



UNIVERSITAS INDONESIA

**VARIASI NITROGEN DAN HIDROLISIS ENZIMATIS PADA
PRODUKSI BETA GLUKAN *Saccharomyces cereviciae* DENGAN
MEDIUM ONGGOK UBI KAYU DAN ONGGOK UMBI GARUT**

SKRIPSI

**FITA SEFRIANA
0906604193**

**FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**VARIASI NITROGEN DAN HIDROLISIS ENZIMATIS PADA
PRODUKSI BETA GLUKAN *Saccharomyces cerevisiae* DENGAN
MEDIUM ONGGOK UBI KAYU DAN ONGGOK UMBI GARUT**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknik Kimia**

**FITA SEFRIANA
0906604193**

**FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Fita Sefriana

NPM : 0906604193

Tanda tangan :



Tanggal : 22 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Fita Sefriana
NPM : 0906604193
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Variasi Nitrogen dan Hidrolisis Enzimatis pada
Produksi Beta Glukan *Saccharomyces cerevisiae*
dengan Medium Onggok Ubi Kayu dan Onggok
Umbi Garut

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr-Ing. Ir. Misri Gozan, M.Tech

Pembimbing II: Dra. Yemirta, M.Si

Penguji I : Dr. Ir. Dianursanti. M.T.

Penguji II : Ir. Rita Arbianti, M.T.

Penguji III : Dr. Ir. Siswa Setyahadi, M.Sc

()
()
()
()
()

Depok, 29 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Penulisan laporan ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik Jurusan Teknik Kimia pada Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, akan mengalami banyak kesulitan. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) Dr-Ing. Ir. Misri Gozan, M. Tech, selaku dosen pembimbing I yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran,
- 2) Dra. Yemirta, M.Si, selaku pembimbing II yang telah membantu dalam hal mengarahkan, masukan dan memperoleh data yang saya perlukan
- 3) Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia.
- 4) orang tua dan keluarga saya yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral; dan
- 5) para sahabat serta rekan yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan laporan ini.

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, 13 Juni 2012

Penulis

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

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

Nama : Fita Sefriana
NPM : 0906604193
Program Studi : Teknik Kimia
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah yang berjudul:

“Variasi Nitrogen dan Hidrolisis Enzimatis pada Produksi Beta Glukan
Saccharomyces cerevisiae dengan medium Onggok Ubi Kayu dan
Onggok Umbi Garut”

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmediakan/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 21 Juni 2011

Yang menyatakan,



(Fita Sefriana)

ABSTRAK

Nama : Fita Sefriana
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : VARIASI JUMLAH NITROGEN DAN HIDROLISIS ENZIMATIS PADA PRODUKSI BETA GLUKAN *Saccharomyces cereviciae* DENGAN MEDIUM ONGGOK UBI KAYU DAN ONGGOK UMBI GARUT

Penelitian ini memanfaatkan onggok umbi kayu dan umbi garut sebagai medium perkembangbiakan *S. cereviciae* untuk produksi β -glukan. Onggok umbi dihidrolisis oleh enzim amiloglukosidase agar menjadi glukosa dan dilanjutkan dengan fermentasi oleh khamir pada medium bernitrogen.

Dari penelitian yang dilakukan, konsentrasi glukosa hasil hidrolisis tertinggi untuk onggok singkong didapatkan dengan menambah enzim sebanyak 57,5 mg dengan konversi 95,93% dan untuk onggok garut sebanyak 55 mg enzim amiloglukosidase dengan konversi 64,70%. Produksi *S. cereviciae* tertinggi didapatkan dengan menambahkan jumlah pepton sebanyak 4,75 g untuk onggok singkong dan onggok garut dengan basis 10 gram onggok. Jumlah optimum sel yang didapat dari medium onggok garut adalah $1,61 \times 10^8$ koloni di jam ke 48 dan dari medium $8,50 \times 10^7$ koloni di jam ke 48 untuk onggok singkong. Untuk analisa beta glukan menggunakan HPLC, jumlah tertinggi beta glukan didapatkan dengan menambahkan pepton sejumlah 3,99 g pada onggok singkong menghasilkan beta glukan sebanyak 1,20 % dan 4,75 g pepton pada onggok garut menghasilkan beta glukan sebanyak 1,23 %. Pellet beta glukan paling tinggi berhasil diekstrak dari medium onggok ubi kayu variasi ketiga sebesar 1,77 g/L (0,18 % b/v); dari medium umbi garut variasi ketiga sebesar 1,91 g/L (0,19% b/v); dari sel mutan dalam medium sebesar 6,56 g/L (0,66% b/v) dan dari sel liar dalam medium YPG sebesar 1,84 g/L (0,18% b/v).

Kata kunci :

β -glukan, *S. cereviciae*, onggok umbi, hidrolisis, enzim, nitrogen

ABSTRACT

Name : Fita Sefriana

Program Studi : Teknik Kimia

Title : NITROGEN VARIATION AND ENZIMATIC HYDROLYSIS FOR BETA GLUCAN PRODUCTION FROM *Saccharomyces cerevisiae* WITH *Manihot utilissima* AND *Maranta arundinacea* WASTE MEDIUM

This research utilized *Manihot utilissima* and *Maranta arundinacea* waste as a medium of propagation *S. cerevisiae* for the production of β -glucan. The waste was hydrolyzed by the amyloglucosidase enzyme to become a glucose then followed by fermentation in the nitrogenous medium by *S. cerevisiae*. The highest concentration of glucose from hydrolysis was resulted by adding 57.5 mg enzyme for *Maranta arundinacea* with 95.93% conversion and 50 mg enzyme for *Manihot utilissima* with 64.70% conversion. For the production of *S. cerevisiae*, the highest amount was obtained by adding 4.75 g peptone to all sample. The optimum number of cells was obtained in an amount of 1.61×10^8 colonies at $t = 48$ for *Maranta arundinacea* waste and 8.55×10^7 colonies at $t = 48$ hours for *Manihot utilissima*. For beta glucan's production, the highest number was obtained by using 3.99 g peptone for *Manihot utilissima* with yield 1.20% and by using 4.75 g of peptone for *Maranta arundinacea* with yield 1.23%. For beta glucan pellet, the highest number was 1.77 g/L (0.18 % b/v) from *Manihot utilisima* medium and 1.91 g/L (0.19% b/v) from *Maranta arundinacea*. Mutant cell in YPG medium produced 6.56 g/L (0.66% b/v) beta glucan pellet and wild cell in YPG medium produced 1.84 g/L (0.18% b/v).

Key words :

β -glukan, *S. cerevisiae*, waste, *Maranta arundinacea*, *Manihot utilissima*, hydrolysis, enzyme, nitrogen

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Masalah	3
1.5 Sistematika Penulisan	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ubi Kayu (<i>Manihot utilisima Pohl.</i>)	5
2.2 Umbi Garut (<i>Maranta arundinacea Linn</i>)	6
2.3 Pati	7
2.3.1. Penyusun Pati	7
2.3.2. Hidrolisis Pati.....	9
2.4 Enzim.....	10
2.4.1 Faktor yang mempengaruhi hidrolisis enzim.....	11
2.4.2 Enzim Amilase.....	14
2.5. <i>Saccharomyces cereviciae</i>	15
2.5.1. Pertumbuhan Ragi.....	17
2.5.2. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Ragi.....	18
2.6. Beta glukon.....	19
2.6.1 Proses Produksi	22
2.6.2 Faktor –faktor penentu produksi.....	24
2.7. Penelitian sebelumnya (<i>State of the Art</i>).....	25

3. METODE PENELITIAN.....	26
3.1. Tahapan Penelitian.....	26
3.2 Alat dan Bahan	28
3.2.1 Alat.....	28
3.2.2 Bahan.....	28
3.3 Prosedur Kerja.....	28
3.3.1 Preparasi contoh.....	28
3.3.2 Hidrolisis pati.....	28
3.3.3 Penentuan kebutuhan nitrogen optimal.....	29
3.3.4 Penghancuran dinding sel.....	30
3.3.5 Ekstraksi beta glukosa.....	30
3.3.6 Analisis Pendukung	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Penentuan jumlah enzim optimal untuk hidrolisis onggok	33
4.2 Penentuan kadar nitrogen optimal untuk pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	37
4.2.1 Pengaruh variasi nitrogen terhadap jumlah sel <i>S. cerevisiae</i>	37
4.2.2 Pengaruh variasi nitrogen terhadap jumlah glukosa	41
4.2.3 Pengaruh variasi nitrogen terhadap pembentukan etanol.....	44
4.2.4 Pengaruh variasi nitrogen terhadap jumlah konsumsi nitrogen...	48
4.2.5 Pengaruh variasi nitrogen terhadap kadar beta glukosa.....	50
4.3 Ekstraksi beta glukosa dari <i>S. cerevisiae</i>	53
5. KESIMPULAN.....	56
DAFTAR PUSTAKA	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Amilosa.....	8
Gambar 2.2 Struktur amilopektin.....	9
Gambar 2.3 Cara kerja enzim.....	11
Gambar 2.4 <i>Competitive inhibition</i>	12
Gambar 2.5 <i>Non competitive inhibition</i> teori pertama.....	13
Gambar 2.6 <i>Substrate inhibition</i>	13
Gambar 2.7 Reaksi enzim amilase dengan pati	15
Gambar 2.8 Struktur dinding sel <i>S. cerevisiae</i>	17
Gambar 2.9 Fase kehidupan ragi.....	18
Gambar 2.10 Polimer dari beta glukuan.....	22
Gambar 3.1 Diagram alir penelitian	28
Gambar 4.1 <i>S. cerevisiae</i> hasil perbesaran 1000x.....	31
Gambar 4.2 <i>S. cerevisiae</i> sebelum dan setelah paparan UV.....	33
Gambar 4.3 Hidrolisis onggok dengan variasi jumlah enzim amiloglukosidase.....	35
Gambar 4.4 Morfologi umbi garut dan onggok ubi kayu.....	36
Gambar 4.5 Kurva pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i> dalam media onggok ubi kayu dengan variasi jumlah nitrogen	38
Gambar 4.6 Kurva pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i> dalam media onggok garut dengan variasi jumlah nitrogen.....	38
Gambar 4.7 Pengaruh variasi nitrogen terhadap konsumsi glukosa dalam medium onggok Ubi kayu.....	42
Gambar 4.8 Pengaruh variasi nitrogen terhadap konsumsi glukosa dalam medium onggok garut.....	43
Gambar 4.9 Pengaruh waktu fermentasi terhadap pembentukan etanol dalam berbagai variasi medium onggok ubi kayu.....	44
Gambar 4.10 Pengaruh waktu fermentasi terhadap pembentukan etanol dalam berbagai variasi medium onggok garut.....	45
Gambar 4.11 Konsumsi nitrogen pada medium onggok garut.....	48
Gambar 4.12 Konsumsi nitrogen pada medium onggok ubi kayu.....	49

Gambar 4.13 Kadar beta glukon dalam medium.....	50
Gambar 4.14 Proses ekstraksi beta glukon.....	53
Gambar 4.15 Hasil ekstraksi beta glukon.....	54



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi kimia ubi kayu per 100 gram.....	6
Tabel 2.2 Penelitian sebelumnya	25
Tabel 4.1 Kadar glukosa onggok umbi garut dan ubi kayu sebelum hidrolisis.....	32



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 Kebutuhan enzim amiloglukosidase.....	63
LAMPIRAN 2 Kebutuhan nitrogen.....	65
LAMPIRAN 3 Kurva Standar Glukosa.....	67
LAMPIRAN 4 Kadar Glukosa Awal sebelum Hidrolisis	68
LAMPIRAN 5 Kadar Glukosa setelah Hidrolisis dengan Enzim.....	69
LAMPIRAN 6 Kadar Glukosa selama Fermentasi.....	70
LAMPIRAN 7 Jumlah Koloni Sel <i>S. cereviciae</i> selama Fermentasi.....	71
LAMPIRAN 8 Kadar Standar Etanol.....	72
LAMPIRAN 9 Kadar Etanol selama Fermentasi.....	73
LAMPIRAN 10 Kadar Nitrogen selama Fermentasi.....	74
LAMPIRAN 11 Kadar Beta Glukan Hasil Fermentasi.....	75
LAMPIRAN 12 Kadar Pati Onggok Ubi Kayu.....	76
LAMPIRAN 13 Kadar Pati Onggok Umbi Garut.....	77
LAMPIRAN 14 Hasil Ekstraksi Beta Glukan.....	78

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pola hidup yang tidak sehat seperti makan tak seimbang, kurang olah raga, tingkat stress yang tinggi, depresi, serta mutasi genetik akibat konsumsi atau paparan radikal bebas menyebabkan tingginya angka pengidap penyakit kanker dan jantung koroner di Indonesia. Tingkat resiko yang ditimbulkan oleh kedua penyakit ini sangat tinggi, dimana jika tidak diatasi, pengidap kanker atau jantung koroner dipastikan akan mengalami stroke, koma, bahkan kematian (Djohan, 2004). Untuk menanggulangi masalah tersebut, dilakukan banyak penelitian tentang pembuatan suplemen makanan yang bisa menurunkan kadar kolesterol dalam darah, menangkal radikal bebas dan menguatkan sistem imun dalam tubuh agar terbebas dari penyakit yang beresiko kematian, salah satunya adalah penelitian mengenai beta glukukan.

Glukan merupakan polisakarida dengan monomer glukosa yang terhubung melalui ikatan glikosida. Jenis glukan yang banyak diaplikasikan dalam industri adalah beta glukan. Beta glukan adalah homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan β -(1,3) dan β -(1,6)-glukosida (Ha *et al.*, 2002). dan banyak ditemukan pada dinding sel beberapa bakteri, tumbuhan, dan khamir (Hunter *et al.*, 2002). Beta glukan sangat baik difermentasi di usus besar karena efeknya yang dapat menurunkan kadar kolesterol serum, kadar gula darah, meningkatkan kekebalan tubuh, meningkatkan efektivitas antibiotik dan anti virus, memiliki aktivitas antitumor dan antioksidan, serta sebagai pelembut dan pelembab dalam kosmetik.

Saccharomyces cerevisiae (*S. cerevisiae*) merupakan salah satu jenis khamir galur potensial penghasil beta glukan, karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas beta glukan (Lee *et al.*, 2001). Penyusun dinding sel *S. cerevisiae* sendiri berupa 2 lapisan yang terdiri dari sekitar 35-40% mannoprotein, lebih dari setengahnya berupa β -(1,3) glukan, dan

sebagian kecil adalah β -(1,6)-glukan dan kitin (Ruis Herera, 1992). Produksi *S. cerevisiae* mencapai nilai optimum saat berada dalam nutrisi dengan sumber gula dan sumber nitrogen yang tinggi, dimana pepton adalah menjadi penyedia nitrogen paling baik dibandingkan dengan sumber lain (Kusmiati, dkk., 2007). Adapun fungsi dari gula untuk perkembangbiakan *S. cerevisiae* adalah sebagai sumber energi kehidupan, penghemat nitrogen dan pengatur metabolisme. Sementara fungsi nitrogen adalah sebagai zat pembangun untuk mensintesis bagian-bagian penyusun sel (Hidayat, dkk., 2006).

Salah satu bahan yang kaya akan sumber glukosa adalah limbah industri tapioka, yaitu onggok ubi kayu dan umbi garut. Onggok mengandung pati sekitar 45-65% yang merupakan polisakarida potensial untuk dimanfaatkan lebih lanjut dari hanya sekedar pakan ternak. Sejauh ini belum banyak penelitian yang menggunakan limbah sebagai medium pertumbuhan *yeast*. Pada penelitian lainnya, medium yang digunakan sudah berupa glukosa, atau bahan pangan lainnya yang berkadar gula tinggi, seperti molase dan pepaya (Kusmiati, 2007). Berdasarkan uraian tersebut, muncul ide penelitian mengenai pemanfaatan onggok ubi kayu dan umbi garut sebagai medium perkembangbiakan *S. cerevisiae* untuk produksi beta glukan.

Pati dalam onggok dapat digunakan sebagai sumber glukosa untuk memperbanyak produksi sel *S. cerevisiae* dengan cara dihidrolisis terlebih dahulu secara enzimatik. Enzim amiloglukosidase merupakan enzim yang mampu memecah pati atau dekstrin menjadi glukosa. Enzim ini dipilih sebagai enzim penghidrolisis karena tidak membutuhkan kondisi operasi yang terlalu sulit dan memiliki *yield* konversi yang tinggi (Purbawani, 2005). Setelah itu, *S. cerevisiae* dibiarkan berkembang biak pada medium yang juga mengandung nitrogen. Banyaknya nitrogen dalam medium divariasikan untuk melihat efeknya terhadap pertumbuhan jumlah sel. Diharapkan dengan melakukan hidrolisis pati, produksi *S. cerevisiae* akan tinggi karena terpenuhi kebutuhan glukosa untuk bermetabolisme. Dan

dengan melakukan variasi nitrogen, diharapkan massa sel semakin besar sehingga lebih banyak beta glukosa yang dihasilkan.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana memperoleh jumlah optimum enzim amiloglukosidase dalam hidrolisis onggok singkong dan onggok umbi garut dapat menghasilkan glukosa paling tinggi yang digunakan sebagai sumber karbon oleh *S. cerevisiae*
2. Bagaimana memperoleh jumlah nitrogen optimum dalam medium dapat menghasilkan *S. cerevisiae* dengan volume dan massa sel tertinggi agar beta glukosa yang dihasilkan akan tinggi pula.

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui jumlah enzim yang optimal untuk hidrolisis onggok ubi kayu dan onggok umbi garut menjadi glukosa sebagai sumber karbon bagi *yeast*
2. Mengetahui jumlah nitrogen yang optimal dalam medium untuk menghasilkan pertumbuhan *S. cerevisiae* tertinggi dan *yield* beta glukosa terbesar.

1.4. Batasan Masalah

1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Aneka dan Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Kimia Kemasan
2. *S. cerevisiae* yang digunakan dalam penelitian didapatkan dari kultivasi dan isolasi dari kultur ragi *S. cerevisiae* koleksi Laboratorium Bioteknologi LIPI
3. Onggok yang digunakan merupakan limbah sintetik umbi berumur 6 bulan dengan masa pasca panen maksimal 2 minggu.

1.5. Sistematika Penulisan

Adapun sistematika penulisan laporan ini terdiri dari beberapa bab, yaitu :

BAB 1 PENDAHULUAN

Bab ini berisi tentang latar belakang, tujuan, rumusan masalah, batasan masalah dan sistematika penulisan laporan penelitian.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini berisi tentang teori umum mengenai pati, beta glukukan, *Saccharomyces cerevisiae*, penggunaan enzim untuk hidrolisis, faktor yang mempengaruhi perkembangan biakan, serta bahan baku sampel penelitian.

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini berisi tentang skema laju alir penelitian, alat dan bahan yang digunakan, waktu dan tempat dilaksanakannya penelitian, variabel penelitian, dan prosedur penelitian maupun analisa pendukungnya.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini berisi tentang hasil dan pembahasan dari penelitian yang berupa uraian pengaruh enzim terhadap hidrolisis, pengaruh jumlah nitrogen terhadap fermentasi dan hasil analisis data yang dihasilkan dari penelitian.

BAB 5 KESIMPULAN

Bab ini berisi kesimpulan penelitian yang telah dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ubi Kayu (*Manihot utilissima* Pohl.)

Tumbuhan ubi kayu (*Manihot utilissima* Pohl.) merupakan tanaman pangan berupa perdu dengan nama lain ketela pohon, singkong, atau *cassava*. Ubi kayu berasal dari negara Amerika Latin, atau tepatnya dari Brazil. Penyebarannya hampir ke seluruh dunia, antara lain Afrika, Madagaskar, India, serta China. Ketela pohon/ubi kayu diperkirakan masuk ke Indonesia pada tahun 1852. Sistematika tanaman ketela pohon/ubi kayu adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Euphorbiales*
Famili : *Euphorbiaceae*
Genus : *Manihot*
Spesies : *Manihot utilissima* Pohl.

Ubi kayu sebagai bahan baku sumber energi alternatif memiliki kadar karbohidrat sekitar 32-35% dan kadar pati sekitar 83,8% setelah diproses menjadi tepung. Tanaman ubi kayu dapat tumbuh di lahan yang kurang subur serta masa panennya tidak tergantung pada musim sehingga panennya dapat berlangsung sepanjang tahun (Prihardana, R., dkk. 2008).

Ubi kayu merupakan makanan pokok penting karena kontribusinya yang tinggi sebagai asupan kalori bagi jutaan orang. Ubi kayu mempunyai masa pasca panen yang pendek dan degradasi kualitas setelah pemanenan. Perubahan warna jaringan pengangkut sudah terjadi dari hari kedua atau ketiga setelah panen yang diikuti dengan pembusukan. (Rubatzky, 1998)

Tabel di bawah ini merupakan daftar komposisi kimia dari ubi kayu.

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Ubi Kayu per 100 gram

Komposisi	Jumlah
Energi (kal)	146,0
Protein (g)	1,2
Lemak (g)	0,3
Karbohidrat (g)	34,7
Kalsium (mg)	33,0
Fosfor (mg)	4,0
Besi (mg)	0,7
Vitamin A (SI)	0
Vitamin B1 (cg)	0,06
Vitamin B2 (mg)	0,02
Vitamin C (mg)	30,0
Air (%)	62,5

Sumber : Direktorat Gizi dan Makanan, 1996

2.2 Ubi Garut (*Maranta arundinacea* Linn)

Tanaman garut merupakan tanaman umbi-umbian yang sudah dibudidayakan di pedesaan sejak dahulu dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat alternatif. Tanaman yang memiliki nama latin *Maranta arundinacea* Linn. ini tumbuh tersebar di beberapa wilayah di Indonesia dan dikenal dengan nama lokal, misalnya sagu betawi, sagu belanda, ubi sagu, arerut atau arirut (Melayu); angkrik, arus, irut, jelarut, larut, erut (Jawa); larut atau patat sagu (Sunda); *arut*, *selarut* atau *laru* (Madura); *labia walanta* (Gorontalo); *huda sula* (Ternate), *peda sula* (Halmahera); dsb (Rukmana, 2000). Tanaman garut telah lama dikenal oleh masyarakat pedesaan sebagai sumber karbohidrat selain tanaman umbi-umbian yang lain. Dulu, tanaman ini banyak dikonsumsi sebagai makanan tambahan yang diolah dalam bentuk bubur (Jawa: jenang).

Tanaman garut hanya menyukai daerah tropis, dan tanaman ini termasuk dalam :

- Devisi : *Spermatophyta*
- Sub Devisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Monocotyledoneae*
- Ordo : *Zingiberles*
- Famili : *Marantaceae*
- Genus : *Maranta*

Species : *Maranta arundinaceae* L.

Umbi garut segar mengandung nutrisi yang cukup tinggi sebagai bahan pangan, yaitu 19,4% - 21,7% pati, 1,0% - 2,2% protein, 69,0% - 72,0% air, 0,6% - 1,3% serat, 1,3% - 1,4% kadar abu, serta sedikit gula (Rukmana, 2000). Umbi tanaman garut adalah sumber karbohidrat yang memiliki kandungan indeks glikemik rendah (GI = 14) dibanding jenis umbi-umbian yang lain, sehingga sangat bermanfaat bagi kesehatan terutama untuk penderita diabetes atau penyakit kencing manis (Rahmawati, dkk, 2004). Kelebihan umbi garut yang lain adalah kandungan kalsium dan besi yang lebih tinggi, yaitu sebesar 28,0 mg dan 1,7 mg tiap 100 g, dibandingkan dengan tepung terigu sehingga sangat baik untuk pertumbuhan tulang dan gigi bagi anak-anak dan usia lanjut (Direktorat Gizi Depkes, 1996).

Sejak tahun 1998 pemerintah telah mencanangkan tanaman garut sebagai salah satu komoditas bahan pangan yang mendapatkan prioritas untuk dikembangkan karena memiliki potensi sebagai pengganti tepung terigu. Tanaman garut dibudidayakan secara teratur di daerah Jawa Tengah dan Jawa Timur, sedangkan Lampung dan Sulawesi Tenggara baru sebagian kecil. Ubi kayu maupun garut merupakan sumber pati dan salah satu industri penting pengguna pati adalah industri yang memproduksi polimer.

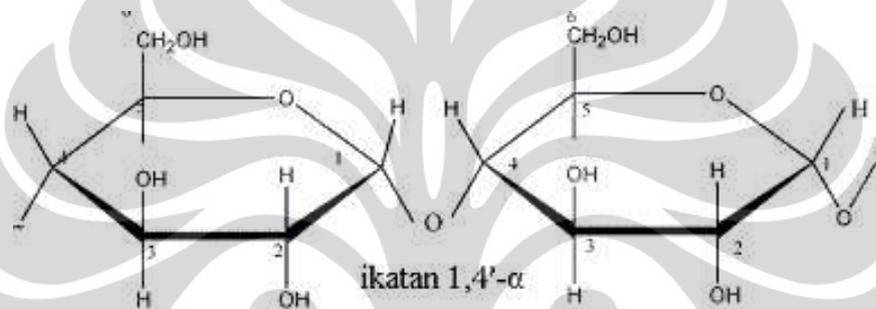
2.3 Pati

2.3.1 Penyusun Pati

Pati merupakan polisakarida yang melimpah di alam. Senyawa ini dipisahkan menjadi dua fraksi utama jika ditriturasi dengan air panas, yaitu fraksi yang larut disebut amilosa, dan fraksi yang tidak larut, disebut amilopektin. Amilosa dan amilopektin berperan dalam menentukan sifat suspensi pati dalam air. Amilosa tidak mudah larut dengan air dingin tapi kelarutannya meningkat dengan pemanasan. Hal ini terjadi karena retrogradasi (terbentuknya ikatan hidrogen antar gugus-OH) molekul amilosa yang berdekatan dalam larutan. Amilopektin lebih stabil dan tidak teretrogradasi sehingga tidak larut dalam air panas (Fessenden, 1995).

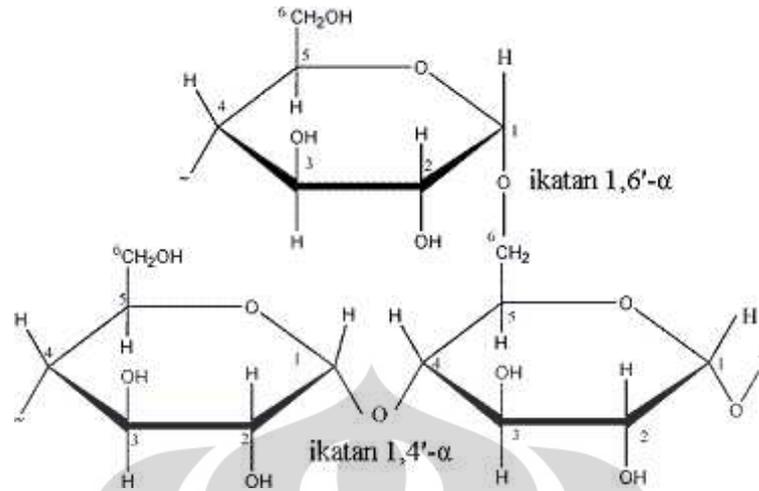
Amilosa merupakan molekul polimer linear dari α -D-glukosa yang dihubungkan dengan ikatan 1,4. Pada satu molekul amilosa terdapat 100-1000 satuan glukosa. Hidrolisis lengkap amilosa menghasilkan D-glukosa. hidrolisis parsial hanya menghasilkan satu macam disakarida yaitu maltosa.

Amilosa memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan iod karena molekul amilosa membentuk spiral di sekeliling molekul I_2 . Kompleks iod-amilosa ini menghasilkan warna biru tua khas yang intensitasnya tergantung dari panjang rantai. Warna ini merupakan dasar untuk menguji adanya pati (Kearsley, 1995)



Gambar 2.1 Struktur Amilosa
(www.wikipedia.org, 2011)

Amilopektin merupakan polimer bercabang dari α -D-glukosa yang dihubungkan dengan ikatan 1,4 dan ikatan 1,6 pada cabangnya. Percabangan terjadi setiap 10-12 satuan glukosa dengan panjang rantai samping 20-30 satuan glukosa. Molekul amilopektin lebih besar dari amilosa karena terdapat lebih dari 1000 satuan glukosa. Hidrolisis lengkap amilopektin juga menghasilkan D-glukosa sedangkan hidrolisis parsial menghasilkan campuran disakarida yaitu maltosa dan isomaltosa yang berasal dari percabangan 1,6 dan biasa dirujuk sebagai dekstrin.



Gambar 2.2 Struktur amilopektin
(<http://kimia.upi.edu>, 2011)

Dari berbagai literatur yang didapat, produksi onggok biasanya sekitar 5-10% dari total bahan baku yang digunakan. Kadar pati yang masih terdapat pada umbi sekitar 45-65% (Susijahadi,dkk, 1997). Amilopektin yang terdapat dalam pati berkisar antara 17-21% (Ben, dkk, 2007).

2.3.2 Hidrolisis pati

Proses untuk mengubah molekul rantai karbohidrat panjang menjadi unit yang lebih kecil pada pati disebut hidrolisis. Hidrolisis dapat dilakukan baik secara utuh maupun parsial dengan menggunakan enzim ataupun kimiawi. Untuk proses hidrolisis yang memotong ikatan glikosidik pada ikatan α -1,4, digunakan katalis enzim α -amilase. Enzim α -amilase adalah endoenzim yang bekerja memutus ikatan α -1,4 secara acak di bagian tengah atau bagian dalam molekul polisakarida baik pada amilosa maupun amilopektin. Hidrolisis pati oleh enzim α -amilase menghasilkan molekul-molekul kecil seperti pada maltosa, maltotriosa, glukosa dan α -limit dekstrin. Terbentuknya molekul dekstrin disebabkan masih adanya ikatan α -1,6 yang tidak dapat dipecah α -amilase.

Hidrolisis pati umumnya dilakukan pada suhu 80-100°C. Mengingat suhu hidrolisis sangat tinggi, enzim α -amilase yang digunakan haruslah tahan terhadap suhu tinggi. Salah satu enzim amilase yang tahan terhadap

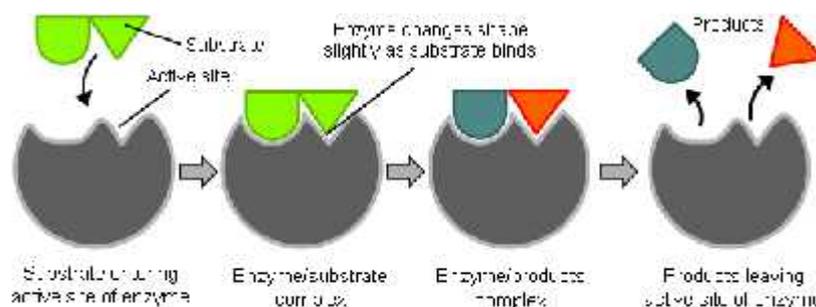
suhu tinggi dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus amyloliquefaciens*. Hal-hal yang perlu diperhatikan pada proses hidrolisis pati meliputi suhu, waktu inkubasi, jumlah dan jenis amilase yang digunakan.

Adapun faktor yang mempengaruhi sifat fungsional dari hidrolisat pati yang dihasilkan adalah tingkat hidrolisisnya yang berkaitan dengan komposisi karbohidrat dan total nilai gula pereduksi (DE). Produk hasil hidrolisis pati diklasifikasikan berdasarkan total nilai gula pereduksi (DE = *Dextrose Equivalen*) antara lain maltodekstrin yang memiliki nilai DE kurang dari 20. Produk dengan nilai DE lebih besar dari 20 disebut sebagai hidrolisat pati. Nilai DE menyatakan banyaknya gula pereduksi dibandingkan terhadap berat kering dekstrosa murni. DE 100 diperoleh pada glukosa murni sedangkan DE 0 diperoleh pada pati yang belum mengalami proses apapun (Swarbrick, 1996).

Sifat hidrolisat pati dihasilkan tergantung dari nilai-nilai DE yang dimiliki, karakteristik hidrolisat pati yang meningkat seiring dengan peningkatan nilai DE antara lain adalah kemanisan, kelarutan, higroskopitas dan kecenderungan mengalami reaksi *browning*. Sementara itu, kemampuan membentuk film, daya ikat (adhesivitas) dan viskositas menurun seiring penurunan nilai DE (Anindjayanti, 2003).

2.4 Enzim

Enzim adalah salah satu senyawa protein yang sangat penting bagi setiap reaksi yang terjadi di dalam tubuh makhluk hidup. Senyawa organik ini terlibat dalam peningkatan laju reaksi biokimia yang terjadi dalam sel suatu makhluk hidup, tidak mengalami perubahan susunan dan struktur pada akhir reaksi. Enzim adalah suatu zat yang mempercepat terjadinya suatu reaksi kimia yang bekerja spesifik terhadap zat tertentu. Cara kerja enzim dapat dianalogikan dengan lubang kunci dan anak kunci dengan enzim sebagai kunci dan substrat sebagai anak kunci. Mekanisme kerja enzim dapat digambarkan seperti gambar berikut.



Gambar 2.3. Cara kerja enzim

(<http://en.wikipedia.org>, 2011)

Layaknya semua katalis, enzim mempercepat terjadinya reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasi. Enzim dapat meningkatkan kemampuan reaksi secara dramatis hingga seribu kali lebih cepat dibanding reaksi tanpa katalis/enzim.. Enzim tidak dikonsumsi dalam reaksi dan tidak mengubah kesetimbangan kimia reaksi. Spesifikasi kerja enzim menyebabkan ada banyak jenis enzim yang fungsinya khusus untuk zat tertentu seperti halnya enzim selulase, spesifik untuk selulosa dan enzim amilase spesifik untuk amilum.

2.4.1 Faktor yang mempengaruhi hidrolisis enzim

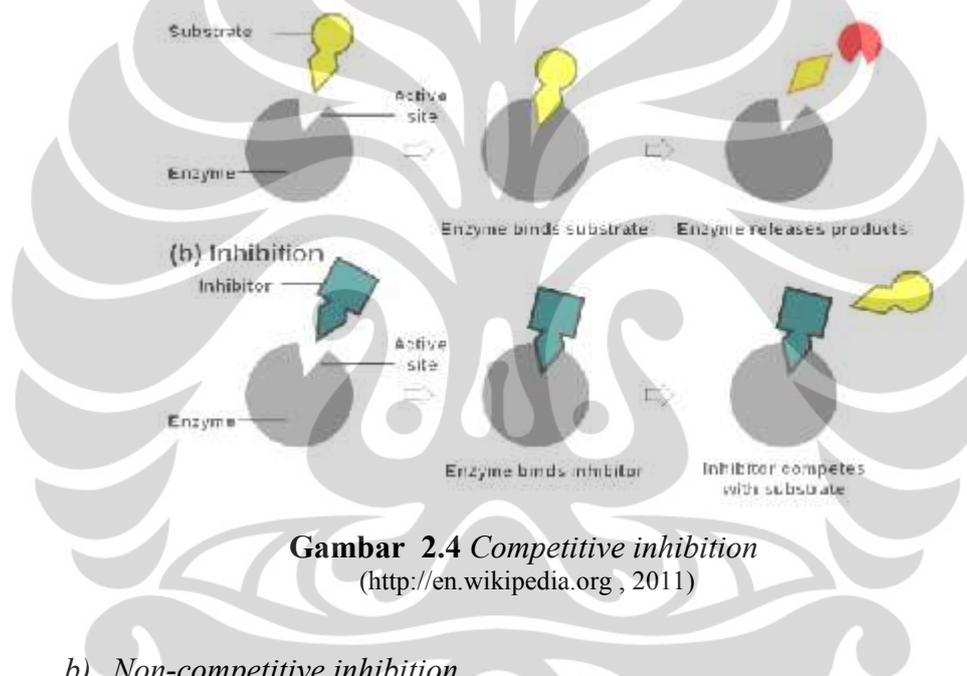
Konsentrasi dan kualitas substrat, metode perlakuan awal yang digunakan, aktivitas enzim dan kondisi hidrolisis seperti temperatur, pH, dan *mixing* adalah faktor-faktor utama yang mempengaruhi hidrolisis enzimatis. Temperatur dan pH optimum hidrolisis enzim tidak selalu sama, tergantung pada bahan baku, mikroorganisme penghasil enzim, dan durasi hidrolisis. (Tahezadeh dan Karimi, 2007).

Salah satu faktor utama yang mempengaruhi konsentrasi produk dan laju reaksi hidrolisis enzim adalah konsentrasi substrat dalam larutan. Konsentrasi substrat yang terlalu tinggi dapat menjadi inhibitor bagi enzim, dan juga dapat menghambat proses pencampuran dan perpindahan massa. Rasio enzim dan substrat yang digunakan adalah faktor lain yang juga mempengaruhi hidrolisis enzim. Penambahan konsentrasi enzim pada level tertentu akan meningkatkan laju reaksi dan produk yang dihasilkan. Inhibisi reaksi hidrolisis enzim dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu *competitive*

inhibition, non-competitive inhibition dan *substrate inhibition* (Anonim, 2011).

a) *Competitive inhibition*

Mekanisme inhibisi ini terjadi jika di dalam larutan terdapat senyawa yang mirip dengan substrat. Kedua senyawa ini bersaing untuk menempati *active site* enzim. Saat substrat bergabung dengan enzim, akan terjadi reaksi dan terbentuk produk. Jika senyawa yang mirip substrat yang bergabung, tidak terjadi reaksi melainkan menyebabkan laju reaksi menurun karena jumlah reaksi yang terbentuk semakin sedikit.



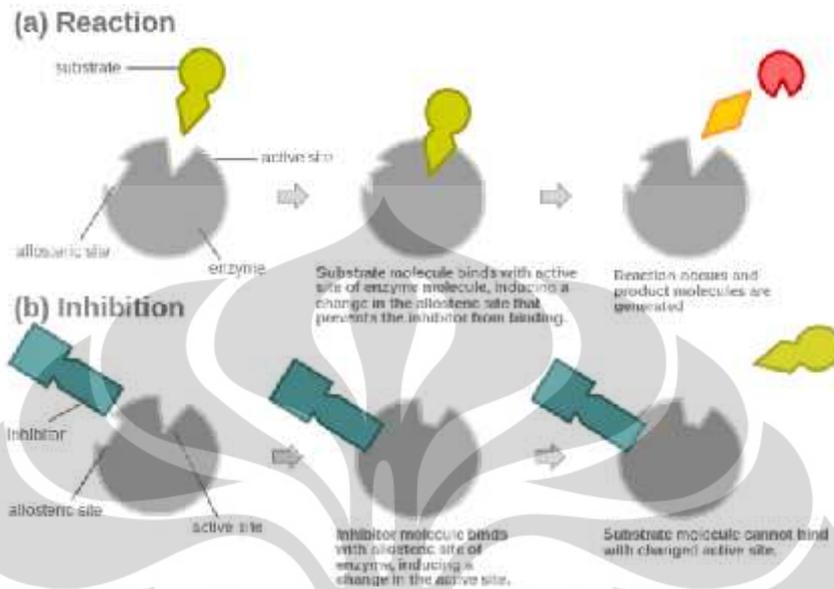
Gambar 2.4 *Competitive inhibition*
(<http://en.wikipedia.org>, 2011)

b) *Non-competitive inhibition*

Ada beberapa teori yang berkaitan dengan mekanisme *non competitive inhibition*. Yang pertama adalah senyawa inhibitor tidak berikatan dengan *active site* melainkan di bagian lain enzim. Pengaruh ikatan senyawa ini dengan enzim bergantung sepenuhnya pada konsentrasi inhibitor dan tidak akan dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Jika inhibitor telah berikatan dengan enzim, meskipun bukan *active site*, dapat membuat enzim tidak berfungsi lagi.

Teori kedua adalah inhibitor bekerja dengan menghalangi *active site*. Teori lainnya yaitu keberadaan senyawa inhibitor mengubah struktur tiga dimensi enzim dan menyebabkan *active site* tidak cocok

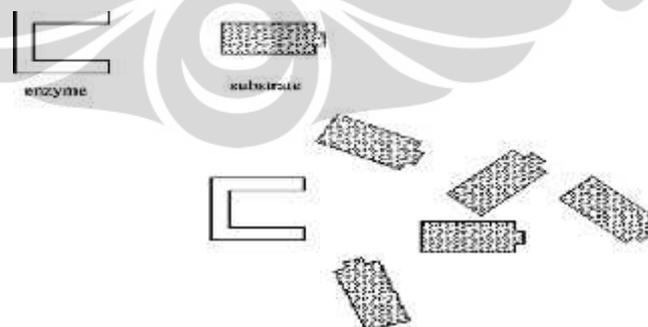
lagi dengan substrat. Akibatnya, *active site* tidak lagi dapat digunakan sebagai tempat terjadinya reaksi enzimatik.



Gambar 2.5. *Non competitive inhibition* teori pertama
(<http://en.wikipedia.org> , 2011)

c) *Substrate inhibition*.

Penambahan konsentrasi substrat pada level tertentu dapat menurunkan laju reaksi. Hal ini karena begitu banyaknya substrat yang menyebabkan persaingan antar substrat untuk menempati *active site* enzim. Sehingga tidak ada substrat yang dapat menempatnya dan reaksi tidak terjadi.



Gambar 2.6. *Substrate inhibition*
(<http://www.currentprotocols.com> , 2011)

2.4.2 Enzim Amilase

Amilase merupakan enzim yang menghidrolisis molekul pati menjadi molekul yang lebih sederhana yang terdiri dari unit glukosa (Reddy, dkk, 2003).

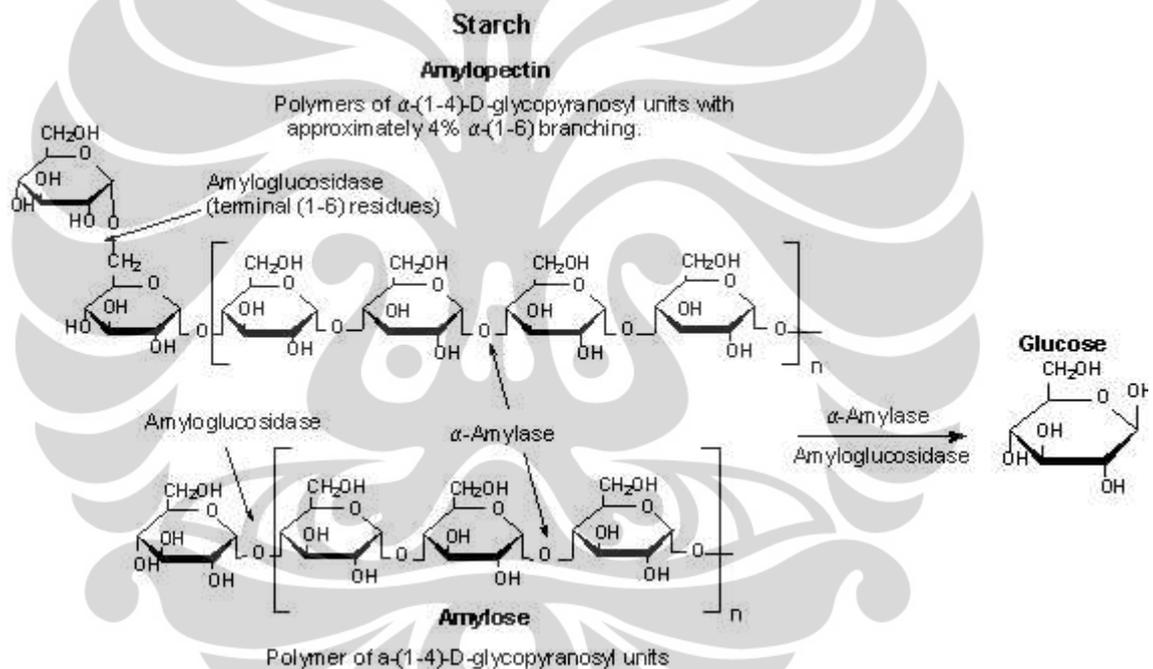
Secara umum amilase dibedakan menjadi tiga berdasarkan pemecahannya dan letak ikatan yang dipecah, yaitu alfa amilase, beta amilase dan gamma amilase. Enzim α -amilase merupakan endoamilase yang memecah ikatan glikosida secara acak dari tengah atau bagian dalam molekul pati sehingga menghasilkan oligosakarida yang bercabang atau lurus (Purbawani, 2006). Enzim α -amilase yang memotong ikatan α -1,4 amilosa dan amilopektin dengan cepat pada larutan pati kental yang telah mengalami gelatinisasi. Proses ini biasa disebut juga sebagai proses liquifisasi pati. Produk akhir yang dihasilkannya adalah dekstrin beserta sejumlah kecil glukosa dan maltosa. Alfa amilase akan menghidrolisis ikatan α -1,4 glikosida pada polisakarida dengan hasil degradasi secara acak dibagian tengah atau bagian dalam molekul.

Enzim beta amilase dan gamma amilase termasuk eksoamilase yang memecah ikatan glikosida dari ujung non pereduksi sehingga menghasilkan rantai yang lebih pendek (Purbawani, 2005). Enzim β -amilase atau disebut juga α -1,4 glukamaltohidrolase bekerja pada ikatan α -1,4 glikosida dengan menginversi konfigurasi posisi atom C(I) atau C nomor 1 molekul alfa menjadi molekul beta. Enzim ini memutus ikatan maltosa dari ujung non pereduksi pada rantai polisakarida.

Gamma amilase atau yang dikenal sebagai amiloglukosidase merupakan enzim dengan nama lain α -1,4glukohidrolase. Enzim ini menghidrolisis ikatan glukosida α -1,4 tetapi hasilnya merupakan beta glukosa yang mempunyai konfigurasi yang berlawanan dengan hasil hidrolisis oleh enzim α -amilase. Selain itu, enzim ini dapat menghidrolisis ikatan glikosida α -1,6 dan α -1,3 tetapi dengan laju yang lebih lambat dibandingkan dengan hidrolisis ikatan glikosida α -1,4. Kelompok amilase yang dihasilkan oleh kapang dan banyak diteliti adalah α -amilase dan amiloglukosidase.

Beberapa industri yang menggunakan α -amilase adalah industri pengolah pati, makanan, pemeraman, deterjen, tekstil, dan kertas. Tiap aplikasi industri mensyaratkan sifat yang khas dari enzim α -amilase terkait dengan spesifitas, stabilitas dan pengaruh suhu serta pH tertentu.

Saat ini, hidrolisis enzimatik pati mentah sangat diperlukan untuk menekan konsumsi energi di dalam industri berbasis pati. Eksplorasi sumber-sumber baru penghasil α -amilase dan karakterisasi α -amilase yang dihasilkannya penting dilakukan untuk memfasilitasi penemuan α -amilase baru yang memenuhi persyaratan industri dengan kemampuan yang lebih baik, terutama dalam mendegradasi pati mentah.



Gambar 2.7 Reaksi enzim amilase dengan pati
(www.sigmaldrich.com , 2011)

2.5. *Saccharomyces cerevisiae*

Ragi/khamir adalah kelompok jamur uniseluler berukuran lima hingga dua puluh mikron yang umum dipergunakan untuk fermentasi roti dan minuman beralkohol. Biasanya khamir berbentuk telur, namun ada yang berbentuk memanjang dan berbentuk bola. Khamir tidak dilengkapi dengan flagelum, atau organ penggerak lainnya (Pelchzar, 1986). Selain itu khamir

bersifat anaerobik fakultatif yang artinya mampu hidup dalam keadaan aerob ataupun anaerob. Suhu maksimum pertumbuhan ragi antara 36-37°C, dan suhu minimumnya 9-11°C (Judoamidjojo, 1992). Pertumbuhan maksimum biasanya terjadi sampai hari ketiga dan mulai mengalami penurunan sampai hari ketujuh (Walker, 1995).

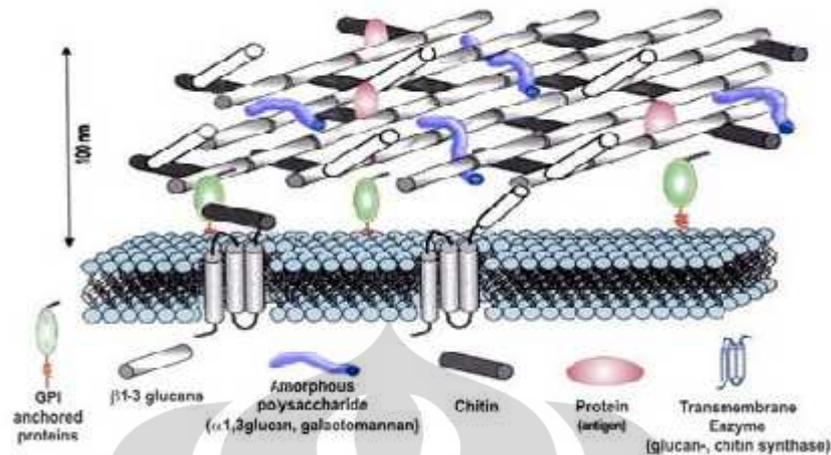
S. cerevisiae adalah salah satu khamir yang sering digunakan. Biasanya masyarakat mengenal *S. cerevisiae* sebagai ragi roti (*baker's yeast*).

Taksonomi dari *S. cerevisiae* yaitu :

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Phylum	: <i>Ascomycota</i>
Class	: <i>Hemiascomycota</i>
Order	: <i>Saccharomycotales</i>
Family	: <i>Saccharomycetaceae</i>
Genus	: <i>Saccharomyces</i>
Species	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Sebuah sel ragi mampu memfermentasi glukosa dengan massa yang sama dengan massa selnya sendiri dalam jangka waktu satu jam. Ragi dapat bereproduksi secara aseksual dengan membentuk tunas ataupun secara seksual dengan pembentukan *ascospora*. Selama proses reproduksi aseksual, sebuah tunas baru tumbuh dari ragi dengan kondisi tertentu dan saat mencapai ukuran dewasa ia akan melepaskan diri dari sel induknya. Reproduksi seksual ragi umumnya berlangsung pada kondisi kekurangan nutrisi pertumbuhan dengan cara pembentukan *ascospora* (European Bioinformatics Institute, 1996).

Dinding sel dari *S. cerevisiae* terdiri dari 2 layer yang dibangun oleh 4 molekul utama, yaitu manoprotein, β (1,6) glukukan, β (1,3) glukukan dan kitin. Semua komponen ini tersambung oleh ikatan-ikatan kovalen. Manoprotein yang berada di dinding sel berjumlah 35-40% dari bobot kering sel. Lebih dari setengah penyusun dinding sel adalah β (1,3) glukukan, dan sisanya berupa kitin serta β (1,6) glukukan. Senyawa beta glukukan didalam dinding sel *S. cerevisiae* berperan sebagai kerangka penyangga dari dinding sel dan berfungsi memperkuat struktur dari selnya serta sebagai zat cadangan makanan.



Gambar 2.8 Struktur dinding sel *S. cerevisiae*
(<http://www.pasteur.fr>, 2011)

2.5.1 Pertumbuhan Ragi

Pertumbuhan ragi dibagi menjadi empat fase, yaitu : fase lambat (*lag phase*), fase logaritmik (*log phase*), fase tetap (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*).

1. Fase lambat (*lag phase*)

Fase ini bergantung pada perubahan lingkungan terutama dari perubahan kandungan nutrisi. Selama fase ini, sel-sel berkembang namun tidak terjadi pembelahan sel atau perubahan jumlah sel.

2. Fase cepat (*log phase*)

Pada fase ini terjadi pembelahan sel dan populasi berlipat ganda setiap waktu generasi. Sel akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial hingga jumlah maksimum. Jumlah sel yang terbentuk pada fase ini dipengaruhi beberapa faktor, antara lain, kandungan sumber nutrisi, temperatur, kadar oksigen, cahaya dan keberadaan mikroorganisme lain.

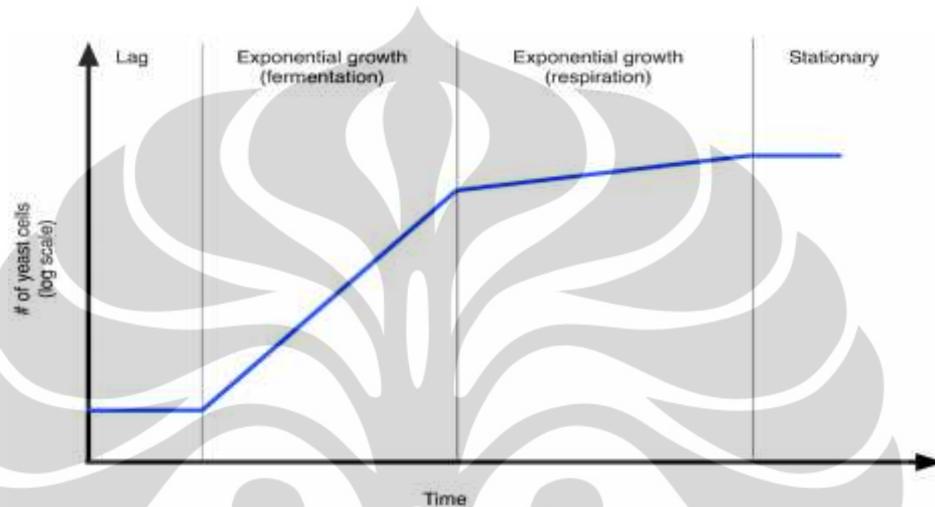
3. Fase stasioner (*stationary phase*)

Pada fase ini, laju pembelahan sel sebanding dengan laju kematian sel sehingga jumlah sel hidup tetap konstan. Fase ini terjadi akibat pengurangan sumber-sumber nutrisi atau penimbunan zat racun akhir metabolisme.

4. Fase kematian (*death phase*)

Pada fase ini tidak ada lagi pembelahan sel dan sel sel akan mati jika tidak dipindahkan ke media segar lainnya. Fase kematian juga terjadi secara eksponensial.

Fase kehidupan ragi dalam substrat nutrisi jika digambarkan akan terlihat seperti berikut.



Gambar 2.9 Fase kehidupan ragi
(<http://nirfriedmanlab.blogspot.com>, 2011)

2.5.2. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Ragi

Ada berbagai faktor yang mempengaruhi pertumbuhan jamur dan ragi yaitu :

1. Nutrisi

Dalam pertumbuhannya, mikroba memerlukan nutrisi. Nutrien yang dibutuhkan digolongkan menjadi dua yaitu nutrisi makro dan nutrisi mikro. Nutrien makro meliputi unsur C, N, dan P. Unsur C didapat dari substrat yang mengandung karbohidrat, unsur N dan P didapat dari protein (Halimatuddahlia, 2003). Unsur mikro meliputi vitamin dan mineral-mineral lain yang disebut *trace element* seperti Ca, Mg, Na, S, Cl, Fe, Mn, Cu, Co, Bo, Zn, Mo, dan Al (Jutono, 1972).

2. Keasaman (pH)

Untuk fermentasi alkohol, ragi memerlukan media dengan suasana asam yaitu antara 4,8 – 6,0. Pengaturan pH dapat dilakukan

dengan penambahan asam encer bila substrat fermentasinya bersifat alkalis dan penambahan natrium bikarbonat jika substratnya terlalu asam.

3. Suhu

Mikroorganisme mempunyai temperatur maksimal, optimal, dan minimal untuk pertumbuhannya. Temperatur optimal untuk khamir berkisar antara 25-30°C dan temperatur maksimal antara 35-47°C. Beberapa jenis khamir dapat hidup pada suhu 0°C. Temperatur selama fermentasi perlu mendapatkan perhatian, karena di samping temperatur mempunyai efek yang langsung terhadap pertumbuhan khamir juga mempengaruhi komposisi produk akhir, karena pada temperatur yang terlalu tinggi atau terlalu rendah akan menonaktifkan khamir. Selama proses fermentasi akan terjadi pembebasan panas sehingga akan lebih baik apabila pada tangki fermentasi dilengkapi dengan unit pendingin (Fardias, 1988).

4. Oksigen

Berdasarkan kemampuannya untuk mempergunakan oksigen bebas, mikroorganisme dapat diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu: aerob apabila untuk pertumbuhannya mikroorganisme memerlukan oksigen; anaerob apabila mikroorganisme akan tumbuh dengan baik pada keadaan tanpa oksigen, dan fakultatif apabila dapat tumbuh dengan baik pada keadaan ada oksigen bebas maupun tidak ada oksigen bebas. Sebagian besar khamir merupakan mikroorganisme aerob. Khamir dari kultur aerob akan menghasilkan alkohol dalam jumlah yang lebih besar jika diaerasi apabila dibandingkan dengan khamir yang tanpa aerasi. Akan tetapi efek ini tergantung khamir yang dipergunakan (Fardias, 1988).

2.6 Beta glukon

Beta glukon adalah turunan polisakarida alami yang tersusun dari monomer glukosa dengan ikatan β -glikosida (Ha, et.al, 2002). Beta glukon banyak ditemukan pada gandum, alga, khamir dan bakteri. Penelitian mengenai beta glukon sudah cukup banyak dilakukan dalam rangka

melakukan isolasi, dan menguji aktivitasnya untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan manusia. Diawali pada tahun 1940an, penelitian mengenai Zymosan -obat yang beredar di Eropa- sebuah imunostimulator yang diekstrak dari dinding sel khamir yang mengandung lipid, protein dan polisakarida, ternyata mengandung efek negatif bagi kesehatan namun memiliki respon yang baik terhadap penyerangan mikroorganisme patogen seperti virus, bakteri, fungi, parasit dan sel tumor (www.betaglucan.org, 2011).

Dari terobosan inilah, kemudian penelitian mengenai beta glukon berkembang dimana-mana untuk pengembangan ilmu pengetahuan (Mason, 2001). Penelitian paling mutakhir dari β -glukan yaitu melihat pengaruh konsumsi beta glukon terhadap penanganan kesehatan seperti penelitian dari Vetvicka (2010) yang menulis tentang glukon sebagai imunostimulan, adjuvant dan obat potensial. Asrsaether (2006) menulis bahwa β -glukan mampu mengatasi penyakit jantung koroner dan mengurangi resiko alergi akibat mengkonsumsi obat-obatan lain. Selain penelitian mengenai senyawa aktif, isolasi beta glukon juga merupakan topik menarik yang dibahas dalam banyak jurnal. Asadi (2001) melakukan isolasi beta glukon dari menggunakan sonikasi untuk memecah sel *yeast*, melakukan ekstraksi basa dan menggunakan kolom kromatografi untuk memurnikan beta glukon, sementara Asif Ahmad (2009) mengisolasi beta glukon yang terdapat dalam oat serta meneliti interaksinya dengan glukosa dan protein. Beberapa galur jamur bakteri pun diteliti karena tingginya beta glukon yang berada di dinding sel.

Menurut Cheeseman dan Malcom (2000), Sifat fisika dan kimia yang dimiliki senyawa β -glukan yaitu :

- Di alam, berupa senyawa berwarna putih berupa gumpalan besar dan tidak berbentuk kristal
- Tidak mempunyai rasa manis
- Tidak larut dalam air netral dan dapat dipisahkan dengan mudah dalam larutan alkali
- Bila dicampur dengan air maka akan membentuk larutan koloid

- Berbentuk gel pada suhu 54°C

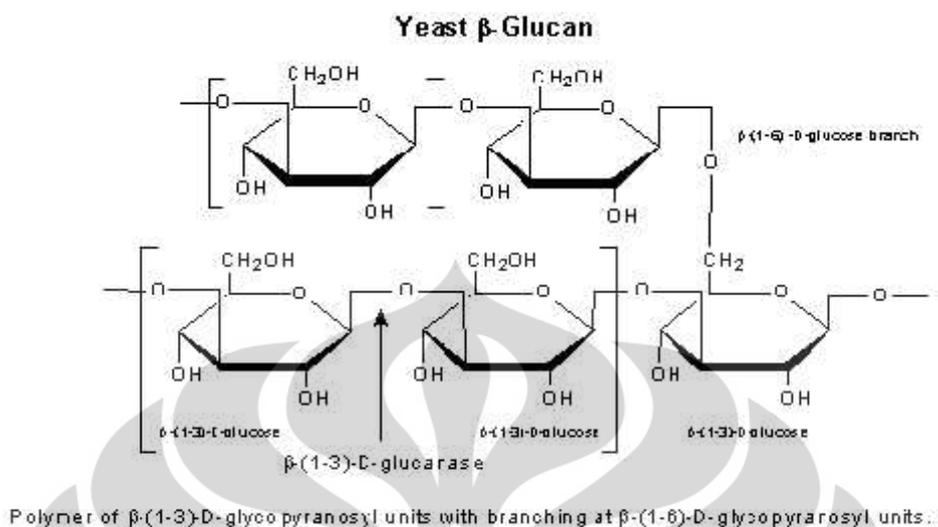
Dua kegunaan β -glukan utama yaitu untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menurunkan kadar kolesterol. Beta glukan diketahui mampu melakukan stimulasi makrofag atau leukosit yang berperan penting sebagai pertahanan awal pemeliharaan awal sistem kekebalan tubuh. Beta glukan membantu makrofag menjadi lebih siap untuk menyerang benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Makrofag terdapat pada seluruh jaringan, organ, darah, dan urat yang digolongkan sebagai pagosit yang membinasakan, menghancurkan dan menyingkirkan partikel asing dalam sel imun.

Beberapa sifat beta glukan menguntungkan bagi kesehatan karena merupakan bahan yang alami, tidak beracun, tidak memiliki efek samping yang merugikan, membantu regenerasi dan memperbaiki jaringan, mengaktifasi dan memperkuat sistem kekebalan, serta mempertinggi keefektifan obat antibiotik dan antiviral (Yenti, 2005). Dalam industri farmasi, beta glukan dapat berfungsi untuk anti infeksi, mengobati luka luar, anti tumor, anti oksidan, dan menurunkan kadar gula darah karena meningkatkan produksi insulin (Hendra, 2005).

Polimer glukan ini merupakan serat yang tidak dapat dicerna, karena manusia tidak memiliki enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β -glikosidik. Serat-serat yang tidak larut ini tidak dapat dimetabolisme pada saluran pencernaan sehingga bermanfaat dalam diet yang berfungsi mengurangi kegemukan (Yenti, 2005).

Beta glukan merupakan imunostimultan yang berasal dari dinding sel khamir *S. cerevisiae* atau dinding sel tanaman tinggi yang memiliki berat molekul tinggi dan bercabang-cabang dan mengandung lebih dari 250.000 glukosa (Robinson, 1995). β -1,3-glukan memiliki derajat polimerisasi sebesar 1500 dengan berat molekul 240.000 dan panjang serat sekitar 660nm. (Lipke dan Ovalle, 1998). β -glukan yang berasal dari dinding sel khamir memiliki struktur dengan ikatan 1,3 dan 1,6 glukan, sedangkan pada gandum mengandung ikatan β -1,3 dan 1,4 glukan.

Rumus kimia untuk beta glukon yaitu $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan struktur kimia sebagai berikut :



Gambar 2.10. Polimer dari beta glukon
(<http://www.sigmaaldrich.com>, 2011)

2.6.1 Proses Produksi

Untuk memproduksi beta glukon dari mikroba, perlu diperhatikan beberapa hal yang dapat mempengaruhi produk yang dihasilkan. Hal-hal yang harus diperhatikan diantaranya, yaitu pemilihan galur mikroba, nutrisi dan proses produksi.

a. Galur mikroba

Mikroorganisme adalah kunci keberhasilan dari suatu fermentasi. mikroorganisme harus memiliki beberapa keunggulan yang diperlukan untuk berhasilnya suatu proses biologis (Gumbira, 1987). Ciri-ciri yang perlu dimiliki oleh mikroorganisme yang unggul adalah :

- Galur tersebut berupa kultur yang murni dan bebas dari mikroorganisme lainnya.
- Secara genetik harus stabil
- Galur tersebut harus mampu tumbuh dengan cepat. sesaat setelah diinokulasi pada tangki pembibitan atau wadah lain yang dijadikan reaktor.

- Galur tersebut dapat menghasilkan produk yang diinginkan dalam jangka waktu yang pendek.
- Jika memungkinkan, galur mikroba tersebut hendaknya mampu melindungi dirinya sendiri dari kontaminasi dengan cara menyesuaikan diri dengan lingkungan.
- Galur tersebut mampu memproduksi produk yang diinginkan tanpa menghasilkan produk lain yang bersifat beracun.

b. Nutrisi

Semua makhluk hidup mempunyai persyaratan yang sama dalam hal pemenuhan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan. Semua makhluk hidup membutuhkan sumber energi, sumber karbon, nitrogen, unsur logam, vitamin dan air. Komposisi nutrisi mempengaruhi hasil metabolisme dari mikroorganisme. Pemilihan media yang baik sama pentingnya dengan pemilihan mikroorganisme yang digunakan untuk menghasilkan produk yang dikehendaki. Beberapa faktor yang mempengaruhi pemilihan media adalah tersedia dan mudah didapat, sifat proses biologi, dan faktor harga (Margaretha dkk, 1997).

a. Sumber Karbon (Priest, 1996)

Khamir akan tumbuh pada media yang mengandung karbohidrat atau sumber energi, nitrogen yang cukup untuk sintesis protein, garam mineral, dan faktor lain yang mendukung pertumbuhan. Pada umumnya oksigen harus tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme, tetapi pada *S. cerevisiae* tidak selalu diperlukan kebutuhan akan oksigen (Macy dan Miller, 1983). Sumber karbon yang digunakan dapat berupa monosakarida seperti glukosa, manosa, fruktosa, galaktosa dan gula pentosa (Wang, dkk, 1980).

Disakarida seperti sukrosa dan maltosa juga dapat difermentasi oleh khamir *S. cerevisiae*. Trisakarida seperti maltotriosa dan rafinosa juga difermentasikan oleh khamir

meskipun pada beberapa galur hanya dapat menghidrolisis rafinosa sebagian.

b. Sumber Nitrogen

Sebagian besar mikroba yang digunakan dalam industri fermentasi dapat menggunakan senyawa anorganik maupun senyawa organik sebagai sumber nitrogen. Sumber nitrogen anorganik antara lain gas ammonia, garam amonium kecuali nitrat. Sedangkan asam amino, protein, dan urea merupakan sumber nitrogen organik. Fungsi nitrogen dalam sel adalah mengatur keseimbangan asam basa, mempercepat proses penyembuhan, sebagai pembentukan enzim, menyusun 50% berat kering organisme berupa makromolekul, dan sebagai sumber energi (Kusmiati, dkk, 2007).

Dari penelitian sebelumnya, didapatkan kesimpulan bahwa sumber nitrogen yang paling baik untuk pertumbuhan *yeast* adalah pepton. Pepton merupakan turunan protein yang larut dalam air dan dihasilkan dari hidrolisis parsial protein. Biasanya pepton digunakan sebagai media kultur di biologi. Kandungan nitrogen dalam pepton berkisar kurang lebih 10% (Kusmiati, 2007).

2.6.2 Faktor –faktor penentu produksi

Berhasilnya suatu fermentasi tergantung pada kondisi lingkungan yang ditentukan untuk pertumbuhan sel dan pembentukan produk. Suhu, pH, tingkat agitasi, konsentrasi oksigen terlarut dan faktor-faktor lainnya harus dipertahankan konstan selama fermentasi berlangsung. Pengamatan selama proses fermentasi berlangsung memberikan beberapa informasi penting antara lain waktu yang tepat untuk pemanenan hasil dan apakah fermentasi berlangsung secara tidak normal yang merupakan petunjuk adanya kontaminasi dan degenerasi galur. Parameter fermentasi dapat digolongkan ke dalam dua kelompok, yaitu parameter yang berhubungan dengan lingkungan fisik dan kimia. Parameter lingkungan fisik meliputi suhu, tekanan, buih, laju aliran gas dan cairan, viskositas, kekeruhan dan

parameter yang berhubungan dengan lingkungan kimia seperti pH, potensial redoks, O₂ dan CO₂ terlarut, O₂ dan CO₂ yang keluar, serta konsentrasi komponen-komponen dalam medium.

2.7 Penelitian sebelumnya (*State of the Art*)

Tabel 2.2 Penelitian sebelumnya

Pengarang (Tahun)	Judul Penelitian	Metode Penelitian
Lipke, PN, R. Ovalle (1998)	<i>Cell Wall Architecture in Yeast : New structure and new challenges of bacteriology</i> . 180 (15) : 3735-3740.	Merupakan jurnal yang berisi penelitian tentang penyusun dinding sel dari <i>yeast</i> . Dari penelitian ini diketahui bahwa dinding sel <i>yeast</i> bobotnya 30% dari jumlah sel secara keseluruhan dan penyusun dinding sel berupa mannoprotein, beta glukukan dengan ikatan (1,3) dan (1,6), serta kitin.
C. Ha, K. Lim, Y. Kim, S. Lim, C. Kim, H. Chang (2002)	Analysis of alkali-soluble glucan produced by <i>Saccharomyces cerevisiae</i> wild-type and mutants.	Untuk memproduksi glukukan ikatan (1,6)-D-glikosidik, tipe khamir liar dijadikan mutan terlebih dahulu dengan sinar ultraviolet. Glukan yang larut dalam alkali kemudian diekstrak menggunakan metode <i>Cetavlon concanavalin-A chromatography</i> . Hasil ekstraksi dari khamir mutan kemudian dibandingkan dengan tipe liar menggunakan GC, NMR, HPLC, dan <i>multi angle laser light scattering - refractive index detector</i> . Hasilnya diketahui bahwa beta glukukan khamir mutan 10x lebih mudah larut dalam alkali dibandingkan tipe liar.
K.W. Hunter Jr, R.A. Gault and M.D. Berner (2002)	Preparation of microparticulate b-glucan from <i>Saccharomyces cerevisiae</i> for use in immune potentiation	<i>S. cerevisiae</i> yang ditumbuhkan dalam media YPG dibuat sebagai partikel mikro dengan mengkombinasikan sonikasi dan <i>spray drying</i> . Sel khamir yang pecah akan menghasilkan partikel betaglukan yang larut dalam air dan lalu diujikan secara oral terhadap tikus untuk melihat pengaruh imunostimultan. Hasilnya sonikasi dan <i>spray drying</i> memberikan pengaruh lebih baik daripada dalam bentuk sel kasar untuk meningkatkan sistem imun tikus
Ojokoh A.O. dan R.E. Uzeh	Production of <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Produksi <i>S.cerevisiae</i> biasanya menggunakan medium YPG sebagai

(2005)p	biomass in papaya extract medium	sumber nutrisi. Untuk mengganti kebutuhan glukosa sebagai sumber karbon <i>yeast</i> , digunakan medium ekstrak pepaya. Pertumbuhan <i>yeast</i> paling tinggi berada pada medium ekstrak pepaya dengan konsentrasi tertinggi. Beta glukon hasil produksi dihitung sebagai bobot sel kering kasar.
Kusmiati, dkk (2007)	Produksi β -Glukan <i>Saccharomyces cereviciae</i> dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada <i>Air-Lift Fermentor</i>	<i>Fermentor air lift</i> memiliki transfer panas yang baik, dan memiliki efisiensi absorpsi gas yang tinggi. Tidak menggunakan agitasi agar tidak merusak sel. Sumber nitrogen divariasikan antara pepton, as. glutamat, urea dan DAHP. Hasilnya, pepton merupakan sumber terbaik dan diikuti oleh urea yang memiliki harga lebih ekonomis namun memiliki performa yang hampir sama.
Hojjatollah Shokri, Farzad Asadi dan Ali Reza Khosravi (2008)	Isolation of β -glucan from the cell wall of <i>Saccharomyces cereviciae</i>	Penelitian ini merupakan penelitian untuk mengisolasi beta glukon dari khamir. Sel khamir pertama-tama ditumbuhkan dalam media optimal YPG, kemudian dipanen dan dihancurkan dinding selnya menggunakan sonikasi. Selanjutnya dilakukan ekstraksi asam-basa untuk menarik beta glukon yang masih mengandung protein. Lalu, dilakukan purifikasi menggunakan kolom kromatografi untuk menghilangkan protein dan mannan, hingga didapatkan beta glukon murni
Laras Cempaka (2010)	Effect Of Glucose Concentration And Speed Of Agitation On The Production Of β -Glucan By <i>Saccharomyces cereviciae</i> Under Submerged Fermentation	Penelitian ini memvariasikan konsentrasi glukosa medium pertumbuhan dan kecepatan agitasi. Hasilnya, semakin tinggi glukosa dan semakin cepat agitasi akan meningkatkan hasil beta glukon. Metode fermentasi yang digunakan adalah <i>submerged fermentation</i> .
Fita Sefriana, Misri Gozan. Yemirta (2012)	Pengaruh Jumlah Nitrogen dan Hidrolisis Enzimatis terhadap Produksi Beta Glukan dari <i>S. cereviciae</i> dengan Medium Onggok Ubi Kayu dan Onggok Umbi Garut	Dilakukan penelitian untuk mendapatkan jumlah enzim optimal untuk hidrolisis dan jumlah pepton optimal untuk perkembangbiakan khamir. Adapun <i>S. cereviciae</i> yang digunakan adalah tipe mutan.

BAB 3

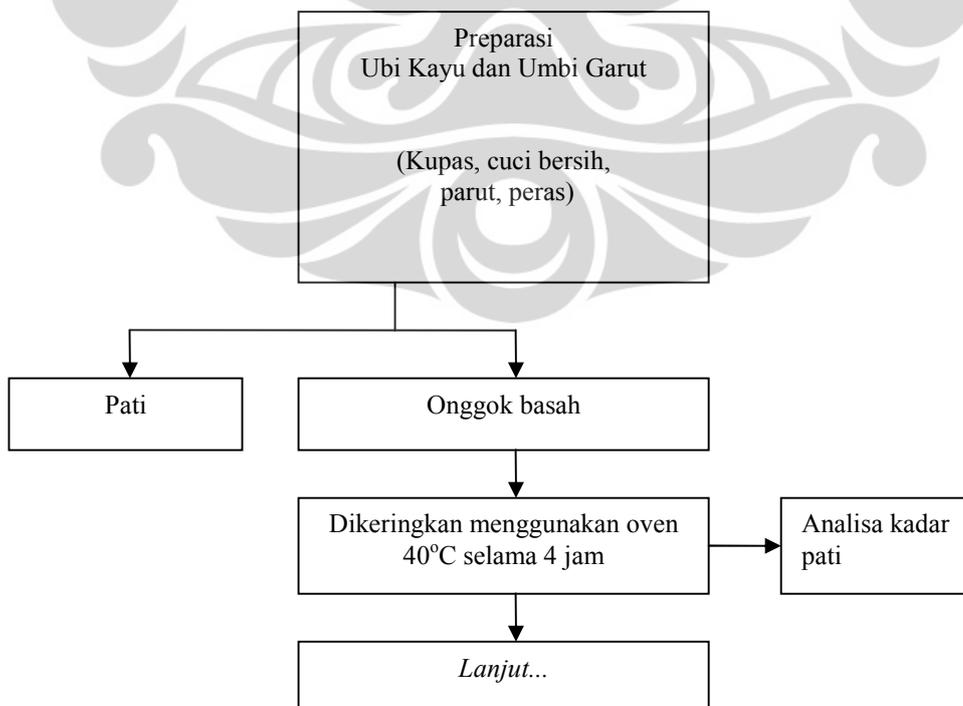
METODE PENELITIAN

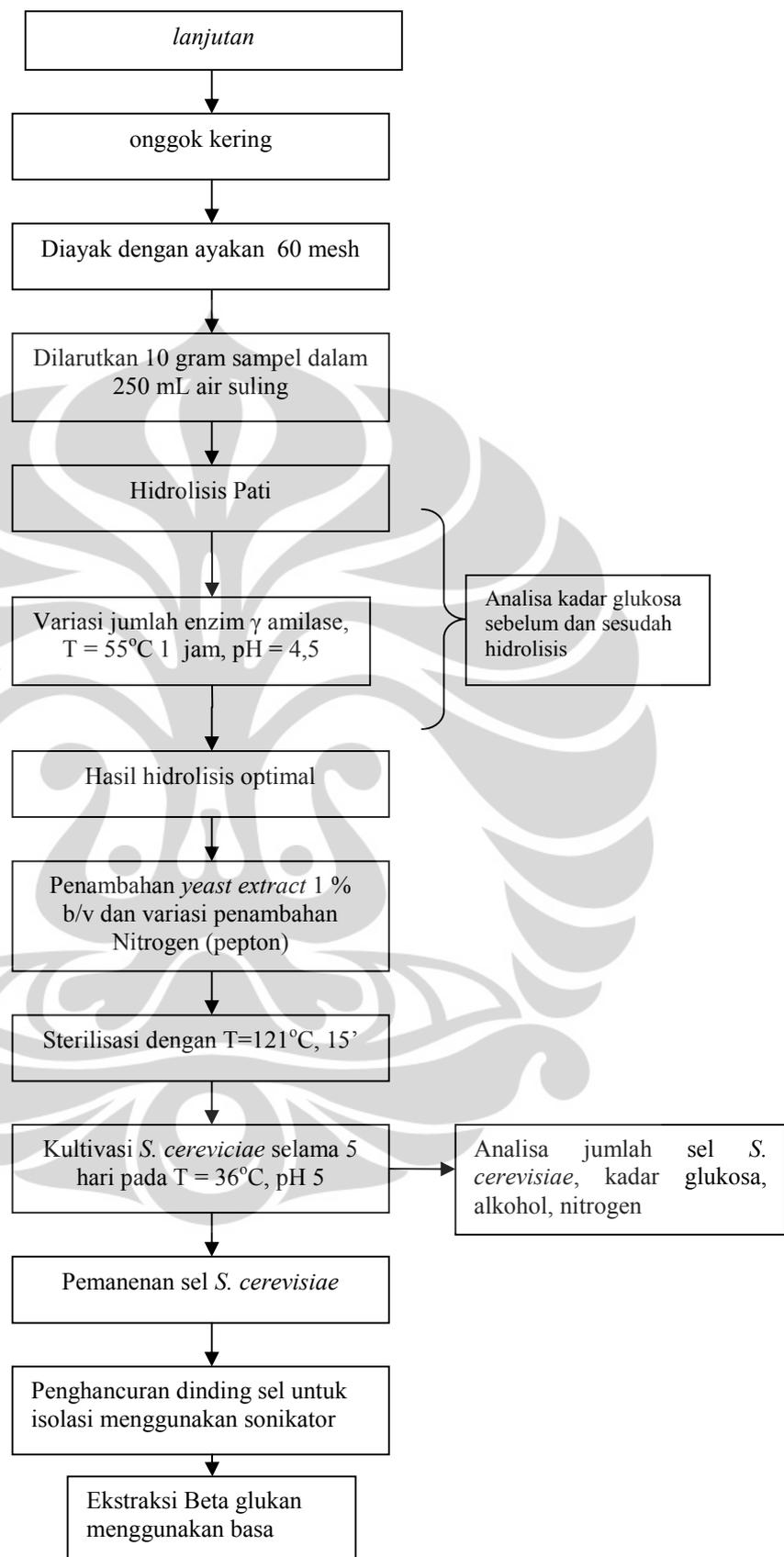
3.1. Tahapan Penelitian

Topik dari penelitian ini adalah memproduksi senyawa beta glukukan dari *S. cerevisiae* menggunakan medium onggok ubi kayu dan onggok umbi garut. Proses penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia Aneka dan Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Kimia Kemasan, serta Laboratorium Afiliasi Departemen Kimia FMIPA UI yang berlangsung dari Bulan Desember 2011 sampai dengan bulan Juni 2012.

Secara garis besar, penelitian ini terbagi dalam beberapa tahapan, yaitu tahap preparasi sampel, hidrolisis pati dengan variasi temperatur dan enzim, kultivasi *yeast* dengan variasi sumber nitrogen, pemanenan hasil, penghancuran dinding sel menggunakan sonikator, serta analisa-analisa pendukung penelitian lainnya.

Adapun diagram alir proses penelitian ditunjukkan oleh Gambar 3.1 dibawah ini.





Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, oven, blender, piringan penguap, spatula, erlenmeyer, *aluminium foil*, plastik *wrap*, *hot plate stirrer*, *shaker*, lemari pendingin, *waterbath*, pipet, autoklaf, tabung *sentrifuge*, HPLC RID LC201343 Shimatzu, Spektrofotometer UV 2450 Shimatzu, GC FID 2010 Shimatzu dan peralatan lainnya.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *yeast extract*, *peptone broth*, enzim amiloglukosidase, sampel onggok singkong dan onggok umbi garut, standar β glukana, standar etanol, standar biuret, biakan *S. cerevisiae* dan bahan kimia penunjang lainnya.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Preparasi Contoh

Contoh ubi kayu dan umbi garut yang akan diteliti dikupas terlebih dahulu dan dicuci hingga bersih. Setelah bersih, ubi kemudian diparut sampai diperoleh bubur umbi. Hasil parutan kemudian peras dan disaring untuk diambil patinya, sementara ampasnya disisihkan untuk penelitian. Onggok umbi kayu dan umbi garut selanjutnya dioven pada suhu 40°C sampai kering. Setelah itu, onggok kering kemudian dihancurkan kembali dan diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 60 mesh agar didapatkan kondisi sampel yang homogen.

3.3.2 Hidrolisis pati

Ditimbang contoh onggok kering sebanyak 10 gram dan dilarutkan dengan 250 mL air. Onggok kering yang masih banyak memiliki pati tersebut harus digelatinasi dahulu dengan pemanasan pada suhu 110°C selama 60 menit. Hasil proses gelatinasi di hidrolisis dengan penambahan enzim amiloglukosidase pada temperatur operasi 55°C dan pH 4,5 dengan variasi 50,0 mg, 52,5 mg, 55,0 mg, 57,5 mg, 60,0 mg, 62,5 mg, dan 65,0 mg

(untuk 40000, 42000, 46000, 48000, 50000, dan 52000 μmol glukosa) selama 1 jam. Sebelum dan setelah dilakukan hidrolisis, sampel dianalisa kandungan glukosanya sehingga didapatkan komposisi penambahan enzim amiloglukosidase paling optimal.

Perhitungan teoritis kebutuhan enzim amiloglukosidase untuk menghidrolisis pati dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.3 Penentuan kebutuhan nitrogen optimal

1) Pembuatan inokulum *S. cerevisiae*

Kultur *Saccharomyces cerevisiae* isolat diremajakan di cawan petri dalam media YPG padat dengan komposisi pepton 2%, *yeast extract* 1%, glukosa 2%, dan agar 2%, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Sebanyak satu koloni biakan yang tumbuh dipindahkan ke media agar miring YPG, lalu diinkubasi selama 48 jam. Satu ose kultur segar ditumbuhkan ke media YPG cair sebanyak 4 mL sebagai pra-kultur, kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan kecepatan 150 RPM dengan suhu kamar.

2) Produksi *S. cerevisiae*

Pra-kultur yang sudah diinkubasi dimasukkan ke dalam 100 mL media YP produksi β -glukan yang berisi onggok hasil hidrolisis dengan komposisi enzim optimal, kemudian diinkubasi dengan kecepatan 150 RPM dengan suhu 36°C selama 3 hari untuk menghasilkan kultur sel. Pepton yang ditambahkan divariasikan jumlahnya sebanyak 3,985 g ; 4,269 g ; 4,544 g ; 4,754 g ; 5,124 g untuk mengetahui pengaruh jumlah nitrogen terhadap pertumbuhan sel. Setelah 3 hari, sel dipanen dengan cara disentrifugasi pada 5000 RPM, pada suhu 15°C selama 10 menit.

Selama proses inkubasi, diambil data pertumbuhan sel, kadar alkohol yang terbentuk, penurunan kadar nitrogen, serta kadar glukosa sdalam medium.

Variasi jumlah pepton (nitogen) ditentukan dari banyaknya glukosa hasil hidrolisis pati. Adapun perhitungan teoritis kebutuhan nitrogen, dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.3.4 Penghancuran dinding sel

100 mL sel hasil panen disentrifuse terlebih dahulu selama 10 menit dengan kecepatan 4000 RPM pada suhu 15°C. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang, dan padatnya dilarutkan dalam Buffer Natrium Fosfat pH 7,2 atau NaOH 2% dan disonikasi pada suhu rendah sekitar 4°C. Sonikasi dilakukan selama 10 menit. Setelah itu sampel disentrifugasi ulang dan diukur kadar beta glukon menggunakan HPLC.

3.3.5 Ekstraksi beta glukon

Sebanyak 30 mL kultur disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 7000 RPM dan suhu 15°C. Supernatan dibuang dan biomassa ditambahkan NaOH 2% lalu dipanaskan selama 5 jam pada suhu 90°C. Hasil pemanasan kemudian disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 5000 RPM. Supernatan yang didapat ditambahkan dengan asam asetat 2M untuk mengatur pH menjadi sekitar 6,8-7,0 lalu dipresipitasi dengan penambahan etanol. Setelah dipresipirasi, dilakukan sentrifugasi lagi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 RPM. Endapan yang didapat dikeringkan dalam oven vakum dan ditimbang beratnya.

3.3.6 Analisa Pendukung

1) Analisa Beta Glukan

Analisa kandungan beta glukon dalam sampel dilakukan dengan menggunakan HPLC setelah dinding sel dirusak menggunakan sonikator. HPLC menggunakan detektor RID 10A, suhu kolom 80°C, laju alir fasa gerak 1 mL/menit dengan pelarut aquabides.

2) Analisa Glukosa

Analisa glukosa dalam sampel dilakukan dengan menggunakan HPLC. Pertumbuhan *S. cerevisiae* diamati dengan melakukan pengambilan sampel setiap 3 jam selama 12 jam, kemudian setiap 6 jam hingga jam ke 48, dan setiap 12 jam hingga jam ke 72. Detektor yang digunakan adalah RID 10A. suhu kolom 80°C, laju alir fasa gerak 1 mL/menit dengan pelarut aquabides.

3) Pengukuran pertumbuhan sel.

Pengukuran pertumbuhan sel dilakukan dengan menumbuhkan biakan pada *Malt Extract Agar* dan diinkubasikan pada suhu 36°C selama 48 jam. Dilakukan pengenceran sampai ke pengenceran kedelapan untuk setiap sampel. Medium pengencer yang digunakan adalah *Buffered Peptone Water*.

4) Analisa Protein (metode Biuret)

125 mL contoh uji dipipet kedalam labu ukur 100 mL dan dipanaskan dengan suhu 70°C selama setengah agar larut. Netralkan pH menggunakan H₂SO₄ 0,05 M atau NaOH 0,05 M dengan indikator MM. Tambahkan 20 mL larutan Kalium Natrium Tartrat dan 20mL CuSO₄ lalu ditepatkan dengan tanda batas menggunakan air suling. Setelah homogen, absorbansi dibaca menggunakan Spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 555 nm.

Larutan Kalium Natrium Tartrat dibuat dengan melarutkan 40 g NaOH dan 50 g Kalium Tartrat dalam air suling 1000 mL.

Larutan CuSO₄ dibuat dengan melarutkan 15 g CuSO₄.5H₂O kedalam 1000 mL air suling bebas CO₂.

Standar Biuret dibuat dengan merekristalisasi biuret terlebih dahulu. 10 gram biuret dilarutkan dalam 1000 mL etanol absolut, kemudian dipekatkan agar tinggal tersisa 250 mL dengan cara memanaskannya. Dinginkan larutan dalam suhu 5°C kemudian saring. Lakukan pencucian menggunakan alkohol selama dua kali. Hasil rekristalisasi dikeringkan dalam oven dengan suhu 105-110°C selama 1 jam

5) Analisa Etanol

Uji etanol dilakukan menggunakan alat GC dan detektor FID. Suhu *injector* 200°C, suhu kolom 80°C, laju alir 5 mL/menit dengan gas nitrogen sebagai *carrier*.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah enzim optimal untuk menghidrolisis pati yang masih terkandung dalam sampel onggok ubi kayu dan onggok umbi garut yang akan digunakan sebagai sumber karbon dalam media produksi *S. cerevisiae*. Selanjutnya, penelitian ini akan mengetahui jumlah pepton optimal yang akan digunakan sebagai sumber nitrogen dalam media produksi *S. cerevisiae*. Pembahasan dari setiap tujuan tersebut akan dijelaskan dalam sub bab yang berbeda. Data-data yang dalam bab ini akan ditampilkan dalam bentuk grafik dan tabel hasil olahan untuk memudahkan memahami fenomena yang terjadi dan memudahkan dalam hal pembahasan. Data asli dari setiap percobaan disertakan dalam lampiran.

Produksi beta glukon diawali dengan pemurnian galur. Berdasarkan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran sebesar 1000x, terlihat bentuk morfologi *S. cerevisiae* sebagai berikut :



Gambar 4.1 *S. cerevisiae* hasil perbesaran 1000x

S. cerevisiae memiliki bentuk sel seperti telur dan beberapa lainnya memanjang atau berbentuk bola (*European Bioinformatics Institute, 1996*). Ciri khasnya berbau roti dan koloninya agak berlendir. Dari hasil pewarnaan dapat dilihat bahwa *S. cerevisiae* yang digunakan berbentuk bola.

S. cerevisiae hasil pemurnian kemudian dijadikan mutan dengan cara dicuci dua kali dalam air steril, lalu diambil sebanyak 200 μL dari suspensi untuk disebar pada cawan petri dan dipapar sinar UV 50 J/m^2 . Cawan kemudian diinkubasi dalam gelap selama 24 jam untuk menghindari reaksi dengan cahaya.

(a) *S.cerevisiae* tanpa paparan UV(b) *S.cerevisiae* terpapar UV**Gambar 4.2** *S. cerevisiae* sebelum dan setelah paparan UV

Hasil inkubasi biakan sel *S. cerevisiae* yang dipapar sinar UV berbeda dengan biakan yang tidak dipapar sinar UV. Inkubasi biakan yang dipapar sinar UV menghasilkan beberapa koloni saja, sementara biakan yang tidak dipapar menghasilkan lebih dari 100 koloni. Hal ini dikarenakan 99% dari koloni biakan akan mati jika dipapar sinar UV dengan intensitas 50 J/ m^2 dan sisanya yang hidup merupakan *S. cerevisiae* termutasi (Lim, et. al, 2002). Kelebihan dari *S. cerevisiae* hasil mutasi adalah beta glukon yang terdapat dalam dinding selnya lebih mudah diekstraksi menggunakan basa.

4.1 Penentuan jumlah enzim optimal untuk hidrolisis onggok

Onggok merupakan limbah padat agro industri pembuatan tepung tapioka yang dapat dijadikan sebagai media fermentasi dan sekaligus sebagai pakan ternak. Onggok merupakan media potensial untuk memproduksi *S. cerevisiae* sebagai penghasil beta glukon karena masih mengandung pati dengan kadar cukup tinggi sehingga mampu menjadi sumber karbon bagi pertumbuhan *S. cerevisiae*. Akan tetapi, pati masih berupa polimer sehingga perlu disederhanakan menjadi gula sederhana agar dapat dikonsumsi oleh *S. cerevisiae*. Proses penyederhanaan molekul gula kompleks menjadi gula sederhana dinamakan hidrolisis. Dalam penelitian ini digunakan enzim amiloglukosidase sebagai enzim penghidrolisis ikatan pati tersebut.

Dibawah ini merupakan data kadar glukosa dan pati dari sampel umbi garut dan ubi kayu sebelum dilakukan hidrolisis.

Tabel 4. 1 Kadar glukosa ongkok umbi garut dan ubi kayu sebelum hidrolisis

Sampel	Kadar glukosa (%)	Kadar Pati (%)
Ongkok Garut	0.8749	80,92
Ongkok Ubi kayu	0.7584	79,67

Dari data tersebut terlihat bahwa sampel umbi garut dan ubi kayu sebelum hidrolisis hampir tidak mengandung glukosa. Sampel ongkok garut hanya mengandung glukosa sebesar 0,8749 % dan ongkok ubi kayu hanya mengandung 0,7584 % glukosa.

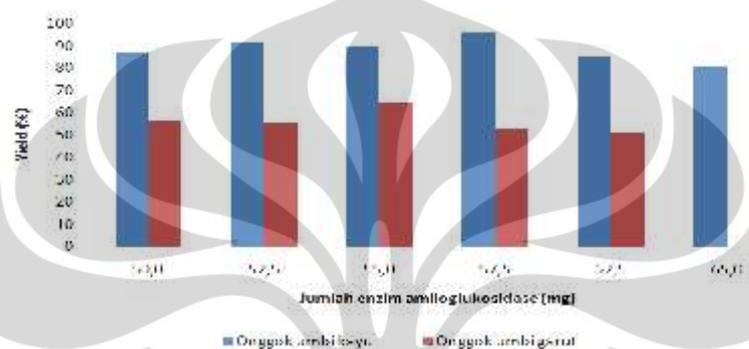
Banyaknya kebutuhan enzim yang diperlukan dalam hidrolisis diketahui dengan melakukan analisa terhadap kadar pati yang terkandung di dalam ongkok ubi kayu dan ongkok umbi garut. Tabel 4.2 menunjukkan bahwa kadar pati di dalam sampel masih sangat tinggi, yaitu berkisar pada angka 80% pada kedua sampel. Hal ini berbeda dengan literatur, dimana kadar pati yang masih terdapat pada umbi sekitar 45-65% (Susijahadi,dkk, 1997). Amilopektin yang terdapat dalam pati berkisar antara 17-21% (Ben, dkk, 2007). Hal ini dikarenakan sampel ongkok yang digunakan merupakan sampel sintetis yang dibuat di laboratorium sehingga pemisahan antara ongkok dengan pati kedua umbi kurang sempurna dan menyebabkan kadar pati berada pada kisaran 80%. Namun demikian kadar pati 80% ini ditetapkan sebagai basis perhitungan secara konsisten untuk setiap proses.

Berdasarkan data pati tersebut, dalam penelitian ini dilakukan variasi penambahan enzim bagi kedua sampel sumber karbon sesuai perhitungan pada Lampiran 1. Dengan basis 10 gram sampel, dilakukan variasi penambahan enzim sebanyak 50,0 mg; 52,5mg; 55,0 mg; 57,5 mg; 60,0 mg; 62,5 mg; dan 70,0 mg berturut-turut.

Adapun tujuan dilakukannya variasi penambahan enzim ini adalah melihat kebutuhan enzim optimal yang diperlukan untuk menghidrolisis pati dalam sampel umbi garut dan ubi kayu menjadi glukosa dengan basis 10

gram bobot kering sampel onggok. Hidrolisis dilakukan sesuai kondisi operasi enzim amiloglukosidase yang bekerja pada pH 4,5 dan suhu 55°C.

Grafik hasil hidrolisis dipresentasikan dalam bentuk kurva hubungan antara variasi enzim dengan *yield* glukosa. *Yield* yang dimaksud merupakan persentase jumlah sampel yang terkonversi menjadi glukosa sehingga mampu digunakan oleh *S. cereviciae* menjadi sumber karbon dalam metabolisme pencernaannya.



Gambar 4.3 Hidrolisis onggok dengan variasi jumlah enzim amiloglukosidase

Kurva ideal dari proses hidrolisis secara enzimatik seharusnya memiliki kecenderungan naik berbanding lurus dengan jumlah enzim yang ditambahkan. Setelah dilakukan penambahan enzim hingga mencapai batas optimal, kurva akan berhenti naik dan membentuk garis datar. Kondisi tersebut tidak terjadi di dalam penelitian ini. Dari Gambar 4.2, dapat dilihat bahwa kecenderungan hidrolisis pati menjadi glukosa berbanding lurus dengan banyaknya penambahan enzim, namun menurun setelah mencapai titik optimal.

Untuk onggok ubi kayu, konversi sampel menjadi glukosa akan semakin tinggi dengan semakin banyaknya enzim yang ditambahkan. Konversi paling besar terjadi saat penggunaan enzim sebesar 57,5 mg yang setara dengan 46000 unit enzim. Hasil konversi sampel onggok sebesar 95,93%. Dengan penambahan enzim lebih dari 57,5 mg, grafik konversi mengalami penurunan secara fluktuatif yang menunjukkan kinerja enzim tidak lagi maksimal jika ditambahkan lebih banyak lagi. Hasil paling rendah

terjadi pada penggunaan enzim sebanyak 62,5mg dimana konversi yang dihasilkan hanya sebesar 81,6 %.

Sementara untuk sampel onggok garut, konversi paling besar terjadi saat penggunaan enzim sebesar 50 mg yang setara dengan 46000 unit enzim, yaitu 64,7 %. Penurunan konversi terjadi saat enzim yang ditambahkan lebih dari 50 mg secara bertahap. Semakin banyak enzim yang ditambahkan, semakin kecil pula konversi yang terjadi. Konversi paling rendah terjadi pada penggunaan enzim sebanyak 60 mg dimana hasil konversi hanya sebesar 51,09 %. Penggunaan enzim yang menghasilkan konversi paling tinggi akan dibuat sebagai basis kebutuhan enzim optimal yang diperlukan untuk menghidrolisis sampel.

Hasil hidrolisis onggok ubi kayu menjadi glukosa menggunakan enzim amiloglukosidase lebih tinggi dibandingkan dengan hidrolisis onggok garut. Hal ini dikarenakan onggok garut mengandung lebih banyak selulosa dibandingkan dengan onggok ubi kayu sehingga memberikan hasil hidrolisis yang berbeda. Kadar selulosa pada onggok ubi kayu sebesar 10%-20% sedangkan kadar selulosa pada onggok umbi garut sebesar 20%-40% (Ginting, 2008). Adapun bentuk kurva yang tidak sesuai dengan pola hidrolisis pada umumnya kemungkinan besar disebabkan oleh faktor ketidakhomogenan sampel dan proses pengadukan saat hidrolisis sehingga menyebabkan konversi yang terjadi tidak maksimal. Secara keseluruhan, hidrolisis berjalan dengan sangat baik dimana konversi yang dihasilkan diatas 80% untuk sampel onggok ubi kayu dan diatas 50% untuk sampel onggok garut.



(a) Onggok umbi garut



(b) Onggok ubi kayu

Gambar 4.4 Morfologi umbi garut dan onggok ubi kayu

4.2 Penentuan kadar nitrogen optimal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae*

Percobaan variasi nitrogen ini dilakukan untuk mengetahui jumlah pepton yang optimal sebagai sumber nitrogen dalam proses perkembangbiakan *S.cerevisiae*. Ukuran optimal penambahan nitrogen dilihat dari banyaknya sel *S. cerevisiae* yang tumbuh, konsumsi glukosa, konsumsi nitrogen dan produk fermentasi *S. cerevisiae* berupa etanol.

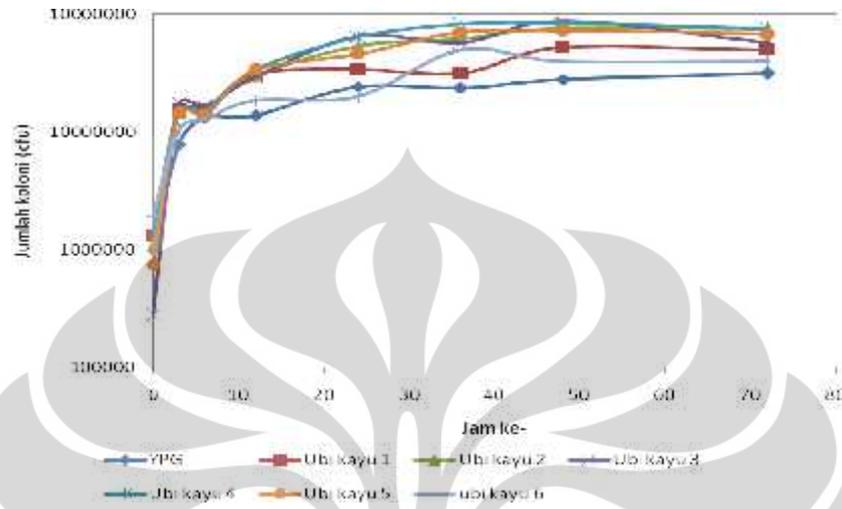
4.2.1 Pengaruh variasi nitrogen terhadap jumlah sel *S. cerevisiae*

Sampel onggok hasil hidrolisis optimal kemudian dilanjutkan sebagai sumber glukosa bagi media pertumbuhan *S.cerevisiae*. *S. cerevisiae* inilah yang menjadi penghasil beta glukon karena dinding selnya 40% tersusun dari beta glukon dengan ikatan β 1,3 glikosidik. Selain membutuhkan sumber karbon, *S. cerevisiae* dalam perkembangannya membutuhkan protein dan vitamin sebagai sumber nutrisinya (Lipke, 1998).

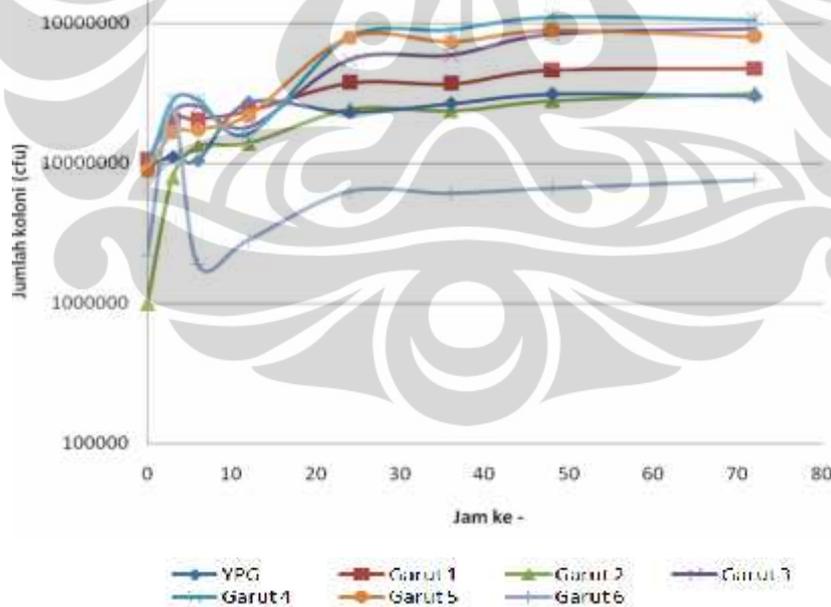
Dalam penelitian ini, sumber protein berasal dari pepton yang divariasikan jumlahnya, dan sumber vitamin berasal dari *yeast extract* sebanyak 2 % (b/v) dari volume total media cair fermentasi. Tujuannya adalah untuk mengetahui besarnya kebutuhan protein optimal yang dibutuhkan dalam perkembangbiakan dari khamir tersebut sehingga bisa memproduksi sel *S. cerevisiae* sebanyak mungkin dengan jumlah pepton sesedikit mungkin. Variasi penambahan jumlah pepton sesuai perhitungan pada Lampiran 2.

Larutan yang sudah berisi sumber nutrisi kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada kondisi $T = 121^{\circ}\text{C}$ dan $P = 1 \text{ atm}$ selama 20 menit. Setelah media dingin, diinkubasikan 5 mL biakan *S. cerevisiae* hasil *preculture* selama 24 jam. Media yang telah berisi nutrisi dan kultur *S.cerevisiae* kemudian difermentasi selama 72 jam dan disampling pada jam yang telah ditentukan. Dilakukan pula fermentasi terhadap media *yeast extract*:pepton:glukosa (YPG) dengan perbandingan 2%:1%:2% dan media onggok ditambah *yeast extract* tanpa menggunakan pepton yang berfungsi sebagai blanko/kontrol.

Pertumbuhan sel pada berbagai variasi pepton hasil fermentasi selama 72 jam kemudian dirangkum menjadi Gambar 4.5 dan 4.6 berikut ini.



Gambar 4.5 Kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* dalam media ongkok ubi kayu dengan variasi jumlah nitrogen



Gambar 4.6 Kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* dalam media ongkok garut dengan variasi jumlah nitrogen

Dalam kurva pertumbuhan sel *S. cereviciae* yang ditunjukkan pada Gambar 4.5 dan 4.6, terdapat dua tipe fase pertumbuhan, yaitu fase cepat (*log phase*) dan fase stasioner (*stationery phase*). Dari grafik diatas dapat dilihat kecenderungan semua grafik pertumbuhan sama, yaitu naik secara cepat lalu berkembang secara stasioner. Fase eksponensial (*log phase*) terjadi pada jam ke 0 hingga jam ke 24. Pada fase ini terjadi pembelahan sel dan populasi berlipat ganda setiap waktu generasi. Sel akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial hingga jumlah maksimum. Jumlah sel yang terbentuk pada fase ini dipengaruhi beberapa faktor, antara lain, kandungan sumber nutrisi, temperatur, kadar oksigen, cahaya dan keberadaan mikroorganisme lain (Husnil, 2009).

Setelah jam ke 24 pertumbuhan mikroba cenderung lebih stabil dan memasuki fasa stasioner. Kecenderungan kurva pertumbuhan pada jam ke 24 sampai jam ke 72 bertambah bertahap dan melandai membentuk garis datar. Pada fase ini, laju pembelahan sel sebanding dengan laju kematian sel sehingga jumlah sel hidup tetap konstan. Fase ini terjadi akibat pengurangan sumber-sumber nutrisi atau penimbunan zat racun akhir metabolisme.

Sebenarnya terdapat empat fase dari pertumbuhan ragi. Selain *log phase* dan *stationary phase*, terdapat *lag phase* dimana sel cenderung lambat tumbuh karena masih menyesuaikan keadaan dengan lingkungan dan nutrisinya. Fase lainnya adalah *death phase* dimana terjadi penurunan kurva pertumbuhan akibat telah habisnya sumber nutrisi yang ada pada media. Fase kematian ini berlangsung secara ekponensial. Dalam proses fermentasi yang dilakukan, tidak terdapat fase lambat pertumbuhan ragi. Hal ini dikarenakan *lag phase* sudah terjadi saat dilakukan *preculture* sebelum inokulum digunakan dalam penelitian. *Death phase* pun belum terjadi, dikarenakan sumber nutrisi masih sangat banyak sehingga memungkinkan untuk hidup lebih lama lagi.

Dari gambar 4.6 diatas, dapat dilihat bahwa kurva pertumbuhan *S. cereviciae* dalam media onggok ubi kayu mengikuti pola fase pertumbuhan ragi. Pengaruh variasi pepton pada kurva pertumbuhan tidak memberikan perbedaan yang signifikan, namun masih dapat teramati kurva optimalnya. *S.*

cereviciae paling tinggi dihasilkan oleh variasi keempat dimana penambahan peptonnya sebesar 4,7540 g dengan jumlah koloni sel $8,5 \times 10^7$ cfu. Akhir *log phase* dan awal dari *stationary phase* terjadi di jam ke 36. Pertumbuhan mikroba tertinggi terjadi pada jam ke 48 dan kemudian membentuk kurva datar. Variasi keenam yang merupakan media tanpa penambahan pepton menunjukkan kurva pertumbuhan mikroba paling rendah. Konsentrasi sel paling tinggi berada pada jam ke 36 dengan nilai koloni maksimal sebesar 5×10^7 cfu. Hal ini memperlihatkan bahwa sumber protein sangat penting untuk nutrisi pertumbuhan dan tanpa adanya protein pertumbuhan makhluk hidup tidak maksimal. Kurva pertumbuhan *S. cereviciae* dalam medium YPG pun tidak terlalu menonjol. Jumlah maksimal pertumbuhan mikroba terjadi pada jam ke 72 sebanyak $3,15 \times 10^7$ cfu. Gula sederhana seperti glukosa yang terkandung dalam medium YPG seharusnya menjadi medium paling baik untuk menumbuhkan *S. cereviciae*. Hanya saja konsentrasi gula yang terlalu tinggi seperti ini meningkatkan tekanan osmosis medium sehingga menghambat laju pertumbuhan mikroba.

Pola yang sama diperlihatkan oleh kurva pertumbuhan *S. cereviciae* pada Gambar 4.6. Dapat dilihat bahwa kurva pertumbuhan *S. cereviciae* dalam media onggok garut mengikuti pola fase pertumbuhan ragi. *S. cereviciae* paling tinggi dihasilkan oleh variasi keempat dimana penambahan peptonnya sebesar 4,7540 g dengan jumlah koloni sebesar $1,105 \times 10^8$ cfu. Jam ke 36 yang merupakan akhir *log phase* dan awal dari *stationary phase*. Seperti yang terjadi pada fermentasi menggunakan medium onggok ubi kayu, variasi keenam menunjukkan kurva pertumbuhan mikroba paling rendah dan pertumbuhan *S. cereviciae* dalam medium YPG pun tidak terlalu tinggi. Hal yang menyebabkan ini terjadi sudah dibahas dalam paragraf sebelumnya.

Pada kedua macam sumber karbon yang digunakan, didapatkan nilai pertumbuhan mikroba yang tidak terlalu berbeda. Koloni terbanyak dihasilkan pada medium umbi garut variasi keempat. Ini merupakan fakta yang menarik jika dihubungkan dengan jumlah glukosa hasil hidrolisis. Pada sampel ubi kayu, konversi pati menjadi glukosa paling tinggi dihasilkan oleh variasi keempat dengan nilai 95,93%, sementara pada sampel umbi garut

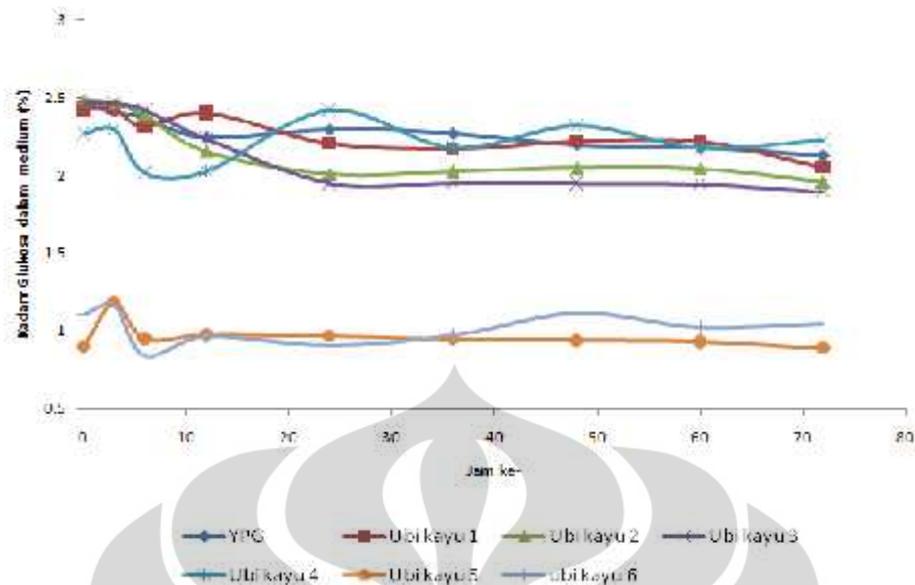
konversi tertingginya dihasilkan oleh variasi keempat dengan nilai 64,70%. Hal ini memperlihatkan bahwa jumlah glukosa pada medium umbi garut sudah cukup untuk mengembangkan *S. cereviciae* dengan sama banyak dengan yang tumbuh dalam medium ubi kayu, bahkan menghasilkan jumlah koloni yang lebih besar dibandingkan yang tumbuh dalam medium ubi kayu. Keadaan medium ubi kayu yang terlalu kental menyebabkan agitasi kurang sempurna sehingga kontak antara *yeast* dan makanan tidak sebaik yang terjadi pada medium umbi garut. Seharusnya dalam fermentasi digunakan reaktor fermentor yang memiliki agitator dan *buffle* yang dapat menjadi prasarana kontak antara *yeast* dan nutrisi secara kontinyu. Pada penelitian ini, fermentasi hanya menggunakan orbital shaker sehingga pada sampel dengan viskositas tinggi, pengadukan tidak terjadi sebaik pada sampel berviskositas rendah.

Faktor sumber karbon memang memiliki peranan penting dalam produksi *S.cereviciae*, namun selama kebutuhan karbon sudah terpenuhi dengan jumlah tertentu, *yeast* akan tumbuh dengan baik. Glukosa yang tersisa di medium tidak menyebabkan perkembangbiakan menjadi lebih cepat atau lebih tinggi, tetapi fungsinya berupa cadangan makanan agar sel mampu lebih lama bertahan hidup. Pertumbuhan sel dapat lebih optimal bukan dengan penyediaan jumlah makanan yang berlebih, namun dengan memperhatikan kondisi hidupnya seperti agitasi yang baik, suhu, pH serta ketersediaan oksigen (Fardias, 1988).

Dari grafik hubungan antara jumlah sel versus waktu, dapat disimpulkan bahwa untuk produksi *S.cereviciae* dari kedua macam sampel tidak perlu dilakukan melebihi 48 jam agar penggunaan waktu lebih efisien. Hal ini dikarenakan pertumbuhan sel hanya optimal sampai akhir fase logaritmik yang terjadi pada jam ke 24 sampai jam ke 36. Saat memasuki fase stasioner, fermentasi sudah boleh dihentikan untuk menghemat waktu produksi.

4.2.2 Pengaruh variasi nitrogen terhadap jumlah glukosa

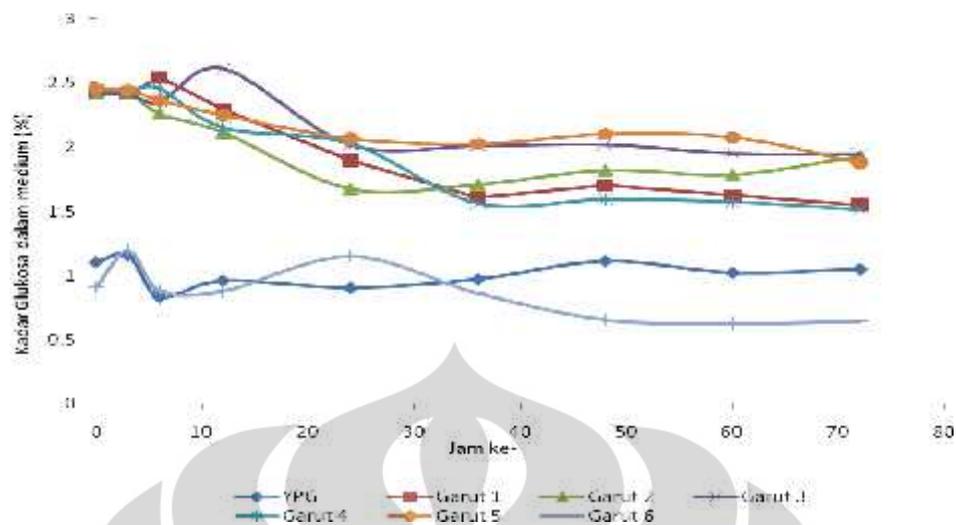
Gambar berikut ini merupakan kadar glukosa hasil fermentasi selama 72 jam pada berbagai macam variasi jumlah nitrogen



Gambar 4.7 Pengaruh variasi nitrogen terhadap konsumsi glukosa dalam medium onggok ubi kayu

Glukosa digunakan oleh makhluk hidup sebagai sumber karbon dalam kebutuhannya bermetabolisme dan berkembang biak. Gambar 4.7 menunjukkan jumlah glukosa yang berada dalam medium onggok ubi kayu menurun dengan semakin lama proses fermentasi dilakukan. Konsumsi pada awal fermentasi berlangsung cepat sehingga kecenderungan kurva turun sampai jam ke 24 lalu membentuk garis landai sampai akhir fermentasi. Hal ini berkaitan dengan pokok bahasan sebelumnya dimana saat jumlah sel naik berkali lipat maka dibutuhkan sumber nutrisi yang banyak untuk metabolismenya. Sesuai dengan jumlah sel tertinggi yang dihasilkan oleh medium ubi kayu variasi keempat, konsumsi glukosa paling besar juga terlihat pada medium variasi keempat. Laju konsumsi yang tinggi berhenti di jam ke 24 dari kadar glukosa mula-mula 2,4% sampai kadar 1,9% dan selanjutnya cenderung stabil pada angka 1,9%.

Akhir penurunan kurva berhenti di jam yang sama dengan *log phase* dari pertumbuhan mikroba, ketika *S. cerevisiae* memasuki fasa stasioner, konsumsi gula tidak lagi menurun drastis dan cenderung stabil.



Gambar 4.8 Pengaruh variasi nitrogen terhadap konsumsi glukosa dalam medium ongkok garut

Kurva konsumsi glukosa dalam medium ongkok garut berbeda dengan kurva konsumsi dalam medium ongkok ubi kayu. Pada kurva medium ongkok ubi kayu, penurunan kadar glukosa pada variasi ketiga dan variasi keempat secara signifikan berlangsung sampai pada jam ke 36. Sementara untuk variasi lainnya, konsumsi glukosa secara cepat hanya berlangsung hingga jam ke 24. Pertumbuhan sel *S. cerevisiae* pada medium ongkok garut setelah *log phase* memang masih cenderung naik dan belum sampai pada fase stasionernya. Hal inilah yang menyebabkan glukosa belum berhenti membentuk kurva yang stabil karena konsumsi masih terus berlangsung sampai pada jam ke 36.

Jumlah sel tertinggi yang dihasilkan oleh medium garut pada variasi keempat, konsumsi glukosa paling besar juga terlihat pada medium variasi keempat. Laju konsumsi yang tinggi berhenti di jam ke 36 dari kadar glukosa mula-mula 2,40% sampai kadar 1,56% dan selanjutnya cenderung stabil pada angka 1,51%.

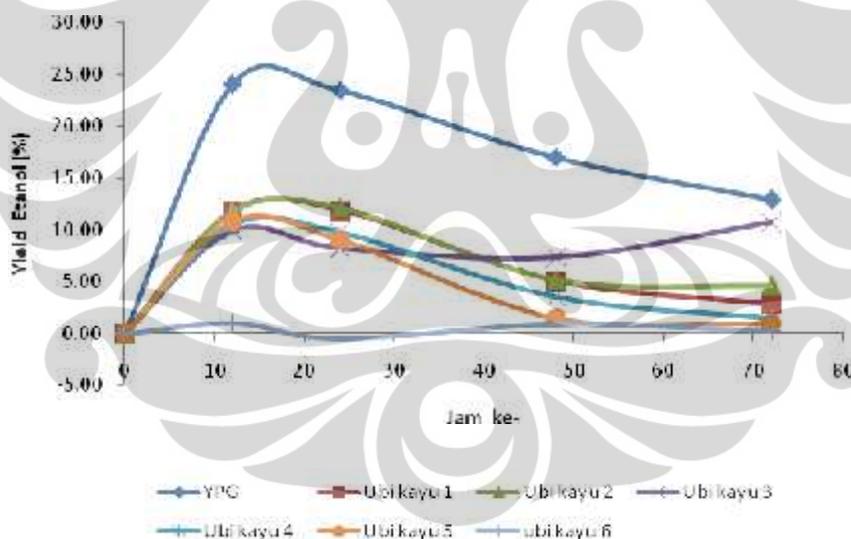
Kurva konsumsi glukosa pada medium YPG tidak memberikan kecenderungan yang sama dengan variasi lainnya dimana bentuk kurva tidak semakin turun, namun berfluktuasi dan cenderung naik. Hal ini dikarenakan pengadukan yang kurang homogen sehingga sampel yang diambil tidak

mewakili dan menghasilkan data yang tidak akurat serta berbeda dari literatur.

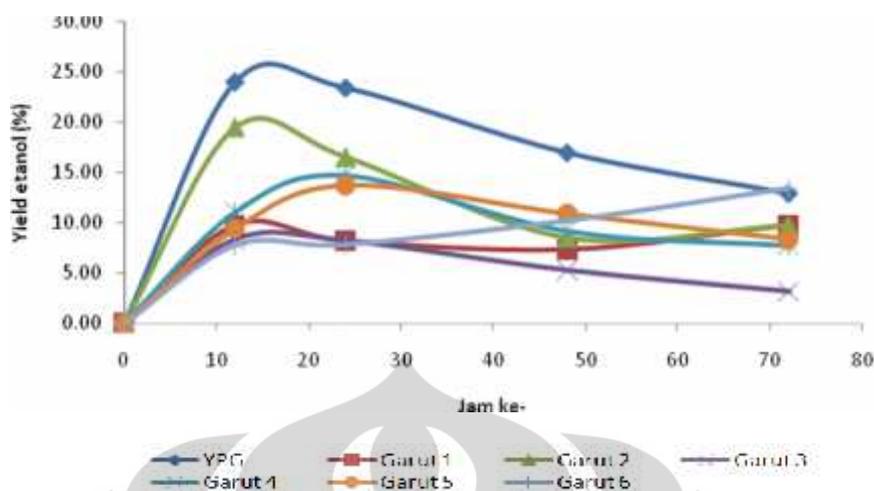
Terdapat teori lainnya mengenai bentuk kurva konsumsi glukosa yang cenderung stasioner pada jam ke 24 sampai jam ke 72. Hal ini akan dijelaskan dalam sub bab 4.2.3.

4.2.3 Pengaruh variasi nitrogen terhadap pembentukan etanol

Dilihat dari pertumbuhan sel *S.cereviciae* seperti yang dibahas dalam subbab 4.2 di atas, dapat disimpulkan bahwa jumlah nitrogen memberikan pengaruh yang terlihat jelas, dimana semakin banyak jumlah pepton maka sel *S.cereviciae* dapat tumbuh lebih banyak. Namun hal ini tidak berlaku pada hasil kadar etanol yang terbentuk. Grafik pembentukan etanol berdasarkan *yield* konversinya terhadap bahan baku dapat dilihat dalam Gambar 4.9 dan Gambar 4.10 berikut ini.



Gambar 4.9 Pengaruh waktu fermentasi terhadap pembentukan etanol dalam berbagai variasi medium ongkok ubi kayu



Gambar 4.10 Pengaruh waktu fermentasi terhadap pembentukan etanol dalam berbagai variasi medium onggok garut

Idealnya grafik perubahan jumlah etanol berbanding lurus dengan kurva pertumbuhan bakteri. Penelitian terdahulu tentang fermentasi dengan bahan baku berbeda umumnya menghasilkan kurva yang mengikuti kecenderungan tersebut. Akan tetapi, dalam penelitian ini grafik perubahan jumlah etanol tidak memberikan hasil yang sama.

Seluruh etanol yang dihasilkan dari berbagai kombinasi perlakuan menunjukkan kecenderungan yang sama. Titik tertinggi etanol berada pada jam ke 12 dan beberapa lainnya berada pada jam ke 24. Setelah mencapai titik tertinggi, kurva kemudian turun perlahan.

Jika ragi tidak lagi melakukan fermentasi gula menjadi etanol, jumlah etanol dalam substrat seharusnya tetap. Penurunan konsentrasi etanol ini menunjukkan bahwa terjadi reaksi yang mengubah etanol menjadi asam asetat. Berdasarkan teori metabolisme ragi yang telah dijabarkan dalam Bab 2, pergantian metabolisme ragi dari anaerob menjadi aerob adalah teori yang paling mungkin untuk menjelaskan fenomena tersebut (Husnil, 2009).

Fermentasi glukosa menjadi etanol adalah reaksi yang melelahkan bagi ragi karena menggunakan energi yang cukup tinggi. Ragi melakukan fermentasi agar mampu bertahan dalam lingkungan tanpa oksigen. Diawal metabolisme, fermentasi berlangsung secara anaerob dalam medium onggok

karena tidak adanya kontak dengan oksigen. Medium ini merupakan medium dengan sumber karbon berlebih sehingga ragi membanjiri lingkungannya dengan etanol untuk membatasi kompetisi dengan bakteri lain dalam memperoleh makanan.

Sampling fermentasi setiap jam-jam tertentu tanpa adanya *port sampling* memaksa media kontak dengan udara luar, walaupun sudah dilakukan secara aseptis dan secepat mungkin. Disaat oksigen kembali tersedia, metabolisme ragi akan bertukar dari fermentasi menjadi respirasi. Ragi akan mendaur ulang etanol yang terbentuk menjadi asam asetat. Reaksi daur ulang etanol ini lebih disukai oleh ragi karena membutuhkan energi yang relatif sedikit dibanding fermentasi. Akibat perubahan metabolisme ini, kadar alkohol dalam medium akan turun secara drastis. *S. cerevisiae* sendiri tumbuh lebih baik dibandingkan jika berada dalam kondisi fermentasi karena energi yang dikeluarkan tidak terlalu besar dan bisa lebih terfokus untuk berkembangbiak. Dalam penyediaan medium untuk produksi beta glukon, metabolisme ragi dengan cara respirasi lebih disukai karena sel akan tumbuh lebih optimal dan tidak akan ada kemungkinan sel yang mati akibat keracunan alkohol hasil fermentasi dirinya sendiri.

Dari Gambar 4.9 dapat dilihat untuk kurva alkohol variasi ubi kayu pertama, kedua, keempat dan kelima menunjukkan kecenderungan yang sama yaitu memiliki titik tertinggi di sekitar jam ke 12 atau jam ke 24 dengan kisaran angka *yield* sekitar 9-13% dan setelah itu membentuk kurva yang menurun. Sementara dalam medium YPG, pembentukan alkohol jauh lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan medium lainnya. Hal ini dikarenakan basis pembentukan alkohol adalah banyaknya glukosa yang ada di medium sehingga dapat langsung dikonversi oleh ragi menjadi alkohol. Dalam hal ini, medium YPG menggunakan glukosa murni sebagai sumber karbon. Ragi yang terkandung dalam medium dapat langsung bermetabolisme menghasilkan alkohol tanpa harus beradaptasi dengan makanan yang disediakan. Inilah yang menyebabkan kadar alkohol yang terdapat dalam medium YPG cukup tinggi dibandingkan dengan medium

lainnya. Setelah sampai pada titik tertinggi, *yield* etanol mulai turun lagi seperti variasi lainnya akibat aktivitas respirasi sel.

Pola unik ditunjukkan oleh medium variasi ketiga dimana kurva yang terbentuk tidak sama seperti yang lain. Pada variasi ketiga, setelah alkohol sampai titik tertinggi, *yield* turun sedikit namun kembali naik seiring waktu. Hal ini dapat disebabkan oleh terbatasnya kontak variasi ketiga dengan udara bebas sehingga menyebabkan metabolisme fermentasi berlanjut tanpa mengubah sistem metabolisme menjadi respirasi. Untuk variasi keenam, tidak terlihat adanya perubahan kadar alkohol yang signifikan. Ini berarti memberikan pengaruh yang besar terhadap perkembangbiakan sel sehingga untuk media yang tanpa diberi unsur nitrogen, sel akan sulit berkembang. Nitrogen sendiri berperan terhadap proses pembentukan sel dalam jaringan makhluk hidup. Pada penelitian sebelumnya, didapatkan kesimpulan bahwa sumber nitrogen yang paling baik untuk pertumbuhan *yeast* adalah pepton (Kusmiati, dkk, 2007).

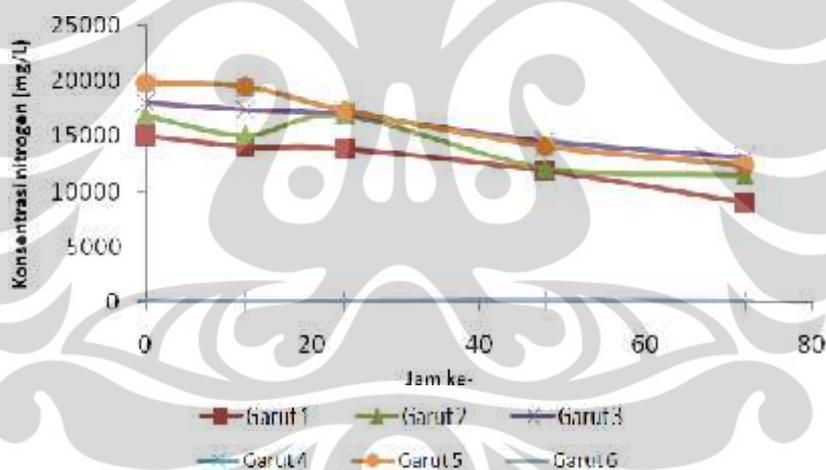
Dari Gambar 4.10 dilihat bahwa *yield* alkohol dari medium garut variasi kesatu, kedua, dan ketiga serta YPG mempunyai titik tertinggi pada jam ke 12 dan menurun setelahnya. Titik tertinggi dari variasi kedua berada pada nilai 19,5%, diikuti variasi kesatu dengan nilai 9,83 % dan variasi ketiga dengan nilai 8,41%. Medium YPG merupakan medium dengan tingkat konversi tertinggi sebesar 24,06%. Teori yang menerangkan hal ini telah dibahas di paragraf sebelumnya. Adapun untuk variasi keempat dan kelima, titik tertinggi berada pada jam ke 24 dengan *yield* konversi 14,75% dan 13,79% berturut-turut dan kurva kemudian menurun. Grafik dari variasi keenam onggok garut menunjukkan anomali dari kecenderungan yang ada, dimana pola yang terjadi adalah *yield* terus naik seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Hal ini dapat disebabkan oleh terbatasnya kontak variasi keenam dengan udara bebas sehingga menyebabkan metabolisme fermentasi berlanjut tanpa mengubah sistem metabolisme menjadi respirasi.

Adanya daur ulang etanol oleh ragi menjawab fenomena kurva konsumsi glukosa yang cenderung stasioner setelah melewati jam ke 24

seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.7 dan Gambar 4.8. Ragi yang berada pada kondisi metabolisme anaerob menggunakan kembali alkohol hasil fermentasi sebagai sumber energi. Hal ini yang menyebabkan kadar glukosa dalam sampel cenderung tidak berkurang setelah jam ke 24 karena memang *S. cerevisiae* berhenti mengonsumsi glukosa dan menjadikan alkohol sebagai sumber karbonnya.

4.2.4 Pengaruh fermentasi terhadap jumlah konsumsi nitrogen

Konsumsi nitrogen oleh sel *S. cerevisiae* merupakan salah satu faktor yang diamati di dalam penelitian ini untuk melihat komposisi optimal dari medium yang digunakan dalam produksi beta glukukan. Hasil penelitian ditampilkan di dalam gambar 4.11 dan 4.12 berikut ini.

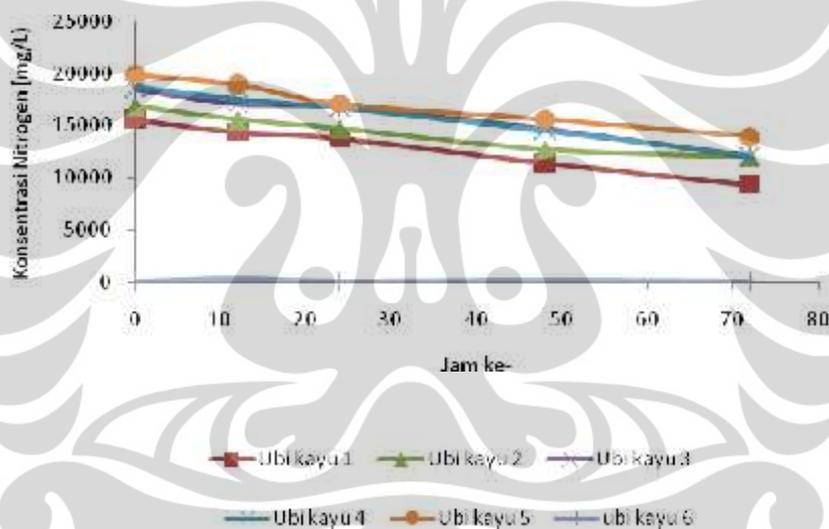


Gambar 4.11 Konsumsi nitrogen pada medium ongkok garut

Gambar 4.11 menunjukkan variasi dalam medium ongkok garut memiliki kecenderungan kurva yang sama dalam hal konsumsi nitrogen. Semakin lama proses fermentasi, jumlah nitrogen dalam sampel semakin turun. Penurunan kadar nitrogen membentuk pola yang sejajar untuk semua variasi. Penambahan pepton terbanyak dilakukan pada variasi kelima menyebabkan kurva konsumsi nitrogen berada pada nilai tertinggi dimana jumlah nitrogen mula-mula sebesar 19.777,44 mg/L dan turun menjadi

12.330,38 mg/L pada akhir fermentasi. Variasi kedua memberikan bentuk kurva yang fluktuatif dimana kurva cenderung turun namun naik lagi pada jam ke 24. Jumlah nitrogen mula-mula sebesar 16.875,06 mg/L dan tiba-tiba menjadi 16.880,75 mg/L pada jam ke 24. Hal ini dapat disebabkan oleh homogenitas sampel yang kurang baik atau kesalahan saat sampling.

Kadar nitrogen pada variasi keenam membentuk garis lurus dan memiliki nilai yang sangat kecil. Kisaran kadarnya adalah 100-200 mg/L. Variasi keenam seharusnya tidak mengandung nitrogen karena merupakan blanko tanpa penambahan nitrogen. Adapun nilai kadar nitrogen yang dapat terbaca pada variasi keenam dapat dikarenakan adanya nilai *intersept* dari kurva standar juga dapat dihasilkan dari sisa metabolisme sel.



Gambar 4.12 Konsumsi nitrogen pada medium onggok ubi kayu

Gambar 4.12 menunjukkan setiap variasi dalam medium onggok ubi kayu memiliki kecenderungan kurva yang sama dalam hal konsumsi nitrogen. Penurunan kadar nitrogen membentuk pola yang sejajar. Tidak terdapat penyimpangan pola konsumsi seperti pada gambar 4.11. Dengan semakin lamanya proses fermentasi, jumlah nitrogen dalam sampel semakin turun. Penambahan nitrogen terbanyak dilakukan pada variasi kelima menyebabkan kurva konsumsi nitrogen berada pada nilai tertinggi dimana jumlah nitrogen mula-mula sebesar 19.879 mg/L dan turun menjadi 13.913

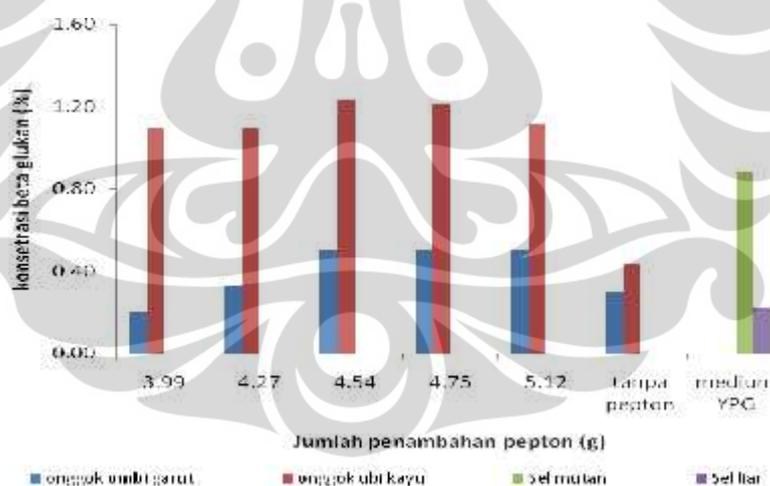
mg/L pada akhir fermentasi. Pada variasi keenam, kadar nitrogen terbaca sangat kecil dibanding yang lainnya yaitu berkisar pada angka 113,44-339,79 mg/L. Faktor yang menyebabkan kadar nitrogen yang rendah pada variasi F sudah dijelaskan pada paragraf sebelumnya.

Tidak seperti kurva konsumsi glukosa yang cenderung stabil pada saat fase stasioner, kurva konsumsi nitrogen terus turun. Kebutuhan sel terhadap sumber nitrogen tidak pernah berhenti selama proses metabolisme menyebabkan kadar nitrogen di dalam media fermentasi selalu berkurang.

4.2.5 Pengaruh variasi nitrogen terhadap kadar beta glukon

Setelah jam ke 72, *S. cerevisiae* hasil fermentasi dipanen dan disentrifugasi untuk memisahkan sel dari medium. Setelah itu, 100 mL sampel disonikasi untuk menghancurkan dinding sel *S. cerevisiae* agar beta glukon dapat dihitung jumlahnya secara kuantitatif.

Dari hasil analisa kadar beta glukon, dapat dilihat dari gambar 4.13 sebagai berikut.



Gambar 4.13 Kadar beta glukon dalam medium

Sonikasi merupakan metode yang dianjurkan dalam hal pemecahan sel untuk mendapatkan beta glukon terlarut dalam medium karena lebih mudah dan efektif dibandingkan pelarutan dengan alkali. Terbukti dari hasil analisa, kadar beta glukon terlarut cukup tinggi dengan hanya melakukan

sonikasi selama 10 menit. Sementara untuk ekstraksi beta glukon menggunakan basa, diperlukan waktu ekstraksi hampir 5 jam agar beta glukon dapat terekstrak sempurna larut ke dalam alkali (Reza, 2008).

Perbedaan nilai beta glukon yang dihasilkan dari kedua macam medium cukup signifikan, dimana jumlah yang dihasilkan oleh medium onggok umbi garut hanya setengahnya dari yang dihasilkan onggok ubi kayu. Dari gambar dapat dilihat bahwa untuk beta glukon pada medium onggok ubi kayu membentuk kurva optimal yang memiliki titik puncak paling tinggi berasal dari variasi ketiga dengan jumlah 1,23 %. Sementara pada medium onggok garut, kadar beta glukon paling tinggi dihasilkan pada variasi keempat yaitu sebesar 0,51% dan cenderung stabil untuk variasi berikutnya. Hasil blanko variasi onggok ubi kayu dan onggok garut yang tidak ditambahkan nitrogen menunjukkan nilai yang jauh lebih kecil dibandingkan variasi yang menggunakan nitrogen. Nilai beta glukon yang terkandung pada variasi keenam (blanko) dari onggok ubi kayu dan onggok garut ialah 0,44 % dan 0,30 % berturut-turut. Medium YPG yang bertindak sebagai 'kondisi ideal' yang diperlukan *S. cerevisiae* untuk tumbuh hanya berhasil memproduksi 0,88 % beta glukon. Adapun *S. cerevisiae* tipe liar (bukan mutan), menghasilkan data beta glukon 0,23 %. Hal ini sudah dibuktikan oleh penelitian sebelumnya, dimana beta glukon produksi *S. cerevisiae* terukur lebih tinggi pada galur yang sudah dijadikan mutan dibandingkan dengan galur liarnya (Ha, et.al. 2002).

Alat yang digunakan untuk sonikasi adalah *ultrasonic processor*. Sonikasi merupakan suatu proses pengubahan sinyal listrik menjadi getaran mekanis yang dapat diarahkan menuju suatu zat yang dilakukan untuk memecahkan ikatan antar molekul atau untuk merusak sel. Getaran yang dihasilkan dapat memecah bagian molekul dan merusak sel. Bagian utama dari sonikator adalah generator listrik ultrasonik. Alat ini menghasilkan sinyal (sekitar 20 KHz) yang menghidupkan transduktor. Transduktor kemudian mengkonversi sinyal elektrik dengan menggunakan kristal *piezoelectric*, yaitu kristal yang dapat merespon listrik dengan menghasilkan getaran mekanis. Getaran tersebut dijaga oleh sonikator hingga melewati

probe. Probe sonikator berperan dalam menyampaikan getaran pada cairan yang disonikasi. Pergerakan probe yang terjadi dengan cepat menghasilkan efek kavitasi yang terjadi ketika terbentuk gelembung-gelembung mikroskopis dalam larutan akibat adanya getaran. Pembentukan dan penghancuran gelembung tersebut menghasilkan gelombang getaran berenergi tinggi yang dapat merusak sel (Lacoma, 2009).

Ketika sonikator difungsikan sebagai alat pemecah dinding sel, homogenitas merupakan faktor yang mempengaruhi hasil akhir. Medium ubi kayu cenderung lebih homogen dan berbentuk *slurry*. Tekstur dari mediumnya sendiripun lebih halus daripada medium umbi garut. Saat dilakukan sonikasi menggunakan ultrasonic prosessor, *S. cerevisiae* dan medium akan pecah molekulnya akibat vibrasi yang tinggi menjadi molekul-molekul lebih kecil dan homogen. Vibrasi ini yang menyebabkan dinding sel terkoyak dengan baik dan molekul beta glukukan dapat terekstrak lalu larut ke dalam medium. Keadaan yang berbeda terlihat pada medium umbi garut. Medium umbi garut cenderung berbentuk dua fasa, dimana padatan umbi garut masih terlihat dengan jelas. Saat dilakukan sonikasi pada medium, hasil akhir sampel terlihat kurang homogen akibat terganggu oleh tekstur dari medium yang lebih kasar. Akibatnya, beta glukukan tidak dapat 'keluar' dengan baik dari medium umbi garut, dan menghasilkan jumlah yang jauh lebih kecil dibandingkan pada medium ubi kayu.

4.3 Ekstraksi beta glukukan dari *S. cerevisiae*

Produksi beta glukukan dilakukan melalui proses ekstraksi dinding sel *Saccharomyces*. Kultur yang diambil disentrifugasi untuk memisahkan sel dari mediumnya. Pelet sel kemudian ditambahkan larutan NaOH 2% dikarenakan kelarutannya yang baik dalam larutan alkali. Suspensi sel tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 5 jam untuk memecah dinding sel *S. cerevisiae* sehingga beta glukukan yang terkandung didalamnya dapat larut dalam larutan alkali. Beta glukukan yang ditambahkan masih belum murni karena masih tercampur dengan kitin, manan, dan protein. Setelah pemanasan, sampel disentrifuse lagi dengan menambahkan

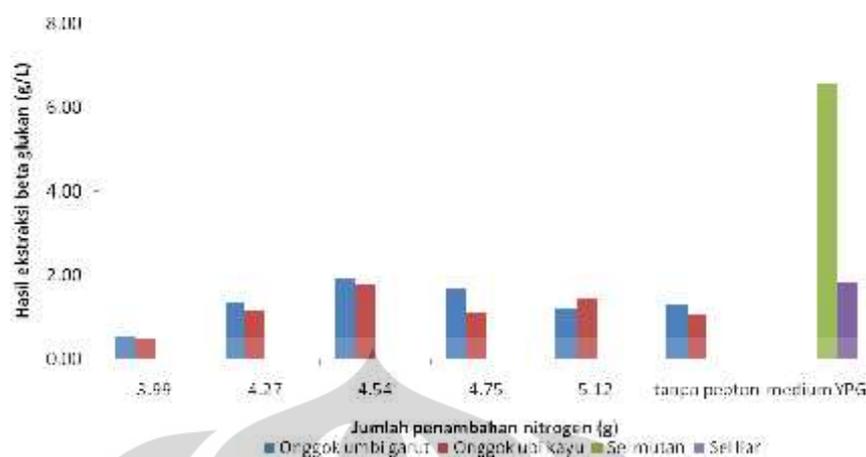
larutan asam asetat yang berfungsi untuk menetralkan pH dan melarutkan lipid. Penambahan etanol berfungsi untuk memperkecil kelarutan beta glukosa dalam NaOH serta mempresipitasikan beta glukosa sehingga diperoleh beta glukosa kasar (Lee, et. Al, 2001).



Gambar 4.14 Proses ekstraksi beta glukosa

β glukosa tersusun atas monomer-monomer glukosa yang saling berikatan membentuk suatu rantai panjang. Glukosa menjadi substrat bagi *S. cerevisiae* mula-mula akan memasuki sel melalui mekanisme transport aktif. Sel kemudian akan memulai sintesis polisakarida dan menghasilkan beta glukosa (Priest, 1996).

Adapun hasil ekstraksi dapat dilihat dalam Gambar 4.15 berikut ini.



Gambar 4.15 Hasil ekstraksi beta glukon

Dari hasil proses ekstraksi yang dilakukan, pellet beta glukon yang didapatkan tidak sesuai dengan kadar beta glukon hasil pembacaan. Ekstraksi beta glukon paling tinggi dihasilkan oleh *yeast mutant* dengan kadar 6,565 g/L (0,66% b/v). Ekstraksi *yeast* liar menghasilkan beta glukon sebanyak 1,843 g/L (0,18% b/v). Pelet beta glukon dari kedua sumber ini jumlahnya tidak terlalu berbeda dengan hasil pembacaan HPLC, dimana kadar beta glukon yang terukur adalah 0,88 % dan 0,22 % berturut-turut.

Hasil ekstraksi beta glukon dari *S. cerevisiae* dalam medium penelitian jauh berbeda dengan hasil pembacaan HPLC. Hanya sepersepuluh dari beta glukon hasil pembacaan yang dapat diekstraksi. Nilai beta glukon paling tinggi dari medium umbi garut dihasilkan dari variasi ketiga sebesar 1,91 g/L (0,19% b/v). Sementara dari medium ubi kayu, dihasilkan nilai tertinggi dari variasi ketiga sebesar 1,767 g/L (0,18 % b/v). Hal ini terkait dengan proses ekstraksi yang dilakukan hanya mengandalkan cara konvensional yaitu gravimetri. Tidak samanya jumlah pellet yang dihasilkan dengan hasil pembacaan HPLC kemungkinan disebabkan oleh partikel endapan yang terbuang saat proses.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah melarutkan beta glukon dalam basa dan dilanjutkan dengan sentrifugasi pada suhu 15°C. Metode ini sudah terbukti valid dalam hal mengekstrak beta glukon untuk penelitian sejenis yang menggunakan medium cair sebagai medium produksi.

Pada medium padat, diperlukan metode lain untuk diterapkan. Medium yang berbentuk *slurry* menyebabkan sampling menjadi lebih sulit. Sampling yang dilakukan tidak dapat menggunakan pipet karena partikel padatan terlalu besar dan menghalangi celah. Sampling dilakukan dengan cara tuang langsung ke dalam tabung sentrifuse, sementara sel *S.cerevisiae* mengendap di dasar erlenmeyer. Padatan sampel menghalangi endapan *S.cerevisiae* yang ada di bagian bawah untuk ikut terambil. Akibatnya, diperlukan metode homogenisasi medium yang lebih baik agar partikel tidak mengganggu proses sampling sehingga didapatkan pellet beta glukon secara maksimal.

Selain itu, diperlukan suhu yang tepat untuk membuat beta glukon menjadi 'padat' dan dapat dipisahkan melalui sentrifugasi dari mediumnya. Presipitasi dikhawatirkan tidak terjadi secara sempurna karena suhu yang tidak cocok. Adapun waktu dan frekuensi sonikasi juga merupakan faktor penting dalam proses pemecahan dinding sel. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kondisi optimal pemecahan dinding sel menggunakan sonikasi dan suhu pengendapan beta glukon.

BAB 5

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- Pada sampel onggok umbi garut, penambahan enzim amiloglukosidase sebesar 55,0 mg yang setara dengan 44.000 unit enzim, memberikan *yield* hidrolisis sebesar 64,70 %. Sementara pada sampel onggok ubi kayu, penambahan enzim amiloglukosidase sebesar 57,5 mg yang setara dengan 46.000 unit dan memberikan *yield* konversi sebesar 95,93%.
- Jumlah pepton optimal untuk perkembangbiakan sel pada medium onggok umbi garut adalah sebesar 4,75 g yang menghasilkan koloni sebanyak $1,055 \times 10^8$ cfu dan jumlah pepton optimal untuk perkembangbiakan sel pada medium onggok ubi kayu adalah sebesar 4,75 g yang menghasilkan koloni sebanyak $8,5 \times 10^7$ cfu.
- Waktu optimum untuk pengembangbiakan *S. cerevisiae* adalah 24 jam sampai 36 jam.
- Kadar beta glukan paling tinggi yang terbaca HPLC pada medium onggok singkong sebesar 1,23% ; pada medium onggok garut sebesar 1,20%; pada medium YPG sebesar 0,88% dan pada medium YPG dengan menggunakan yeast tipe liar sebesar 0,23 %.
- Hasil ekstraksi beta glukan paling tinggi yang berasal medium onggok ubi kayu sebesar 1,767 g/L (0,18 % b/v) ; berasal medium umbi garut sebesar 1,91 g/L (0,19% b/v); berasal dari medium YPG sebesar 6,565 g/L (0,66% b/v) ; berasal dari medium YPG dengan menggunakan yeast tipe liar sebesar 1,842 g/L (0,8% b/v).

DAFTAR PUSTAKA

- Abouzied, M.M. dan Reddy C.A. (1986). *Direct fermentation of potato starch to ethanol by cocultures of Aspergillus niger and Saccharomyces cerevisiae*. In: Applied and Environmental Microbiology Journal (52nd Volume). Michigan: Michigan State University: 1055-1059
- Archunan, G. (2004). *Microbiology (First Edition)*. New Delhi: Sarup & Sons. p. 357-358
- Anindyajati. (2005). *Hidrolisat pati DE 35-40 dari pati singkong (Manihot utilisima Pohl.) sebagai bahan salut gula pengganti sukrosa pada tablet vitamin E*. Fakultas MIPA Jurusan Farmasi. Universitas Indonesia.
- Anonim (2008) *Pembuatan starter probiotik ubi jalar (diakses tanggal 20 Desember 2011)*. Diambil dari: <http://ptp2007.wordpress.com/2008/09/08/pembuatan-starter-probiotik-ubijalar>
- Anonim. (2011). <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/573inhibit.html>
Enzyme inhibitor
- Asadi, dkk. (2008). *Isolation of b-glucan from the cell wall of Saccharomyces cerevisiae*. Natural Product Research 22 (5), 20 March 2008, 414–421
- Asrsaether E, Rydningen M, et al. (2006). *Cardioprotective effect of pretreatment with beta-glucan in coronary artery bypass grafting*. Sand Cardiovasc J. 40(5):298-304;
- Cempaka, Laras. (2010). *Effect of glucose concentration and speed of agitation on the production. Of B-Glucan By Saccharomyces Cerevisiae Under Submerged Fermentation*. Sekolah Tinggi Ilmu Hayati ITB.
- Charles, N., dkk., (1996). *Gas chromatography and mass spectrometry: A Practical Guide*. Boston: Academic Press. p. 17-18
- Cheeseman, IM, and R. Malcom Brown, Jr. 2000. *Microscopy of Curdlan Structure*. Departement of Botany, The University of Texas at Austin.
- Davis, R. dan Martin F. (1994). *Mass Spetrometry*. New York : John Wiley & Sons. p. 1-23, 229-253
- DIFCO. (1977). *DIFCO Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures (9th Edition)*. Michigan: DIFCO Laboratories Incorporated. p.32-33

- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. (1996). *Daftar komposisi kimia bahan makanan*. Jakarta : Bharata Media Niaga.
- Djohan, T. Bahri Anwar. (2004). *Penyakit jantung koroner dan hipertensi*. Medan : Universitas Sumatera Utara
- Doran, Pauline. M. 1995. *Bioprocess Engineering Principles*. London : Academic Press Limited.
- European Bioinformatics Institute. (1996). *Eukaryotes genomes- Saccharomyces cerevisiae*. [diakses 20 Desember 2011]. Diambil dari: URL: HYPERLINK http://www.embl-ebi.com/Saccharomyces_cerevisiae.html
- Fardias, Srikandi. (1988). *Fisiologi fermentasi*. Lembaga Sumber Daya Informasi-IPB, Bogor
- Fessenden, RJ & JS Fessenden. (1995). *Kimia organik. Terj. dari Organic Chemistry oleh AH Pudjatkama*. Jakarta : Erlangga : 352 : 354
- Fieser, L.F. dan Fieser, M.(1967). *Reagents for organic synthesis (First Volume)*. New York: John Wiley & Sons. p. 703-705
- George, W.O. dan Mc Intyre, P.S. (1987). *Infrared spectroscopy*. New York: John Wiley & Sons.
- Gumbira, ES. (1987). *Bioindustri : Penerapan teknologi fermentasi*. Jakarta : PT Mediyatama Sarana Perkasa.
- Ginting, Irwan. (2008). *Pembuatan polimer peka lingkungan dengan polimerisasi grafting campuran N-isopropilakrilamida dan asam metakrilat (binary monomer) pada selulosa yang diekstraksi dari onggok*. Lampung : Seminar Nasional Sains dan Teknologi
- Ha, C., K. Lim, Y. Kim, S. Lim, C. Kim, and H. Chang. (2002). *Analysis of alkali-soluble glucan produced by wild-type and mutants*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58 (3): 370-377
- Halimatuddahlia. (2004). *Pembuatan n-Butanol dari berbagai proses*. USU Digital Library.
- Hambali, E., dkk. (2008). *Teknologi bioenergi cetakan ketiga*. Jakarta: PT.Agromedia Pustaka. Hal. 3-5, 38-50
- Hendra, Alex. (2005). *Analisis pendahuluan produksi dan uji aktivitas antibakteri crude B-Glukan hasil isolasi dari Saccharomyces cerevisiae dan Agrobacterium sp Skripsi Fakultas MIPA Jurusan Kimia : Universitas Indonesia*.

- Hidayat, N., Masdiana C.P. dan Sri S. (2006). *Mikrobiologi industri*. Yogyakarta: CV. Andi Offset. Hal. 2-14,18-24,111-120,179-192
- Hunter, K.W.Jr., R.A. Gault, and M.D. Berner. 2002. *Preparation of microparticulate β -Glucan from Saccharomyces cerevisiae for use in immune potentiation*. Letters in Applied Microbiology 35 (4): 267-269
- Husnil, Yuli. 2009. *Perlakuan gelombang mikro dan hidrolisis enzimatis pada bambu untuk produksi bioetanol*. Tesis. Universitas Indonesia
- J. Ruiz-Herrera. (1992). *Fungal cell wall: Structure, synthesis and assembly pp. 847-850*. FL USA : CRC Press
- Jr, K.W.Hunter, RA Gault and Berner. 2002. *Preparation of microparticulate β -glucan from Saccharomyces cerevisiae for use in immune potentiation*. Letters in Applied Microbiology 2002, 35, 267-271
- Judoamidjojo, M. Abdul AD, Endang GS. (1992). *Teknologi Fermentasi*. Jakarta : Rajawali Press
- Jutono et al. (1972). *Dasar-dasar mikrobiologi (untuk Perguruan Tinggi)*. Jogjakarta : Gadjah Mada University Press
- Kearsley, MW & SZ. Dziedzic. (1995). *Handbooks of starch hydrolysis products and their derivatives*. London : Blackie Academic and Professional.
- Kusmiati, dkk. 2007. *β -Glucan production of Saccharomyces cerevisiae in medium with different nitrogen sources in air-lift fermentor*. Biodiversivitas, Volume 8 nomor 4. : 253-256
- Lacoma, Tyler. 2009. *How Does Sonication Work?*. Diakses dari: http://www.ehow.com/how-does_5171302_sonication-work.html. Diakses tanggal: 21 Juni 2012
- Lipke, PN, R. Ovalle. 1998. *Cell Wall Architecture in Yeast : New structure and new challenges of bacteriology*. 180 (15) : 3735-3740.
- Margaretha, Wahyuningsih, I. Pujihastuti. E. Suprio. (1997). *Laporan penelitian : Optimasi kondisi operasi proses produksi pigmen angkak pada fermentasi beras oleh Monascus Purpureus (skripsi)*. Fakultas Teknik, UNDIP.
- Marx Jean, L. (1991). *Revolusi Bioteknologi. edisi I, cetakan I hal 69 - 73 (Yatim Wilder, Terjemah)*. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.
- Macy, JM., MW Miller. (1983). *Archieves of microbiology*. 134. (64).
- Mason, Roger. (2001). *What is beta glucan?*. USA : Safe Goods.

- Mathewson, S.W. (1980). *Drying the alcohol*. Chapter 12. In: The Manual for the Home and Farm Production of Alcohol Fuel. California: Ten Speed Press
- Onsoy T., dkk. (2007). *Ethanol Production from Jerusalem artichoke by Zygomonas Mobilis*. Batch Fermentation. 7th Volume: 55-60
- Pelczar, MJ. (1986). *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta : UI Press.
- Priest, FG. I. Campbell. (1996). *Brewing biotechnology 2nd edition*. London : Published Champman and Hall.
- Prihardana, R., dkk. (2008). *Bioetanol ubi kayu bahan bakar masa depan (cetakan keempat)*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka. Hal. 25-66, 79-109, 125-128
- Purbawani, Arum Krysan. 2006. *Profil suhu aktivitas amilase Aspergillus niger group isolate 32 A*. Skripsi. Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Indonesia.
- Rahmawati, Fitri, Y. Marsono, Zuheid Noor. (2004). *Studi in vitro faktor penentu sifat hipoglisemik kacang merah*. Fakultas Teknik Jurusan Pendidikan Kesejahteraan Keluarga UNY.
- Reddy, N. S., A. Nimmagadda & K.R.S Sambasiva Rao. (2003). *An Overview of the microbial alfa amilase family*. African Journal of Biotechnology. 2. (12) : 645-648
- Robinson. T. (1995). *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. Bandung : Penerbit ITB
- Rukmana, Rahmat. (2000). *Ganyong : Budidaya dan pascapanen*. Yogyakarta : Kanisius
- Rubatzky, V. E., dan M. Yamaguchi. (1998). *Sayuran dunia I. Prinsip, produksi dan gizi (C. Herison, Terjemah)*. ITB Press : Bandung.
- Silverstein, R.M., Terrence C.M. dan Clayton B. (1981). *Spectrometric identification of organic compounds*. New York: John Wiley & Sons. p. 3-14, 102-105
- Sugama, Yoga. (2005). *Pengaruh beberapa sumber nitrogen organik terhadap pertumbuhan Saccharomyces cerevisiae meyen ex E.C. hansen PSCI sebagai probiotik ruminansia*. Skripsi. Fakultas MIPA : Universitas Indonesia
- Suharto. (1995). *Bioteknologi dalam dunia industri, Edisi I*. Yogyakarta: Penerbit Andi Offset. Hal. 18, 23, 25-27, 40-41, 122-125

Susijahadi, Neran dan M. Fatoni Kurniawan. (1997). *Pengendalian Fermentasi dengan Pengaturan Konsentrasi Hidrolisis Onggok Tepung Tapioka untuk Menghasilkan Alkohol*. Prosiding Seminar Teknik Pangan.

Swarbrick, J. 1(996). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. Volume 14. London : Marcel DekkerInc hal 223 – 231.

Tala, Zaimah Z, MS, Sp GK. 2009. *Manfaat serat bagi makanan*. Medan : Universitas Sumatera Utara.

Toyama S. dan Koshin M. (1967). Studies on *Aspergillus awamori* Nakaz.. [diakses 8 Januari 2009] : [6 screens]. Diambil dari: URL: HYPERLINK <http://www.ci.nii.ac.jp>

University of Maryland Medical Center (2009). *Brewer's Yeast*. Diambil dari www.umm.edu/altmed/articles/brewers-yeast/000288.htm Agustus 2011

Vetvicka V; "*Glucan-immunostimulant, adjuvant, potential drug,*" World J Clin Oncol 2(2), Februari 2010 : 115-119

Volk, Wesley A.(1993), *Mikrobiologi Dasar (edisi ke-5)*. Jakarta : Erlangga.

Waller, J.C., dkk,. (1981). *Feeding value of ethanol production by-products*. Washington D.C.: National Academy Press. p. 11-12

Walker, GM. (1995). *Yeast physiology and biotechnology*. New York : John Willey and Sons.

Wang, PY., BF Johnson, H. Schneider. (1980). *Biotechnology letters* 3 : 273.

Watson, L. dan M.J. Dallwitz. (1992). *The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval*. [diakses 13 maret 2010] Diambil dari: http://www.zipcodezoo.com/Euphorbiaceae_Famili.asp.htm

www.betaglucan.org, 2011-12-19, 7:09 PM

www.currentprotocols.com, 2011-12-26 11.10 AM

www.en.wikipedia.org/enzyme/ , 2011-12-26, 11 :08 AM

www.kimia.upi.edu/utama/bahanajar/kuliah_web/2009/0606811/polisakarida.html , 2011-12-26, 11 : 15 AM

www.pasteur.fr, 2011-12-26. AM

www.sigmaaldrich.com , 2011-12-26, 11: 11 AM

Yenti. (2005). *Produksi β glukon oleh Saccharomyces cereviciae pada fermentor air lift dengan variasi sumber karbon*. Skripsi. Fakultas MIPA Jurusan Kimia Universitas Indonesia



LAMPIRAN 1

Kebutuhan enzim Amiloglukosidase (γ -Amilase)

Enzim yang digunakan untuk hidrolisis pati :

Amiloglukosidase dari *Aspergillus Niger* (Sigma Aldrich)

aktivitas padatan : ≥ 80 unit/mg protein (biuret)

aktif pada temperatur 55°C pH 4,5 (pengasaman dengan HCl)

1 unit enzim amiloglukosidase membentuk $1 \mu\text{mol}$ g glukosa

Perhitungan kebutuhan enzim γ -amilase teoritis:

(dengan nilai pendekatan)

Basis : 10 gram onggok, kadar pati 80 %

Pati dalam onggok = $80\% \times 10 \text{ g} = 8 \text{ gram}$ pati

Asumsi pati terkonversi 100 % menjadi glukosa

8 gram pati = 8 gram glukosa

Mol glukosa = bobot glukosa / MR glukosa

= $8 \text{ gram} / 180$

= $0,0444444 \text{ mol}$

= $44444,44 \mu\text{mol}$

1 mg amiloglukosidase = 80 unit , maka

1 unit amiloglukosidase = $0,0125 \text{ g}$

Asumsi 1 unit bisa menkonversi $10 \mu\text{mol}$ glukosa dalam 1 jam

Kebutuhan enzim teoritis = $0,0125 \text{ g} \times (44444,44 \mu\text{mol} / 10)$

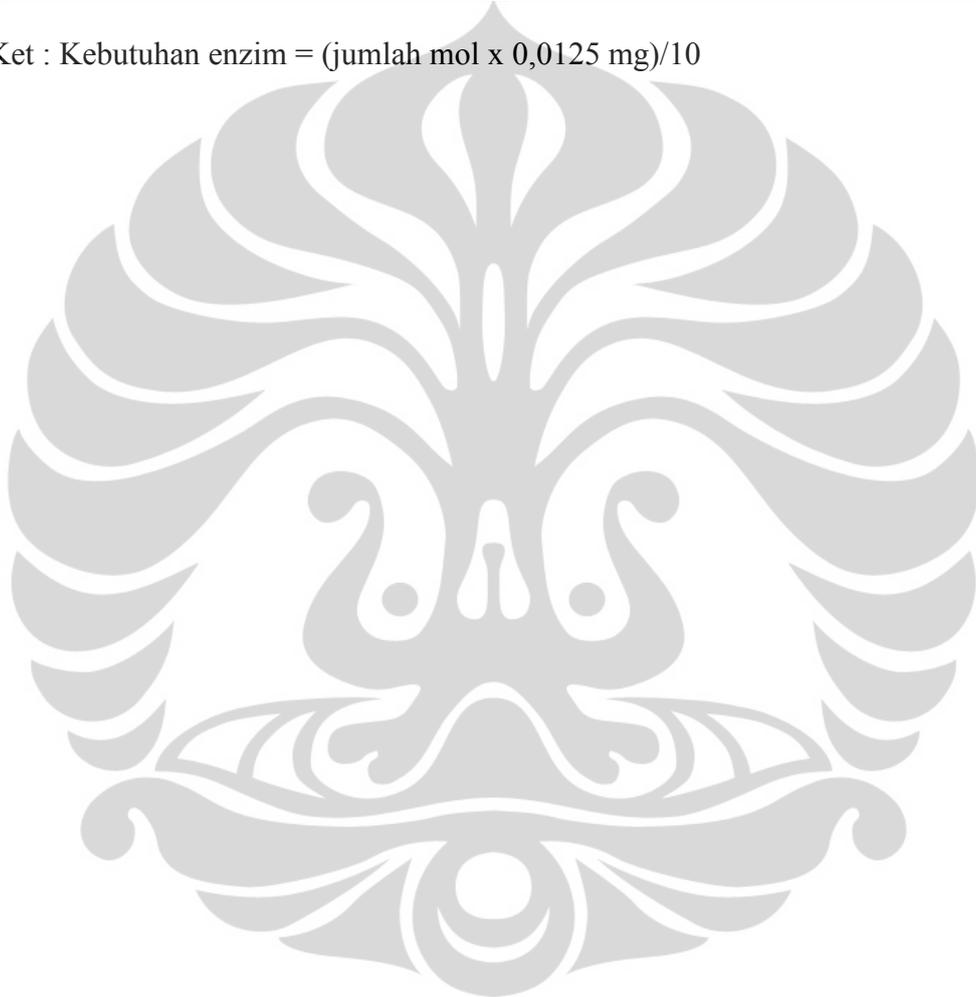
= $55,55 \text{ mg}$

= $0,0555 \text{ g}$

Variasi yang dilakukan :

Variasi	Jumlah mol glukosa (μmol)	Kebutuhan enzim (mg)
1	40000	50,0
2	42000	52,5
3	44000	55,0
4	46000	57,5
5	48000	60,0
6	50000	62,5
7	52000	65,0

Ket : Kebutuhan enzim = (jumlah mol x 0,0125 mg)/10



LAMPIRAN 2

Kebutuhan Nitrogen

Diketahui persamaan stoikiometri antara nutrisi yang diperlukan untuk memenuhi kebutuhan satu sel *S. cerevisiae* (Doran, 1995) :



Dimisalkan sumber nitrogen adalah ammonia. Untuk mengetahui kebutuhan ammonia sebagai sumber nitrogen sel *S. cerevisiae* (dengan pendekatan teoritis).

Dari persamaan diatas, diketahui perbandingan koefisien antara NH_3 dengan koefisien molekul *S. cerevisiae* :

$$b = 0,2c$$

$$\text{Yield} = c \frac{MW_{sel}}{MW_{glukosa}} = c \frac{[12(1) + 1,79(1) + 0,5(16) + 0,2(14)]}{12(6) + 1(12) + 16(6)} = c \frac{12 + 1,79 + 8 + 2,8}{72 + 12 + 96}$$

Asumsi yield = 50%

$$0,5 = c \frac{24,59}{180}$$

$$c = \frac{0,5 \times 180}{24,59} = 3,66$$

$$b = 0,2c = 0,2 \times 3,66$$

$$b = 0,732$$

Ini berarti untuk satu mol glukosa dibutuhkan 0,732 mol ammonia
 maka bobot NH_3 yang dibutuhkan untuk 180 g glukosa
 $= BM_{NH_3} \times 0,732$
 $= 12,444 \text{ gram}$

Jika dikonversi kembali, kebutuhan nitrogen *S.cerevisiae* yang setara dengan 180 gram glukosa = $\frac{BM_N}{BM_{NH_3}} \times 12,444 \text{g ammonia} = 10,248 \text{ g nitrogen}$

Jika diambil basis 10 g glukosa yang ada dalam nutrisi *S. cerevisiae*, maka kebutuhan nitrogen = $\frac{10g}{180g} \times 10,248g = 0,5693 \text{ g nitrogen}$

Dari literatur didapatkan data bahwa total nitrogen dalam pepton sebanyak 10%.
 Maka kebutuhan pepton untuk 10 gram glukosa = $\frac{100}{10} \times 0,5693g = 5,693 \text{ g pepton}$

Dari hasil analisa, didapat kadar pati pada sampel berkisar 80%.

Asumsi : hidrolisis 100 % menjadi glukosa

Maka, jumlah glukosa pada sampel = $80\% \times 10 \text{ gram}$
= 8 gram

Kebutuhan pepton untuk 10 gram glukosa = 5,693 g

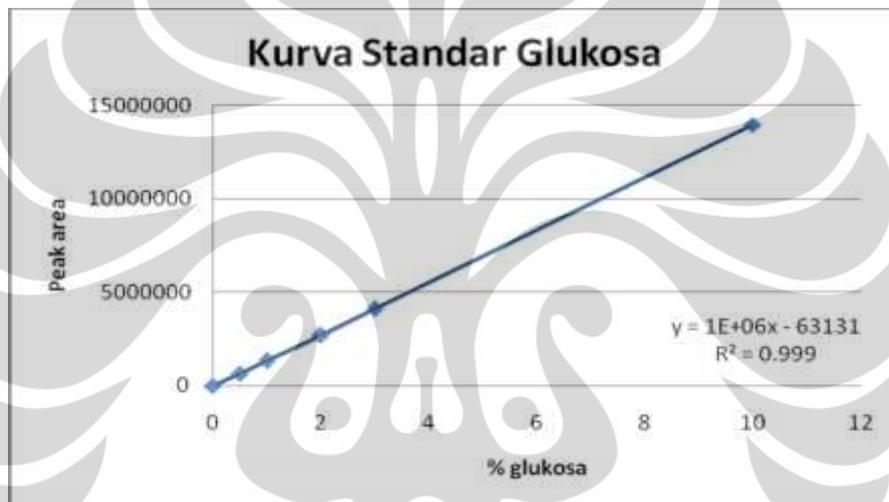
Kebutuhan pepton untuk 8 gram glukosa = $(8 \text{ gram}/10 \text{ gram}) \times 5,693 \text{ gram}$
= 4.544 g

Variasi yang dilakukan :

Variasi	Jumlah glukosa (g)	Kebutuhan pepton (g)
1	7,000	3,9851
2	7,500	4,2698
3	8,000	4,5440
4	8,500	4,7540
5	9,000	5,1240
6	-	-

LAMPIRAN 3
Kurva Standar Glukosa

Standar Glukosa	
Kadar (%)	Peak Area
0	0
0.5	644906
1	1330711
2	2688916
3	4105333
10	13966913



LAMPIRAN 4

Kadar Glukosa Awal sebelum Hidrolisis

Sampel	Bobot sampel (g)		Volume sampel (mL)	Peak area sampel		Kadar glukosa (%)		Yield glukosa (%)		Rata-rata (%)
	1	2		1	2	1	2	1	2	
Pati Garut	3.0192	3.0344	50	-	-	-	-	-	-	-
Pati singkong	3.1226	3.0560	50	5486	2347	0.0686	0.0655	1.0987	1.0713	1.0850
Supernatan Garut	-	-	50	19543	17021	0.0827	0.0802	-	-	-
Supernatan Singkong	-	-	50	14043	10105	0.0772	0.0732	-	-	-
Ampas Garut	5.2846	5.0186	50	25973	27879	0.0891	0.0910	0.8431	0.9067	0.8749
Ampas Singkong	5.1890	5.0988	50	14578	15198	0.0777	0.0783	0.7488	0.7681	0.7584

LAMPIRAN 5

Kadar Glukosa setelah Hidrolisis dengan Enzim Amiloglukosidase

Sampel	Variasi	Bobot sampel (g)		Bobot enzim (mg)		Volume (mL)	Peak area sampel		Kadar (%) (hasil HPLC)		Yield (%) atas dasar berat kering		Rata-rata
		1	2	1	2		1	2	1	2	1	2	
Onggok Singkong	1	10.0009	10.0100	50,0	50,0	250	3428496	3379664	3.4916	3.4428	87.28282	85.98389	86.63336
	2	10.0140	10.3453	52,5	52,5	250	3579889	3793509	3.6430	3.8566	90.94817	93.19788	92.07302
	3	10.0166	10.1143	55,0	55,0	250	3600525	3459688	3.6637	3.5228	91.43961	87.07521	89.25741
	4	10.0085	10.0060	57,5	57,5	250	3750164	3803521	3.8133	3.8667	95.25141	96.60833	95.92987
	5	10.0116	10.0111	60,0	60,0	250	2891869	2633202	2.9550	2.6963	73.7894	67.33358	70.56149
	6	10.0093	10.0065	62,5	62,5	250	3504326	3209866	3.5675	3.2730	89.10356	81.77177	85.43767
	7	10.1133	10.0022	65,0	65,0	250	3097800	3300958	3.1609	3.3641	78.13797	84.08373	81.11085
Onggok Umbi garut	1	11.0088	10.1097	50,0	50,0	250	2269487	2363785	2.3326	2.4269	52.97167	60.01454	56.4931
	2	10.0088	10.0087	52,5	52,5	250	2205179	2133445	2.2683	2.1966	56.65789	54.86667	55.76228
	3	10.0020	10.0025	55,0	55,0	250	2489925	2561204	2.5531	2.6243	63.81364	65.59198	64.70281
	4	10.0076	10.0060	57,5	57,5	250	2081087	2010704	2.1442	2.0738	53.56474	51.81479	52.68976
	5	10.2300	10.0200	60,0	60,0	200	2485685	2559608	2.5488	2.6227	49.83022	52.35008	51.09015

LAMPIRAN 6
Kadar Glukosa selama Fermentasi

Sampel	Bobot sampel (g)		Bobot yeast extract (g)		Bobot enzim (g)		Bobot pepton (g)		Volume (mL)	Kadar glukosa (%)									
	A	B	A	B	A	B	A	B		Jam ke-									
										0	3	6	12	24	36	48	60	72	
YPG	5.0023	5.0032	2.5043	2.4990	0.0657	0.0656	5.0000	5.0000	250	1.108	1.163	0.838	0.962	0.907	0.974	1.117	1.025	1.053	
Onggok umbi garut	1	5.9979	6.0012	2.0200	2.0032	0.0394	0.0393	3.9851	3.9851	250	2.430	2.413	2.544	2.288	1.896	1.603	1.700	1.623	1.546
	2	6.0096	5.9997	2.0034	2.0124	0.0392	0.0393	4.2698	4.2698	250	2.424	2.426	2.258	2.115	1.676	1.711	1.821	1.787	1.929
	3	5.9794	6.0124	2.0032	2.0021	0.0394	0.0394	4.5440	4.5440	250	2.421	2.415	2.353	2.612	2.017	2.010	2.019	1.950	1.945
	4	6.2313	6.3254	2.0127	2.0049	0.0395	0.0394	4.7540	4.7540	250	2.443	2.439	2.457	2.152	2.027	1.561	1.593	1.573	1.513
	5	6.0156	6.1109	2.0223	2.0038	0.0394	0.0396	5.1240	5.1240	250	2.454	2.443	2.363	2.247	2.065	2.022	2.100	2.075	1.876
	6	6.2955	6.0783	2.0452	2.0192	0.0398	0.0392	-	-	250	0.907	1.198	0.884	0.880	1.153	0.863	0.655	0.626	0.643
Onggok singkong	1	10.0637	10.0423	2.5066	2.5010	0.0656	0.0656	3.9851	3.9851	200	2.449	2.408	2.369	2.242	2.292	2.269	2.190	2.175	2.126
	2	10.0670	10.0220	2.5120	2.5116	0.0657	0.0655	4.2698	4.2698	200	2.422	2.425	2.311	2.396	2.203	2.165	2.216	2.215	2.053
	3	10.0241	10.0032	2.5099	2.5085	0.0654	0.0657	4.5440	4.5440	200	2.481	2.457	2.384	2.152	2.006	2.020	2.046	2.039	1.954
	4	10.0053	10.0100	2.5048	2.5147	0.0656	0.0656	4.7540	4.7540	200	2.454	2.454	2.416	2.230	1.946	1.951	1.946	1.939	1.889
	5	10.0687	10.0685	2.5223	2.5119	0.0658	0.0657	5.1240	5.1240	200	2.263	2.291	2.012	2.024	2.417	2.172	2.315	2.172	2.220
	6	10.0361	10.0542	2.5196	2.5200	0.0656	0.0656	-	-	200	0.902	1.185	0.948	0.976	0.968	0.950	0.936	0.928	0.889

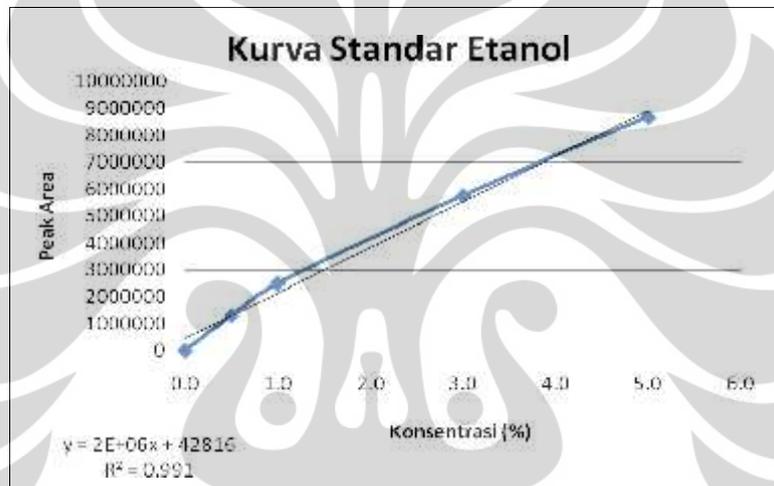
LAMPIRAN 7

Jumlah Koloni Sel *S. cereviciae* selama Fermentasi

Sampel	Variasi	Jam ke- (jumlah koloni)							
		0	3	6	12	24	36	48	72
	YPG	990000	7850000	13250000	13850000	24200000	23600000	28000000	31500000
Onggok umbi garut	1	9800000	11050000	10450000	27000000	23000000	26550000	31100000	30250000
	2	10550000	20700000	20600000	23550000	37400000	37000000	46000000	47500000
	3	9800000	22600000	25550000	18050000	54700000	59000000	83000000	91000000
	4	8850000	27950000	28550000	16100000	79000000	89500000	110500000	105500000
	5	8800000	16550000	17400000	21950000	79500000	73500000	89000000	80000000
	6	2190000	24500000	1900000	2820000	6300000	6100000	6650000	7600000
Onggok singkong	1	1315000	15550000	15750000	30700000	33800000	31500000	52500000	50000000
	2	1105000	14650000	15300000	29900000	53500000	62000000	76500000	75000000
	3	280000	17200000	16500000	29250000	65000000	57000000	87500000	57500000
	4	1440000	15000000	15450000	34000000	64000000	83000000	85000000	75500000
	5	750000	14850000	13950000	33500000	46000000	70000000	73000000	68000000
	6	1920000	10550000	12900000	18500000	20000000	50000000	40000000	40000000

LAMPIRAN 8
Kadar Standar Etanol

Konsentrasi (%)	Peak area
0.0	0.00
0.5	1309850
1.0	2503095
3.0	5758266
5.0	8689898



LAMPIRAN 9
Kadar Etanol selama Fermentasi

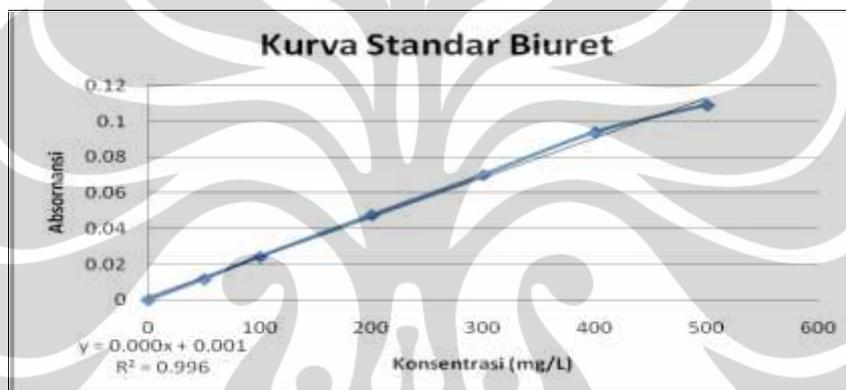
Sampel	Variasi	Bobot sampel (g)	Volume larutan (mL)	Kadar etanol hasil HPLC (%)					Yield etanol (%)				
				Jam ke-					Jam ke-				
				0	12	24	48	72	0	12	24	48	72
	YPG*	5.0000	250	0.0000	0.4813	0.4692	0.3400	0.2589	0.0000	24.0637	23.4609	16.9984	12.9441
Onggok umbi garut	1	5.9979	250	0.0000	0.2358	0.1979	0.1772	0.2359	0.0000	9.8274	8.2476	7.3851	9.8312
	2	6.0096	250	0.0000	0.4687	0.3974	0.2046	0.2351	0.0000	19.4961	16.5326	8.5106	9.7791
	3	5.9794	250	0.0000	0.2010	0.1975	0.1269	0.0764	0.0000	8.4057	8.2588	5.3075	3.1945
	4	6.2313	250	0.0000	0.2767	0.3676	0.2291	0.1930	0.0000	11.1002	14.7491	9.1908	7.7450
	5	6.0156	250	0.0000	0.2274	0.3318	0.2633	0.2021	0.0000	9.4524	13.7899	10.9439	8.3977
	6	6.2955	250	0.0000	0.1953	0.1970	0.2570	0.3382	0.0000	7.7538	7.8245	10.2064	13.4285
Onggok singkong	1	10.0637	200	0.0000	0.5941	0.5988	0.2571	0.1440	0.0000	11.8074	11.9006	5.1086	2.8627
	2	10.0670	200	0.0000	0.5900	0.6115	0.2626	0.2333	0.0000	11.7219	12.1494	5.2170	4.6353
	3	10.0241	200	0.0000	0.4963	0.4116	0.3684	0.5368	0.0000	9.9022	8.2116	7.3500	10.7100
	4	10.0053	200	0.0000	0.5239	0.4883	0.1776	0.0739	0.0000	10.4727	9.7609	3.5506	1.4775
	5	10.0687	200	0.0000	0.5479	0.4564	0.0758	0.0492	0.0000	10.8823	9.0664	1.5060	0.9772
	6	10.0361	200	0.0000	0.0491	-0.0214	0.0436	0.0137	0.0000	0.9778	-0.4266	0.8697	0.2726

* yield YPG berbasis bobot glukosa yang ada dalam larutan.

LAMPIRAN 10

Kadar Nitrogen selama Fermentasi

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
0	0
50	0.0117
100	0.0243
200	0.0475
300	0.0700
400	0.0938
500	0.1091

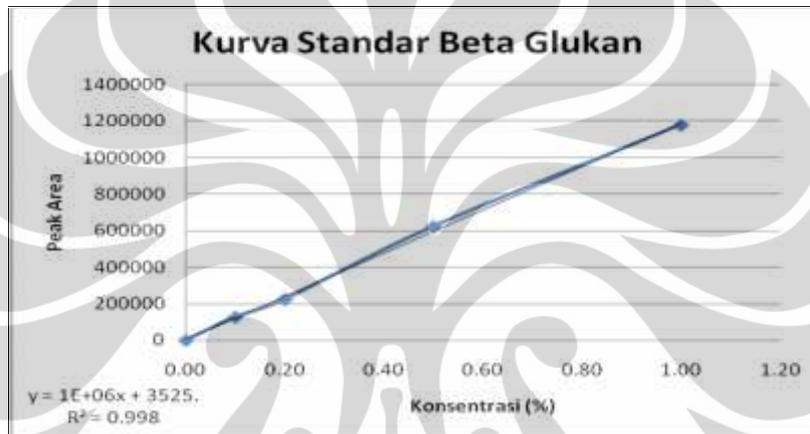


Sampel	Variasi	Kadar Nitrogen (mg/L)				
		Jam ke -				
		0	12	24	48	72
	YPG*	9954.21	9209.12	8062.54	6865.66	4409.4
Onggok umbi garut	1	15023.9	14060.27	13852.74	11876.39	9023.65
	2	16875.06	15098.46	16880.75	12086.66	11440.04
	3	18056.73	17409.33	16958.67	14542.95	13058.43
	4	18765.54	17430.2	16442.09	14307.43	12019.82
	5	19777.44	19420.23	17268.22	14068.65	12330.38
	6	129.04	119.23	113.4	185.2	109.53
Onggok Singkong	1	15604.1	14398.4	13793.85	11455.44	9355.98
	2	16860.05	15589.9	14705.98	12699.23	11990.76
	3	18501.53	17086.55	16806.22	14689.54	12007.75
	4	18769.55	17568.33	16733.66	14504.21	12112.6
	5	19879.23	18982.83	17069.71	15589.87	13913.8
	6	103.44	339.79	125.98	226.22	121.77

LAMPIRAN 11

Kadar Beta Glukan Hasil Fermentasi

Konsentrasi (%)	Peak area
0.00	0
0.10	126558
0.20	223891
0.50	621902
1.00	1178943



Sampel	Variasi	peak area	konsentrasi (%)
BLK		230195	0.2267
YPG		880718	0.8772
Onggok umbi garut	1	204428	0.2009
	2	328088	0.3246
	3	511012	0.5075
	4	509868	0.5063
	5	503628	0.5001
	6	302026	0.2985
Onggok singkong	1	1101953	1.0984
	2	1103781	1.1003
	3	1236121	1.2326
	4	1212281	1.2088
	5	1113446	1.1099
	6	440904	0.4374

LAMPIRAN 12
Kadar Pati Onggok Ubi Kayu



LAMPIRAN 13
Kadar Pati Onggok Umbi Garut



Lampiran 14
Hasil Ekstraksi β Glukan

Sampel		Bobot kosong (g)	Bobot kosong + contoh (g)	bobot beta glukan per 40 mL(g)	bobot beta glukan per Liter (g)	Pellet Beta Gukan (%)	terhadap hasil HPLC , yield (%)
YPG		12.4128	12.6754	0.2626	6.565	0.66	74.84
Ongkok umbi garut	1	12.4212	12.4431	0.0219	0.5475	0.05	27.25
	2	12.5957	12.6501	0.0544	1.36	0.14	41.90
	3	12.2523	12.3287	0.0764	1.91	0.19	37.64
	4	12.5976	12.6658	0.0682	1.705	0.17	33.67
	5	12.4117	12.4592	0.0475	1.1875	0.12	23.75
	6	12.5444	12.5958	0.0514	1.285	0.13	43.05
Ongkok singkong	1	12.5648	12.5851	0.0203	0.5075	0.05	4.62
	2	12.6019	12.6488	0.0469	1.1725	0.12	10.66
	3	12.9705	13.0412	0.0707	1.7675	0.18	14.34
	4	12.5475	12.5929	0.0454	1.135	0.11	9.39
	5	12.4467	12.5049	0.0582	1.455	0.15	13.11
	6	12.6264	12.6689	0.0425	1.0625	0.11	24.29
S. cereviciae liar (medium YPG)		12.6241	12.6978	0.0737	1.8425	0.18	81.29