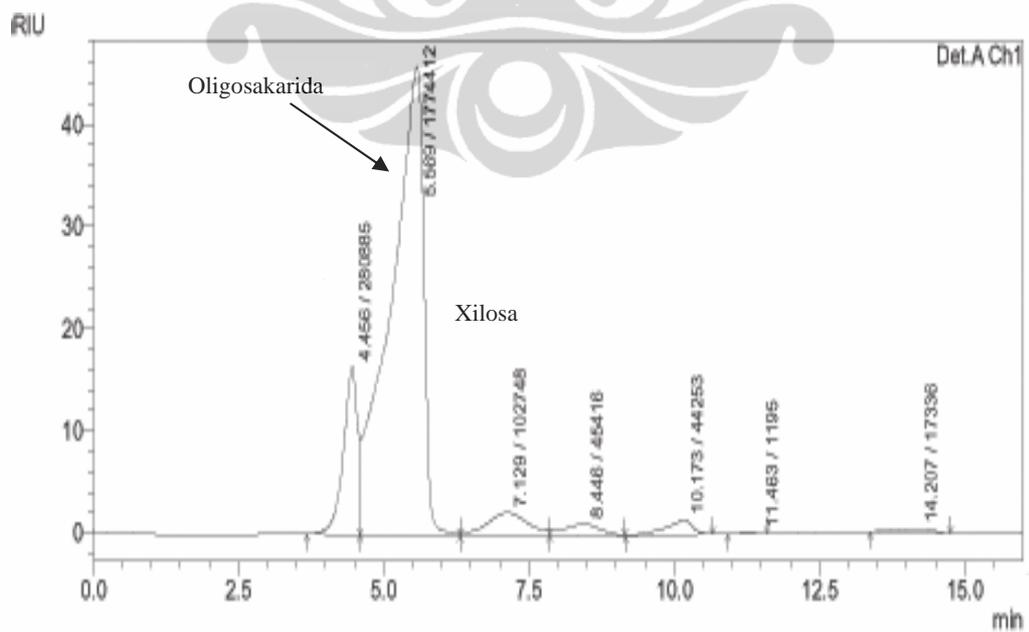
## LAMPIRAN 12

Kromatogram Fermentasi Batang dengan Kosubstrat Fruktosa 7,5%

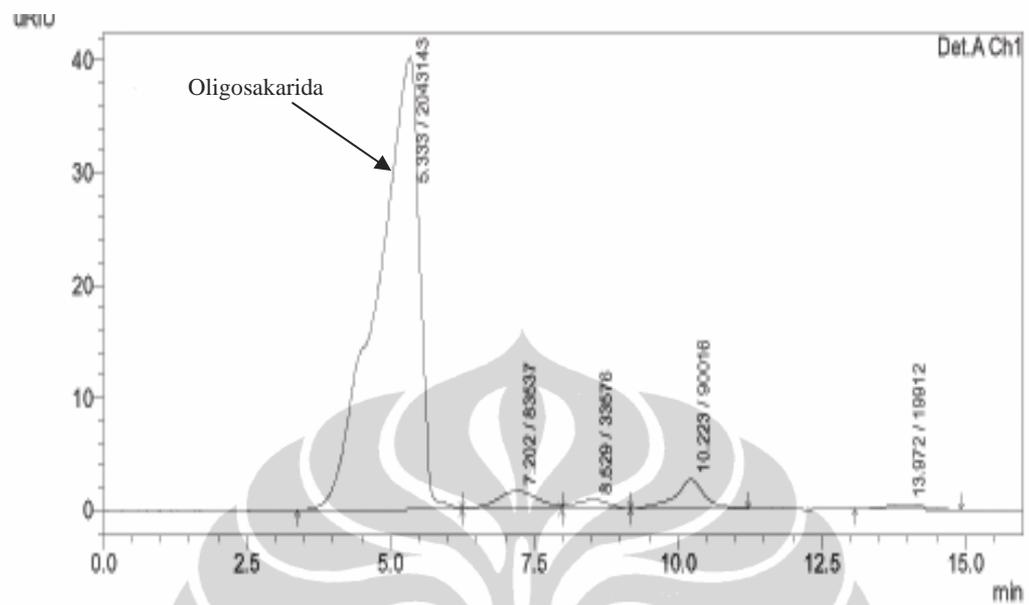
### 12.1. Fermentasi 0 jam



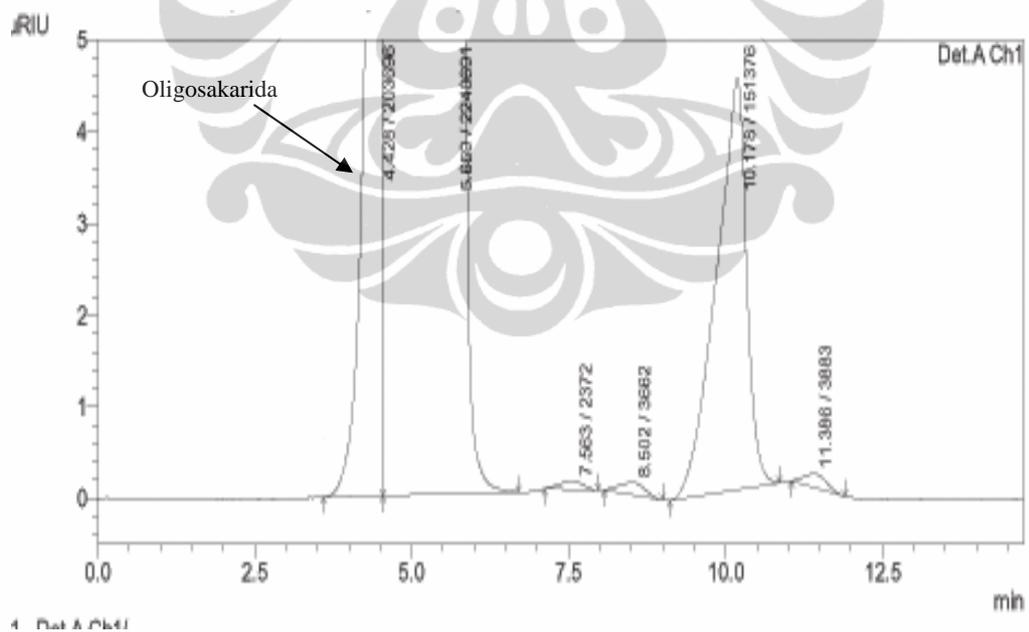
### 12.2. Fermentasi 6 jam



### 12.3. Fermentasi 12 jam



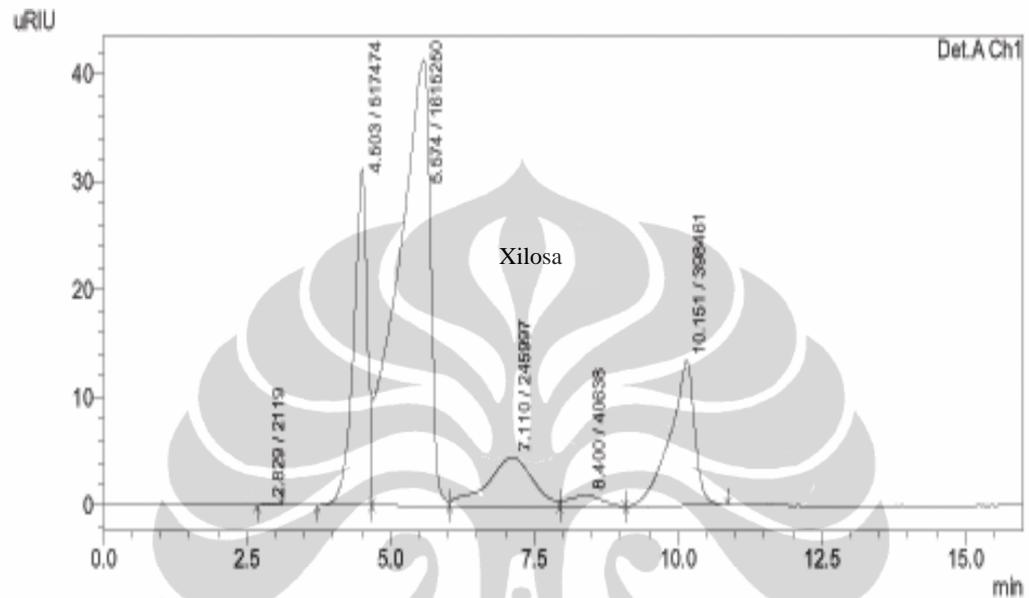
### 12.4. Fermentasi 18 jam



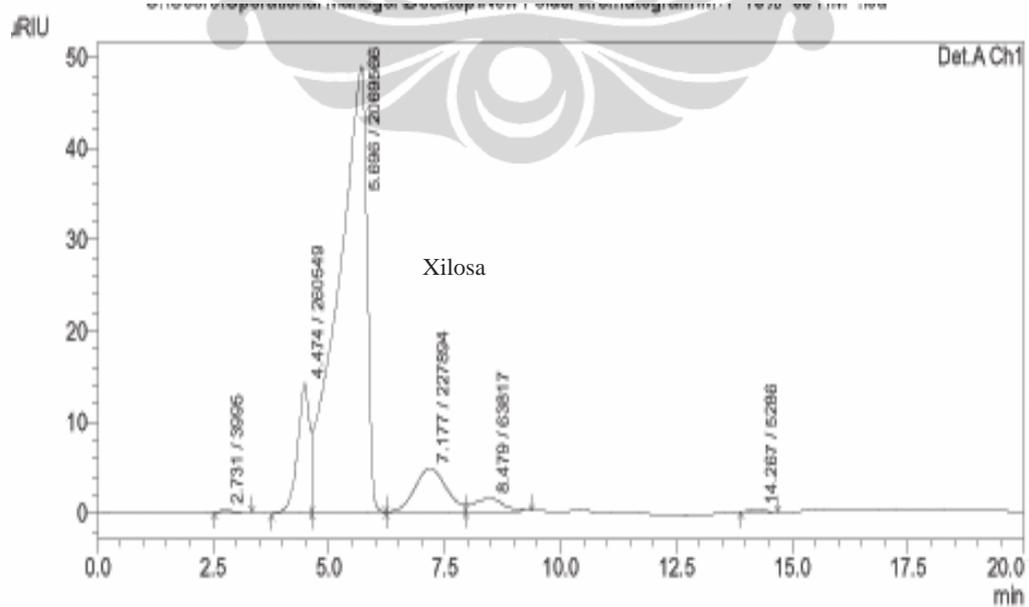
### LAMPIRAN 13

Kromatogram Fermentasi Batang dengan Kosubstrat Fruktosa 15%

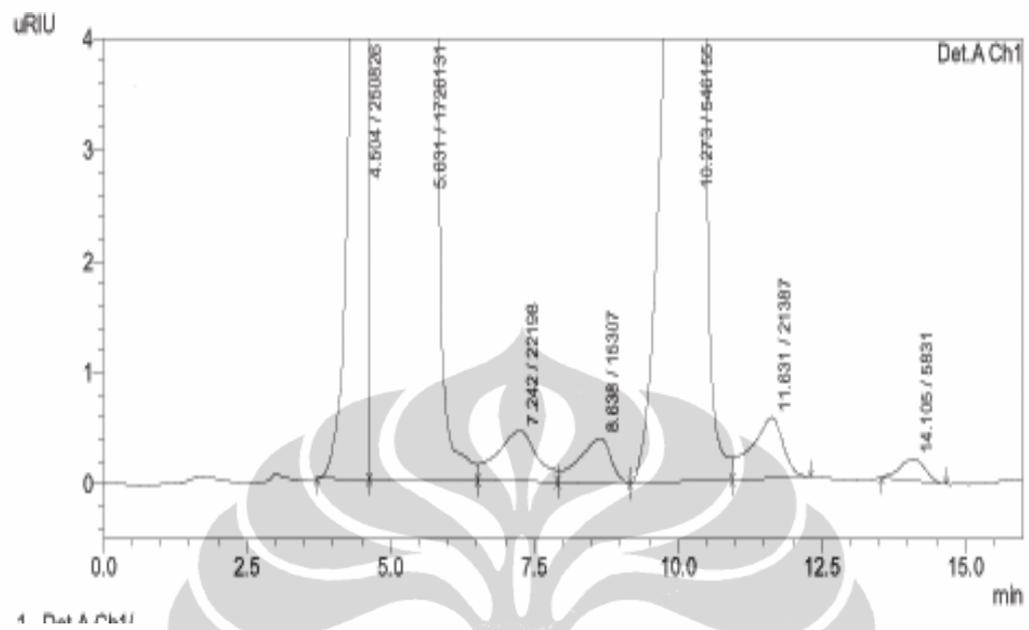
#### 13.1. Fermentasi 0 jam



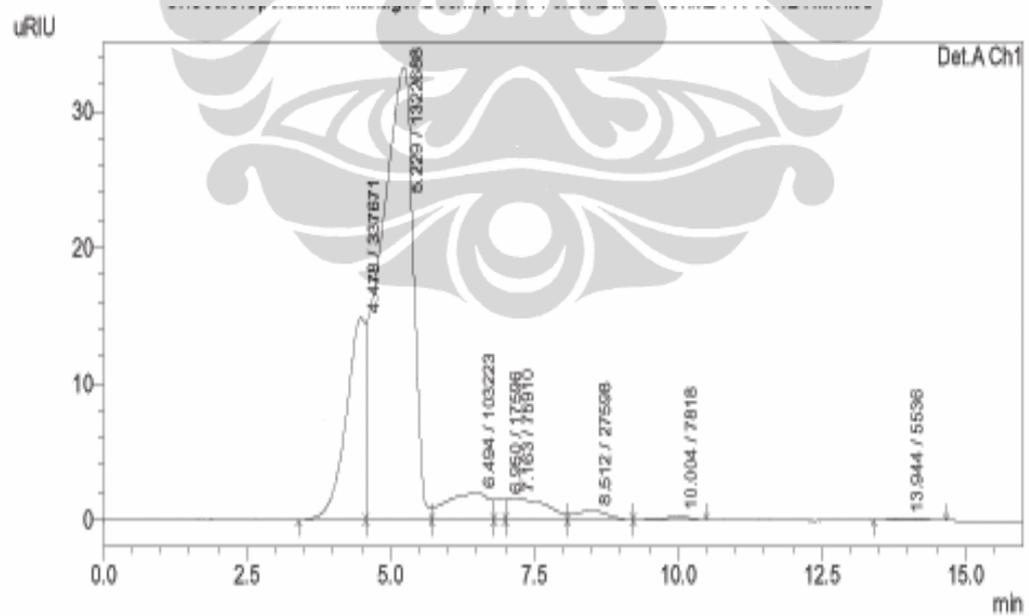
#### 13.2. Fermentasi 6 jam



### 13.3. Fermentasi 12 jam



### 13.4. Fermentasi 18 jam



## LAMPIRAN 14

### Contoh Cara Perhitungan

#### 14.1 Xilosa

Persamaan regresi linear dari grafik standar xilosa adalah  $Y = 145,49 X - 2118,1$

Y adalah luas area dan X konsentrasi xilosa (ppm).

Misal pada sampel malai luas area (Y) = 745.817,

Maka konsentrasi xilosa (X) =  $(745.817 + 2118,1) / 145,49$

$$= 5140,800 \text{ ppm}$$

$$= 5,141 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$$

$$= 5,141 \text{ g/L.}$$

Karena volume larutan 50 mL, maka dalam larutan terdapat:

$$5,141 \times 10^{-3} \text{ g/mL} \times 50 \text{ mL} = 0,257 \text{ g}$$

Oleh karena itu, persentase xilosa dalam

$$1 \text{ g sampel malai} = 0,257 \text{ g} / 1 \text{ g} \times 100 \% = 25,7 \% \text{ (w/w)}$$

#### 14.2. Xilitol

Persamaan regresi linear dari grafik standar xilitol adalah  $Y = 140,66 X - 64,954$

Y adalah luas area dan X konsentrasi Xilitol (ppm).

Misal pada sampel malai luas area (Y) = 25.337,

Maka konsentrasi xilitol (X) =  $(25.337 + 64,954) / 140,66$

$$= 180,590 \text{ ppm}$$

$$= 1,806 \times 10^{-4} \text{ g/mL}$$

Karena diencerkan 2 x, maka :

$$= 1,8 \times 10^{-4} \times 2 \text{ g/mL}$$

$$= 3,6 \times 10^{-4} \text{ g/mL}$$

Volume larutan 50 mL, sehingga :

$$= 3,6 \times 10^{-4} \times 50 \text{ g/50mL}$$

$$= 1,8 \times 10^{-2} \text{ g/50mL}$$

$$= 1,8 \times 10^{-2} \times 20 \text{ g/L}$$

$$= 0,36 \text{ g/L}$$

$$= \frac{0,36}{152,13} \text{ mol/L}$$

$$= 0,00237 \text{ mol/L}$$

Persen konversi yield xilitol dalam 1 g sampel malai sorghum

$$= (0,018 \text{ g} / 1 \text{ g}) \times 100 \% \text{ (w/w)} = 1,8 \%$$

Konsentrasi awal xilosa dalam hidrolisat 2,011 g/L

Mol xilosa dalam hidrolisat =  $2,011 \text{ g/L} / 150,13 = 0,01338 \text{ mol/L}$

Persen konversi xilosa menjadi xilitol =  $\frac{0,00237 \text{ M}}{0,01338 \text{ M}} \times 100 \%$   
 $= 18 \%$

