

**PRODUKSI XILITOL DARI HIDROLISAT TONGKOL JAGUNG OLEH
KHAMIR PENGHASIL ENZIM *Xylose Reductase* (XR)**

NIEZHA EKA PUTRI

0304030367



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN KIMIA

DEPOK

2008

**PRODUKSI XILITOL DARI HIDROLISAT TONGKOL JAGUNG OLEH
KHAMIR PENGHASIL ENZIM *Xylose Reductase* (XR)**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh:

NIEZHA EKA PUTRI

0304030367



DEPOK

2008

SKRIPSI : PRODUKSI XILITOL DARI HIDROLISAT TONGKOL JAGUNG

OLEH KHAMIR PENGHASIL ENZIM *Xylose Reductase* (XR)

NAMA : NIEZHA EKA PUTRI

NPM : 0304030367

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 1 Juli 2008

Dr. ENDANG SAEPUDIN

PEMBIMBING I

Dra. SRI HANDAYANI, M. Kes.

PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana : 10 Juli 2008

Penguji I : Prof. Dr. Sumi Hudyono

Penguji II : Dra. Siswati Setiasih, M. Si.

Penguji III : Dr. Herry Cahyana

*Siang dan malam di dunia ini engkau mencari ketenteraman dan kedamaian,
walaupun sesungguhnya tidak mungkin engkau mencapai mereka di dunia.
Namun demikian, pencarianmu tentu tidak sia-sia.*

*Ketenteraman dan kedamaian bisa hadir, meski hanya sekejap.
Kedamaian apapun yang engkau temukan di dunia ini, tidak abadi.
Kehadirannya bagaikan kilat yang menyambar.
Ia hadir disertai situasi penuh guntur, hujan, salju, dan godaan.*

*Sekarang orang lebih memilih buah-buahan lain dibanding gula sambil menyatakan,
"Kami telah berpengalaman dengan rasa pahit yang amat banyak agar bisa
mencapai derajat kemanisan."*

*Apa yang engkau ketahui tentang nikmatnya rasa manis ketika belum pernah
mengalami kerasnya rasa pahit?*

*Apabila engkau memiliki minyak wangi di dalam kotak dengan leher pendek,
engkau letakkan jemarimu ke dalamnya.
Engkau tidak dapat mengeluarkan minyak itu.*

*Tetapi, setidaknya jemarimu menjadi wangi dan karena itu indera penciumanmu
terpuaskan.*

Mengingat Tuhan adalah seperti hal itu.

*Meskipun engkau tidak mampu mencapai hakikat-hakikat-Nya, mengingat Dia
akan berdampak banyak, dan kemanfaatannya yang agung akan berlipat ganda.*

(Jalaluddin Rumi)

KATA PENGANTAR

Tiada kata yang lebih tepat penulis ucapkan, selain puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat, kasih sayang, dan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini tepat pada waktunya. Salawat serta salam semoga senantiasa terlimpahkan kepada Rasulullah SAW yang merupakan suri tauladan bagi semesta alam.

Pada kesempatan ini secara khusus penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada Dr. Endang Saepudin selaku pembimbing I yang dengan tulus ikhlas, penuh kesabaran dan pengertian telah memberikan bimbingan, arahan, dan bantuan pemikiran yang tak ternilai selama penelitian ini, juga kepada Dra. Sri Handayani, M. Kes. selaku pembimbing akademis dan pembimbing II atas bimbingan yang sangat berharga selama kuliah serta penelitian.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Dr. Ridla Bakri selaku ketua Departemen Kimia FMIPA UI, Dra. Tresye Utari, M.Si. selaku koordinator penelitian yang telah memberikan kesempatan dan bantuan dalam penelitian, kepada seluruh dosen Departemen Kimia FMIPA UI yang tidak hanya memberikan begitu banyak ilmu yang bermanfaat, tetapi juga telah menjadi sumber inspirasi yang berarti bagi penulis, serta kepada Pak Hedi S., Mbak Ema, Mbak Tri, Mbak Ina, Mbak Cucu, Pak Amin, Pak Kiri, dan seluruh staf Departemen Kimia yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian.

Rasa terimakasih yang begitu dalam juga penulis sampaikan kepada orang-orang yang sangat berarti bagi penulis:

1. kepada ibu dan bapak yang telah berkorban begitu besar dalam segala hal, yang telah mengajarkan kesabaran, kerja keras, dan semangat hidup yang sangat berarti bagi penulis. Kepada kedua adikku, Riezha dan Riyan, atas dukungan dan doanya selama ini bagi penulis serta kepada seluruh keluarga besar yang terus mendoakan dan mendukung penulis untuk terus berjuang.
2. kepada Ahmad Faisal, rekan seperjuangan dalam menghasilkan xilitol, atas bantuan dan kerja samanya selama 6 bulan ini, serta kepada Riki atas arahan dan diskusi selama penelitian.
3. kepada Andika Nurdiansyah, yang telah banyak memberikan dukungan di saat penulis mengalami masa-masa sulit, memberikan semangat ketika penulis merasa jatuh, serta perhatian dan pengertiannya selama ini (khususnya 6 bulan terakhir).
4. kepada Septiana Dwi Puspasari, untuk persahabatan yang indah selama 7 tahun ini (7 tahun bukan waktu yang singkat, tapi ternyata kita mampu melewati semuanya).
5. kepada Eka, Indah, dan Yunita, untuk persahabatan selama 4 tahun ini, dan terima kasih karena telah memberikan warna-warni yang indah selama masa kuliah.

6. kepada Irwan, Danar, dan Ridlo, terima kasih karena kalian sudah mau menjadi teman dan tempat berbagi cerita (maaf sering menyusahkan kalian).
7. kepada Ami, Atri, dan Ratna, teman-teman satu kost yang sering mengingatkan penulis untuk tetap kuat dan semangat dalam menjalani penelitian.
8. kepada rekan-rekan seperjuangan di lantai 4 (Tina, Kiki, Ima, Tya, Fitri, Lindi, Wakhid, Vero, Uthe, Citra, Janti, Ari, Kurnia, Kak Vera, Kak Dewi, Kak Laeli, dan Kak Wawan), rekan-rekan seperjuangan di lantai 3 (Nur, Farida, Bernat, Atul, Opik, Hamim, Nath, Lani, Basit, Kak Santi, Kak Ela, Kak Dina, dan Kak Vena), serta teman-teman 2004 yang lainnya, terima kasih atas dukungan dan bantuan selama penelitian (terima kasih juga untuk pinjaman alat-alatnya ya).
9. kepada teman-teman angkatan 2002, 2003, serta adik-adik angkatan 2005, 2006, dan 2007, atas dukungannya selama ini.

Dengan sepenuhnya penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka dengan segala rendah hati penulis membuka diri bila ada saran dan pendapat untuk perbaikan.

Semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua.

Juni 2008

Penulis

ABSTRAK

Xilitol merupakan pemanis yang secara alami terdapat dalam sayuran dan buah-buahan serta memiliki beberapa keunggulan, salah satunya adalah bersifat nonkariogenik. Xilitol dapat diproduksi dari xilosa, baik melalui proses fermentasi maupun secara kimiawi. Xilosa dihasilkan melalui proses hidrolisis hemiselulosa yang banyak terdapat dalam limbah lignoselulosa seperti tongkol jagung. Dalam penelitian ini dilakukan hidrolisis terhadap tongkol jagung untuk menghasilkan xilosa yang akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan xilitol melalui proses fermentasi. Hidrolisis dilakukan pada konsentrasi asam 0,3 M, waktu hidrolisis 25 menit, serta suhu 121 °C. Berdasarkan hasil pengukuran, didapatkan kadar xilosa sebesar 34,34% (w/w) dengan persen hidrolisis 95,39 % (w/w). Xilosa yang dihasilkan kemudian difermentasikan oleh khamir penghasil enzim *xylose reductase* (XR), yaitu *Candida fukuyamaensis* dan *Candida boidinii*. Dihasilkan kadar xilitol sebesar 0,23 g/L dengan persen konversi 3,59 % (w/w) dan persen yield 0,68% dari fermentasi menggunakan *C. fukuyamaensis*, sedangkan untuk fermentasi menggunakan *C. boidinii* didapatkan kadar xilitol sebesar 0,084 g/L dengan persen konversi 1,38% (w/w) dan persen yield 0,25%.

Kata kunci: *Candida*, fermentasi, hidrolisis, tongkol jagung, xilitol, xilosa, *xylose reductase*

xiii + 92 hlm.; gbr.; lamp.; tab.

Bibliografi: 38 (1992 – 2007)

DAFTAR ISI

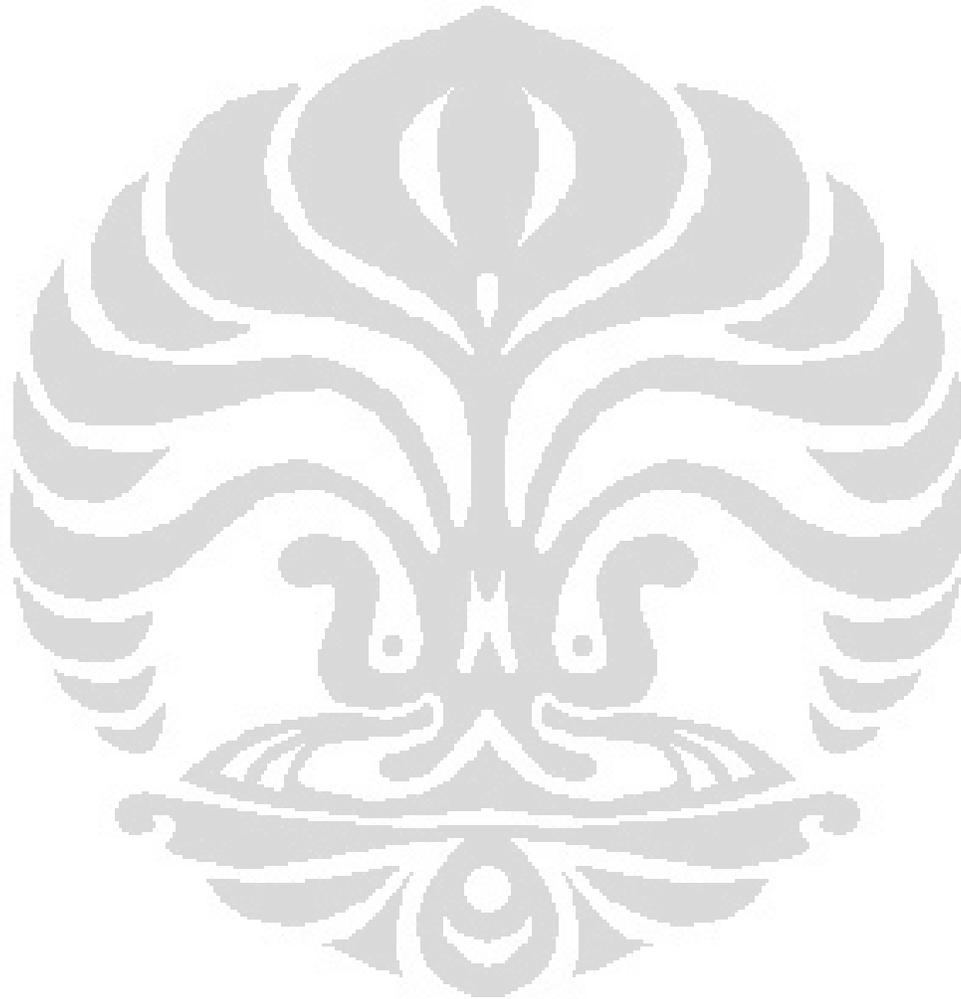
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Xilitol	6
2.1.1 Sejarah Singkat Xilitol	6
2.1.2 Sifat Fisika Kimia Xilitol	6
2.1.3 Keunggulan Xilitol Dibandingkan Pemanis Lain..	7
2.1.4 Manfaat Xilitol	8
2.1.5 Proses Produksi Xilitol	9

2.2 Xilosa	9
Sifat Fisika Kimia Xilosa.....	9
2.3 Lignoselulosa	10
2.3.1 Hemiselulosa	11
2.3.1.1 Xilan	11
2.3.1.2 Mannan	13
2.3.1.3 Galaktan	14
2.3.2 Selulosa	14
2.4 Jagung	17
2.4.1 Sejarah dan Penyebaran Jagung	17
2.4.2 Taksonomi Jagung	17
2.4.3 Kandungan Gizi Jagung	18
2.4.4 Tongkol Jagung	19
2.5 Hidrolisis	21
2.6 Fermentasi	24
2.6.1 Proses Fermentasi	25
2.6.1.1 Fermentasi Cair	25
2.6.1.2 Solid State Fermentation (Fermentasi Padat)	26
2.6.2 Penggolongan Produk Fermentasi	26
2.6.2.1 Berdasarkan Letak Produksi	26
2.6.2.2 Berdasarkan Peran dalam Metabolisme	26

2.6.2.3 Berdasarkan Waktu Produksi	27
2.7 Khamir	28
<i>Candida</i>	28
BAB III PROSEDUR PENELITIAN	32
3.1 Alat dan Bahan	32
3.1.1 Alat-alat yang Digunakan	32
3.1.2 Bahan-bahan yang Digunakan	32
3.2 Prosedur Kerja	33
3.2.1 Pembuatan Sampel Tongkol Jagung	33
3.2.2 Hidrolisis Sampel Tongkol Jagung dengan Asam	33
3.2.3 Pembuatan Larutan Standar	34
3.2.3.1 Larutan Standar Xilosa	34
3.2.3.2 Larutan Standar Xilitol	34
3.2.3.3 Larutan Standar Glukosa	35
3.2.3.4 Larutan Standar Arabinosa	35
3.2.4 Penyiapan Inokulum	35
3.2.5 Fermentasi	36
3.2.6 Penentuan Jumlah Sel Khamir	36
3.2.7 Variasi Kondisi	36
3.2.8 Analisis Produk dengan Alat HPLC Shimadzu dengan Kolom Kalsium Karbohidrat dan Fasa	

Gerak Akuasi Destilat	37
3.2.9 Diagram Kerja Secara Umum	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Sampling Tongkol Jagung	41
4.2 Pembuatan Sampel Tongkol Jagung	42
4.3 Hidrolisis Tongkol Jagung	43
4.4 Identifikasi Standar Karbohidrat	45
4.5 Hasil Hidrolisis	46
4.5.1 Variasi Bentuk Substrat Tongkol Jagung	48
4.5.2 Variasi Konsentrasi Asam	50
4.5.3 Variasi Waktu Hidrolisis	51
4.6 Fermentasi	52
4.7 Hasil Fermentasi	53
4.7.1 Kelompok Kontrol	54
4.7.2 Variasi Spesies <i>Candida</i>	57
4.7.3 Variasi Kondisi Fermentasi	59
4.7.4 Variasi Kondisi Hidrolisat (Dengan dan Tanpa Ampas)	59
4.8 Penghitungan Jumlah Sel Khamir	61
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	64
5.1 Kesimpulan	64

5.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	71



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur xilitol	7
Gambar 2.2	Struktur xilosa.....	10
Gambar 2.3	Lignoselulosa dalam dinding sel tanaman	10
Gambar 2.4	Struktur dasar arabinoglukuronoxilan	12
Gambar 2.5	Struktur dasar glukuronoxilan.....	12
Gambar 2.6	Struktur dasar galaktoglukomanan.....	13
Gambar 2.7	Struktur dasar glukomanan.....	13
Gambar 2.8	Struktur dasar arabinogalaktan.....	14
Gambar 2.9	Selulosa	15
Gambar 2.10	Skema ikatan hidrogen pada rantai selulosa	15
Gambar 2.11	Serat selulosa	16
Gambar 2.12	Skema struktur fibril.....	16
Gambar 2.13	Jagung	18
Gambar 2.14	Tanaman jagung	18
Gambar 2.15	Mekanisme hidrolisis asam pada ikatan glikosida	24
Gambar 2.16	Jalur regenerasi metabolit dan kofaktor dari metabolisme D-xilosa pada khamir	30
Gambar 2.17	<i>Candida boidinii</i>	31
Gambar 3.1	Bagan kerja hidrolisis	38
Gambar 3.2	Bagan kerja fermentasi	39

Gambar 3.3	Bagan kerja setelah fermentasi	40
Gambar 4.1	Reaksi β -D-xilopiranosida menjadi furfural.....	44
Gambar 4.2	Reaksi β -D-glukopiranosida menjadi HMF.....	45
Gambar 4.3	Kromatogram standar karbohidrat	45
Gambar 4.4	Kromatogram standar xilitol	46
Gambar 4.5	Kromatogram hidrolisat tongkol jagung pada kondisi optimum	47
Gambar 4.6	Substrat tongkol jagung	49
Gambar 4.7	Kromatogram hasil fermentasi menggunakan xilosa murni oleh <i>C. fukuyamaensis</i>	55
Gambar 4.8	Kromatogram hasil fermentasi menggunakan xilosa murni oleh <i>C. boidinii</i>	55
Gambar 4.9	Kromatogram hidrolisat tanpa penambahan khamir	57
Gambar 4.10	Hidrolisat tongkol jagung yang digunakan untuk fermentasi	60
Gambar 4.11	Hasil TPC <i>C. fukuyamaensis</i>	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbandingan tingkat kemanisan dan nilai kalori antara xilitol dan pemanis lain	8
Tabel 2.2	Komposisi kimia dan zat gizi jagung kuning pipilan per 100 g	19
Tabel 2.3	Komposisi tongkol jagung	20
Tabel 4.1	Kadar xilosa pada hidrolisat	49
Tabel 4.2	Kadar xilosa pada hidrolisat	50
Tabel 4.3	Kadar xilosa pada hidrolisat	51
Tabel 4.4	Hasil fermentasi variasi spesies menggunakan substrat xilosa murni	56
Tabel 4.5	Hasil fermentasi variasi spesies menggunakan substrat hidrolisat	58
Tabel 4.6	Hasil fermentasi variasi kondisi fermentasi	59
Tabel 4.7	Hasil fermentasi variasi hidrolisat	60
Tabel 4.8	Kadar xilosa dalam hidrolisat	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kromatogram standar xilosa	71
Lampiran 2	Kromatogram standar xilitol.....	74
Lampiran 3	Kromatogram hasil pengukuran HPLC untuk hidrolisat	75
Lampiran 4	Kromatogram hasil pengukuran HPLC untuk variasi spesies <i>Candida</i> , kondisi fermentasi, dan kondisi hidrolisat	79
Lampiran 5	Tabel pengelompokan data hasil pengukuran dengan HPLC	85
Lampiran 6	Data hasil perhitungan kadar xilosa pada hidrolisat terhadap berbagai variasi	87
Lampiran 7	Data perhitungan hasil fermentasi	89

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Hingga kini kesadaran orang untuk merawat kesehatan gigi dan mulut secara serius masih sangat kurang. Padahal, tingkat kesehatan mulut dapat dijadikan indikator derajat kesehatan tubuh seseorang secara keseluruhan. Telah banyak hasil riset yang membuktikan bahwa adanya infeksi mulut berkaitan dengan penyakit jantung dan paru-paru, berat bayi lahir yang rendah, kelahiran prematur, dan diabetes.

Ada empat faktor penyebab kerusakan gigi, yaitu makanan (terutama senyawa gula dan asam), bakteri mulut, kepekaan gigi, dan lama waktu kontak senyawa asam dengan gigi.^[1] Bahan pangan berpati yang telah dimasak dan gula dapat secara mudah difermentasi oleh bakteri mulut menjadi senyawa asam. Makanan atau minuman yang mengandung sukrosa berpotensi sebagai penyebab gigi berlubang, padahal sukrosa merupakan gula yang biasa dikonsumsi sehari-hari dan penggunaannya sulit dihindari, terutama dalam lingkungan rumah tangga. Untuk itu, perlu dicari pemanis alternatif yang aman dan menyehatkan gigi, salah satunya adalah xilitol.

Xilitol ($C_5H_{12}O_5$) merupakan pemanis alami yang mempunyai sifat nonkariogenik, yaitu dapat melindungi gigi dari kerusakan seperti karies gigi. Hal ini disebabkan xilitol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Selain itu, xilitol mempunyai nilai indeks glikemik yang

rendah, yaitu tidak meningkatkan gula darah dalam tubuh dan dimetabolisme tanpa menggunakan insulin, sehingga sangat baik untuk penderita diabetes. Walaupun demikian, tingkat kemanisan xilitol sama dengan sukrosa.^[2,3]

Penelitian tentang xilitol pun semakin berkembang, di antaranya penelitian yang membuktikan bahwa xilitol dapat mengurangi infeksi pada telinga, sinusitis, dan osteoporosis.^[3,4] Dengan beragamnya manfaat xilitol, hingga kini xilitol telah banyak digunakan, antara lain untuk pemanis pasta gigi, permen karet, sirup obat batuk, multivitamin, dan obat pencuci mulut.^[5]

Xilitol dapat diproduksi dari xilosa, baik secara fermentasi maupun kimiawi.^[6] Xilosa ($C_5H_{10}O_5$) merupakan monosakarida yang dihasilkan dari hidrolisis hemiselulosa berupa xilan. Xilosa dikenal sebagai gula kayu, karena banyak terdapat dalam kayu yang kaya akan hemiselulosa.^[7]

Hemiselulosa diperoleh dengan memanfaatkan limbah lignoselulosa, yang terutama mengandung selulosa 35-50%, hemiselulosa 20-35%, dan lignin 10-25%.^[6] Limbah lignoselulosa yang melimpah jumlahnya di Indonesia antara lain sekam padi, ampas tapioka, sabut dan tandan kelapa sawit, ampas tebu, serta tongkol jagung.

Jagung merupakan salah satu produk pertanian yang banyak dihasilkan di negara Indonesia. Pemanfaatan jagung saat ini sangat beraneka ragam, mulai dari bahan pangan hingga bioenergi. Buah jagung terdiri atas 30% limbah yang berupa tongkol jagung. Namun, pemanfaatan limbah tongkol jagung di Indonesia masih terbatas. Beberapa perusahaan pengolahan jagung umumnya memanfaatkan limbah tongkol jagung sebagai

bahan bakar untuk *boiler* dan pakan ternak. Padahal, kandungan hemiselulosa dalam tongkol jagung cukup tinggi, yaitu sebesar 36%.^[8] Bila hemiselulosa ini dihidrolisis maka akan didapatkan komponen penyusunnya, yang umumnya merupakan monosakarida yang tersusun atas lima buah rantai karbon. Salah satu hasil hidrolisis hemiselulosa ini adalah xilosa yang dapat diolah lebih lanjut menjadi produk bernilai ekonomi tinggi seperti xilitol. Dalam penelitian ini, metode yang dilakukan untuk mendapatkan xilosa dari tongkol jagung adalah dengan cara hidrolisis kimiawi.

Setelah tongkol jagung dihidrolisis, akan didapatkan xilosa serta beberapa karbohidrat lainnya seperti sukrosa, glukosa, dan fruktosa sebagai produk samping. Mikroorganisme seperti khamir, bakteri, dan fungi berfilamen telah dikenal dapat menghasilkan xilitol menggunakan D-xilosa. Dalam skala industri, xilitol dapat diproduksi secara kimiawi melalui proses hidrogenasi xilosa, dengan bantuan katalis nikel pada suhu 80-140 °C dan tekanan 50 atm.^[6] Proses kimia ini membutuhkan beberapa tahap pemurnian, karena hanya xilosa murni yang bisa digunakan secara kimia. Selain itu, dari proses kimia ini akan terlepas limbah nikel yang berbahaya bagi lingkungan. Xilitol yang didapat dari proses ini lebih rendah dibandingkan dengan metode fermentasi yakni 60% berbanding 70%. Oleh karena itu, penggunaan metode fermentasi menggunakan khamir yang termasuk dalam genus *Candida*, telah dipelajari sebagai alternatif produksi xilitol dalam skala industri.

1.2 Perumusan Masalah

Dalam penelitian ini akan dilakukan hidrolisis dengan katalis asam terhadap tongkol jagung untuk menghasilkan xilosa. Pada penelitian yang terdahulu,^[9] didapatkan kondisi hidrolisis yang optimum pada konsentrasi H_2SO_4 0,3 M, waktu hidrolisis 25 menit, serta suhu 121 °C. Pada penelitian ini juga digunakan kondisi optimum tersebut. Xilosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis kemudian digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi oleh khamir yang termasuk dalam genus *Candida*. Pada penelitian ini, khamir yang digunakan adalah *Candida fukuyamaensis* dan *Candida boidinii*. Penggunaan kedua spesies khamir tersebut didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan kelompok kami, yaitu oleh Riki. Penelitian tersebut merupakan seleksi terhadap 10 spesies khamir yang dapat menghasilkan xilitol. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa kedua khamir di atas termasuk ke dalam 4 jenis khamir yang menghasilkan kadar xilitol paling tinggi. Miroorganisme ini didapat dari laboratorium mikrobiologi UICC (Universitas Indonesia Culture Collection). Metode fermentasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *batch*.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan tongkol jagung sebagai substrat potensial untuk memproduksi xilitol dengan cara menghidrolisis tongkol jagung secara kimiawi, yang kemudian difermentasikan menggunakan khamir penghasil enzim *xylose reductase* (XR).

Mikroorganisme ini didapat dari laboratorium mikrobiologi UICC (Universitas Indonesia Culture Collection) yang terdapat di Departemen Biologi Universitas Indonesia.

1.4 Hipotesis

1. Hemiselulosa yang terdapat pada tongkol jagung dapat dihidrolisis menjadi xilosa.
2. Hidrolisat tongkol jagung yang mengandung xilosa dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan xilitol dengan cara fermentasi menggunakan khamir penghasil enzim *xylose reductase* (XR). Khamir ini akan mereduksi xilosa menjadi xilitol.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Xilitol

2.1.1 Sejarah Singkat Xilitol

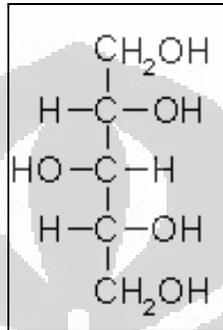
Xilitol merupakan gula alkohol dengan lima atom karbon. Xilitol disebut sebagai pemanis alami karena secara alami ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan serta memiliki tingkat kemanisan yang hampir sama dengan sukrosa.^[2]

Xilitol pertama kali dibuat dari pohon Birch oleh orang-orang Finlandia selama perang dunia kedua. Pada tahun 1930, terjadinya kelangkaan pasokan gula mendorong para peneliti mencari gula alternatif. Bersamaan dengan itu, peneliti menemukan bahwa metabolisme xilitol di dalam tubuh tidak membutuhkan insulin, sehingga di tahun 1960-an xilitol telah dikonsumsi sebagai pengganti gula bagi para penderita diabetes. Pada tahun 1963, *US Food and Drug Administration* (FDA) menyatakan bahwa xilitol tidak mempunyai efek toksik.^[3]

2.1.2 Sifat Fisika Kimia Xilitol ^[10]

Rumus molekul	: $C_5H_{12}O_5$
Berat molekul	: 152,15 g mol ⁻¹
Wujud	: Bubuk atau kristal putih
Bau	: Tidak berbau

Titik leleh	: 92-96 °C
Titik didih	: 126 °C
Harga kalori	: 2,4 kal/g
Densitas	: 1,52 g/cm ³



Gambar 2.1 Struktur xilitol

2.1.3 Keunggulan Xilitol Dibandingkan Pemanis Lain

- Xilitol bersifat nonkariogenik, artinya tidak menyebabkan karies pada gigi, karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik *Streptococcus mutans*.^[2]
- Xilitol sebagai pemanis yang aman digunakan oleh setiap orang. Pernyataan ini telah dikeluarkan oleh *Food and Drug Administration* (FDA).^[5]
- Xilitol memiliki tingkat kemanisan yang sama dengan sukrosa dan lebih manis daripada sorbitol (dapat dilihat pada Tabel 2.1).
- Xilitol mempunyai nilai kalori sebesar 2,4 kal/g, lebih rendah daripada gula pada umumnya, seperti glukosa dengan nilai kalori sebesar 4 kal/g.

Tabel 2.1 Perbandingan tingkat kemanisan dan nilai kalori antara xilitol dan pemanis lain ^[11]

Nama gula	Nilai kalori (kal/g)	Sifat kariogenik	Tingkat kemanisan*
Sukrosa	4	Ya	1,0
Glukosa	4	Ya	0,7
Fruktosa	4	Ya	1,5
Laktosa	4	Ya	0,2
Xilitol	2,4	Tidak	1,0
Sorbitol	2,6	Tidak	0,6
Mannitol	1,6	Tidak	0,5
Maltitol	2,1	Tidak	0,9
Aspartam	0,0	Tidak	180
Sakarín	0,0	Tidak	300

* tingkat kemanisan dibandingkan terhadap nilai sukrosa (sukrosa memiliki tingkat kemanisan = 1)

2.1.4 Manfaat Xilitol ^[3,4,5]

Xilitol dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam mulut, sehingga bermanfaat untuk mencegah karies, pembentukan plak, dan menjaga pH saliva. Berdasarkan penelitian, xilitol juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dalam nasofaring, sehingga dapat mengurangi infeksi telinga tengah dan sinusitis.

Nilai kalori xilitol yang lebih rendah dibandingkan gula lain, seperti glukosa (dapat dilihat pada Tabel 2.1), menyebabkan xilitol sangat baik dikonsumsi oleh mereka yang sedang menjalani program penurunan berat badan. Xilitol memberikan sensasi dingin dan menyejukkan saat berada di mulut.

2.1.5 Proses Produksi Xilitol ^[6]

Xilitol dapat diproduksi secara kimiawi melalui proses hidrogenasi xilosa, dengan bantuan katalis nikel pada suhu 80-140 °C dan tekanan 50 atm. Selain itu, xilitol juga dapat diproduksi secara fermentasi oleh beberapa jenis khamir, seperti *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, dan *Debaryomyces hansenii*.

2.2 Xilosa

Xilosa merupakan gula pentosa yang dikenal sebagai gula kayu dan unit penyusun xilan, sebagai komponen utama dari hemiselulosa.^[7] Salah satu manfaat xilosa adalah sebagai bahan baku pembuatan xilitol. Xilosa dapat diperoleh dari hidrolisis hemiselulosa dengan memanfaatkan limbah lignoselulosa.

Sifat Fisika Kimia Xilosa ^[12]

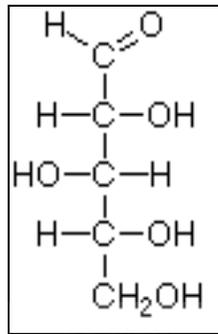
Rumus molekul : $C_5H_{10}O_5$

Berat molekul : 150 g mol^{-1}

Wujud : Bubuk atau kristal putih

Titik leleh : $146 \text{ }^\circ\text{C}$

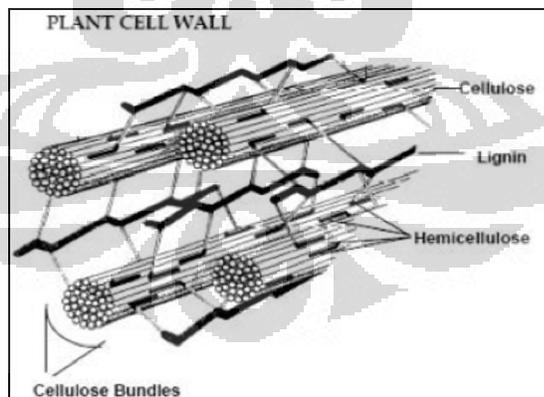
Densitas : $1,52 \text{ g/cm}^3$



Gambar 2.2 Struktur xilosa

2.3 Lignoselulosa

Pada umumnya limbah-limbah pertanian mengandung bahan lignoselulosa, yang terdiri atas tiga komponen utama, yaitu selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%), dan lignin (10-25%).^[6] Lignin merupakan komponen paling keras pada dinding sel tanaman, berupa polimer dari unit-unit fenilpropana yang berikatan silang satu sama lain. Lignin berperan sebagai penguat dan pembentuk dinding sel yang kokoh.



Gambar 2.3 Lignoselulosa dalam dinding sel tanaman ^[13]

2.3.1 Hemiselulosa

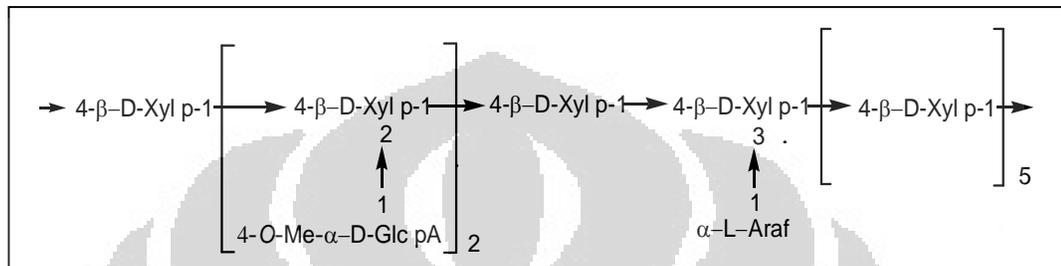
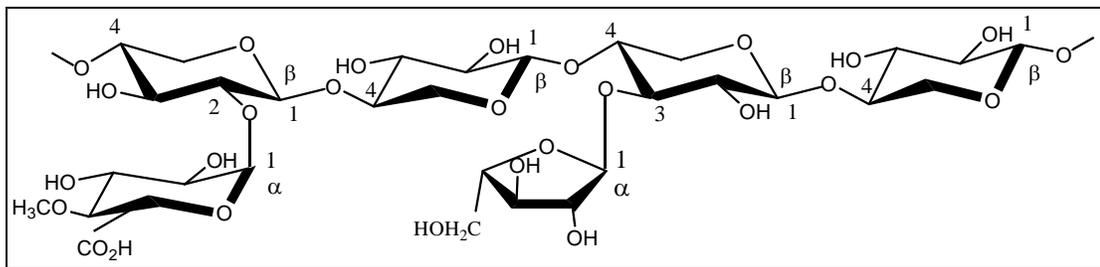
Hemiselulosa merupakan komponen kedua terbesar, yang keberadaannya bersama-sama dengan selulosa berfungsi sebagai bahan pendukung dinding sel tanaman.

Hemiselulosa merupakan heteropolisakarida yang bercabang, terdiri atas beberapa monomer gula yang berbeda, seperti xilosa, arabinosa, dan mannosa. Rantai polimer hemiselulosa memiliki cabang yang pendek dan amorf.^[14] Mayoritas hemiselulosa memiliki derajat polimerisasi hanya sampai 200.^[7] Hemiselulosa mengikat fibril-fibril selulosa untuk membentuk mikrofibril, yang dapat meningkatkan stabilitas dinding sel.^[13]

Komposisi dan struktur hemiselulosa dalam kayu lunak secara khas berbeda dengan yang ada dalam kayu keras. Secara umum hemiselulosa dapat dibagi menjadi tiga subgrup, yaitu xilan, mannan, dan galaktan.^[7]

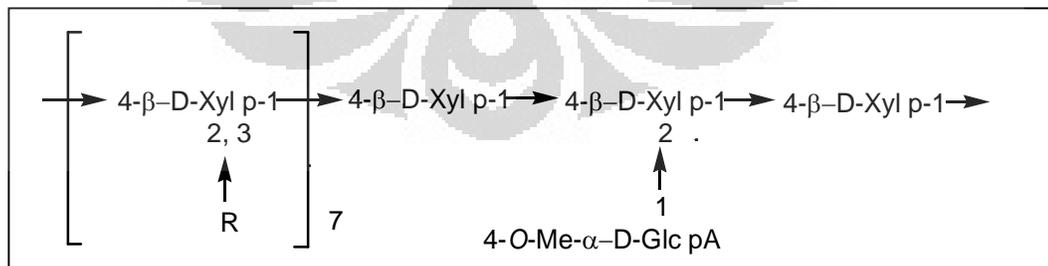
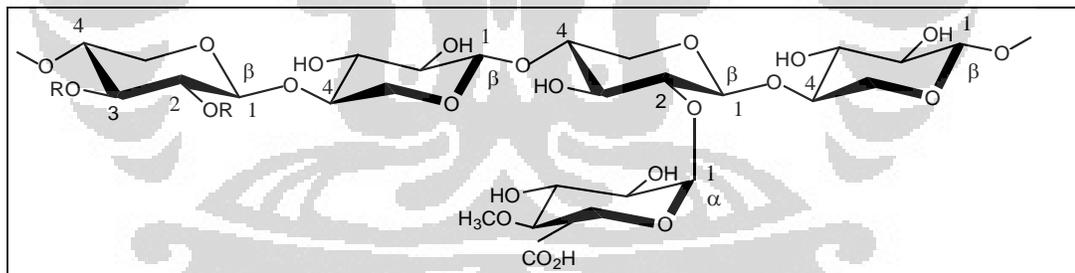
2.3.1.1 Xilan^[7]

Rantai utama xilan terdiri atas kerangka yang mengandung unit-unit ikatan glikosida β -1,4-D-xilopiranosa. Pada kayu lunak, xilan berupa arabinoglukuronoxilan (Gambar 2.4), sedangkan pada kayu keras, xilan berupa glukuronoxilan (Gambar 2.5). Hemiselulosa yang didasarkan pada xilosa dalam kayu lunak dan kayu keras disebut secara sederhana sebagai xilan.



Gambar 2.4 Struktur dasar arabinoglukuronoxilan [7]

Unit-unit gula: β -D-xilopiranososa (Xyl p); asam 4-O-metil- α -D glukopiranosiluronat (Glc pA); α -L-arabinofuranosa (Araf)

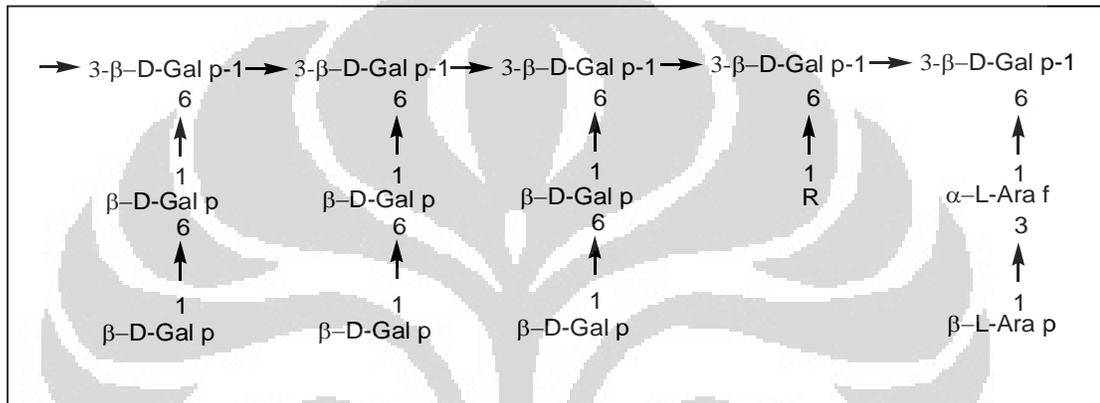


Gambar 2.5 Struktur dasar glukuronoxilan [7]

Unit-unit gula: β -D-xilopiranososa (Xyl p); asam 4-O-metil- α -D glukopiranosiluronat (Glc pA). R adalah gugus asetil (CH_3CO)

2.3.1.3 Galaktan ^[7]

Galaktan terdiri atas arabinogalaktan. Kayu keras mengandung arabinogalaktan dalam jumlah besar, sedangkan spesies kayu lain hanya merupakan substituen yang kecil. Struktur rantai utamanya terdiri dari β -1,3-D-galaktopiranososa (Gambar 2.8).



Gambar 2.8 Struktur dasar arabinogalaktan ^[7]

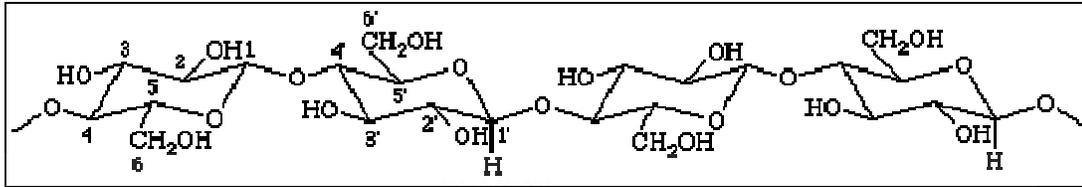
Unit-unit gula: β -D-galaktopiranososa (Gal p), β -L-arabinopiranososa (Ara p), α -L-arabinofuranososa (Ara f), dan R adalah β -D-galaktopiranososa atau kadang-kadang α -L-arabinofuranososa, atau sisa asam β -D glukopiranosiluronat

2.3.2 Selulosa

Selulosa sebagai komponen terbesar dalam dinding sel tanaman, mempunyai derajat polimer lebih besar dari hemiselulosa, yaitu antara 7000-15000 molekul glukosa per polimer. ^[14]

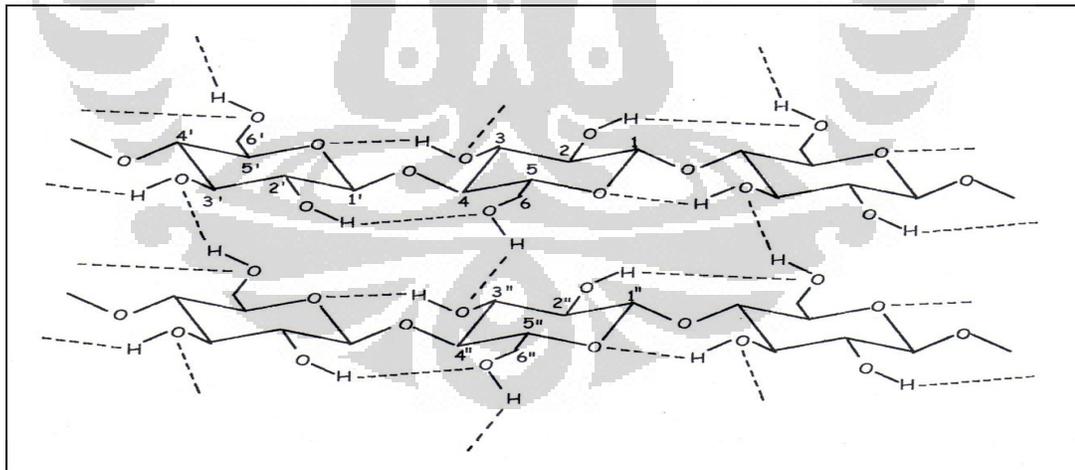
Selulosa terdiri atas unit-unit β -D-glukopiranososa dengan ikatan β -1,4-glikosida, membentuk homopolisakarida yang tersusun linier (Gambar 2.9)

dan memiliki kecenderungan membentuk ikatan hidrogen intra dan intermolekular.^[15]

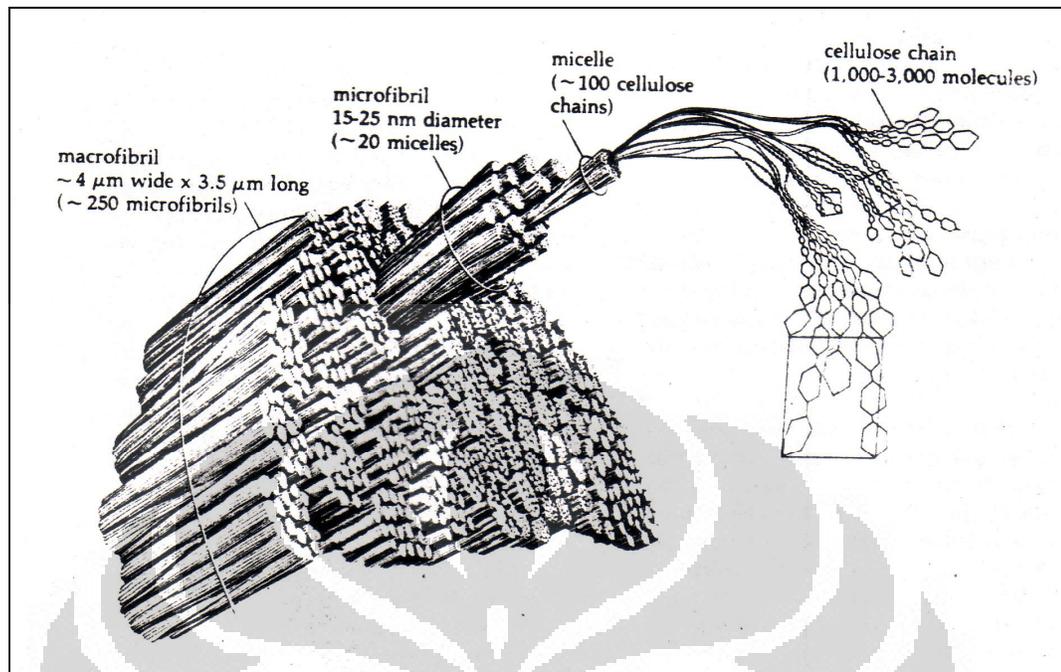


Gambar 2.9 Selulosa ^[15]

Rantai selulosa yang lurus dan panjang saling berhubungan melalui ikatan hidrogen intermolekular membentuk suatu lembaran-lembaran (Gambar 2.10). Lembaran-lembaran tersebut tersusun menjadi suatu lapisan yang akhirnya membentuk mikrofibril yang kristalin. Mikrofibril berinteraksi membentuk serat-serat selulosa yang mengandung sekitar 500 ribu rantai selulosa (Gambar 2.11).^[16]

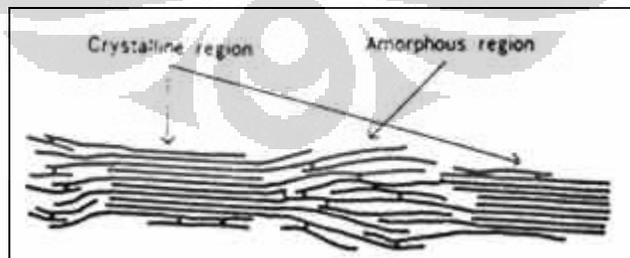


Gambar 2.10 Skema ikatan hidrogen pada rantai selulosa ^[15]



Gambar 2.11 Serat selulosa ^[16]

Beberapa daerah dalam mikrofibril, ada yang kristalin dan lainnya amorf. Rantai selulosa berorientasi sejajar dengan sumbu serat, membentuk daerah kristal yang sangat teratur diselingi dengan daerah amorf yang tidak teratur (Gambar 2.12). Pada bagian amorf inilah selulosa lebih mudah dihidrolisis dengan enzim atau asam untuk menghasilkan glukosa.^[17]



Gambar 2.12 Skema struktur fibril ^[17]

2.4 Jagung ^[18]

2.4.1 Sejarah dan Penyebaran Jagung

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan salah satu tanaman pangan dunia yang terpenting, selain gandum dan padi. Sebagai sumber karbohidrat utama di Amerika Tengah dan Selatan, jagung juga menjadi alternatif sumber pangan di Amerika Serikat. Penduduk beberapa daerah di Indonesia (misalnya di Madura dan Nusa Tenggara) juga menggunakan jagung sebagai bahan pangan pokok. Selain sebagai sumber karbohidrat, jagung juga ditanam sebagai pakan ternak (hijauan maupun tongkolnya), diambil minyaknya (dari biji), dibuat tepung (dari biji, dikenal dengan istilah tepung jagung atau maizena), dan bahan baku industri (dari tepung biji dan tepung tongkolnya). Tongkol jagung kaya akan pentosa, yang dipakai sebagai bahan baku pembuatan furfural.

Berdasarkan bukti genetik, antropologi, dan arkeologi diketahui bahwa daerah asal jagung adalah Amerika Tengah (Meksiko bagian selatan). Budidaya jagung telah dilakukan di daerah ini 10.000 tahun yang lalu, lalu teknologi ini dibawa ke Amerika Selatan (Ekuador) sekitar 7000 tahun yang lalu, dan mencapai daerah pegunungan di Selatan Peru pada 4000 tahun yang lalu.

2.4.2 Taksonomi Jagung

Taksonomi tanaman jagung adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Poales
Famili : Poaceae
Genus : *Zea*
Spesies : *Zea mays* L.



Gambar 2.13 Jagung ^[18]



Gambar 2.14 Tanaman jagung ^[18]

2.4.3 Kandungan Gizi Jagung ^[19]

Biji jagung kaya akan karbohidrat, yang sebagian besar berada pada endospermium. Kandungan karbohidrat dapat mencapai 80% dari seluruh bahan kering biji. Karbohidrat dalam bentuk pati umumnya berupa campuran amilosa (27%) dan amilopektin (73%). Pada jagung ketan, sebagian besar

atau seluruh patinya merupakan amilopektin. Perbedaan ini tidak banyak berpengaruh pada kandungan gizi, tetapi lebih berarti dalam pengolahan sebagai bahan pangan. Jagung manis tidak mampu memproduksi pati sehingga bijinya terasa lebih manis ketika masih muda. Dibandingkan dengan beras, kandungan protein jagung lebih tinggi (8%). Selain itu, di antara biji-bijian, kandungan vitamin A jagung paling tinggi, yaitu sebesar 440 SI.

Tabel 2.2 Komposisi kimia dan zat gizi jagung kuning pipilan per 100 g ^[19]

Komponen	Jumlah
Energi	307,00 K
Protein	7,90 K
Lemak	3,40 K
Karbohidrat	63,60 K
Ca	148,00 mg
Fe	2,10 mg
Vitamin A	440,00 SI
Vitamin B1	0,33 mg
Air	24,00 %
Bagian yang dapat dimakan	90,00 %

2.4.4 Tongkol Jagung

Tongkol jagung merupakan limbah padat hasil samping dari industri pemanfaatan jagung, seperti industri bahan pangan maupun industri bioenergi. Komposisi tongkol jagung dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Komposisi tongkol jagung ^[8]

Komposisi	Jumlah (%)
Selulosa	40
Hemiselulosa	36
Lignin	16
Lain-lain	8

Selama ini, pemanfaatan tongkol jagung umumnya hanya sebagai bahan bakar untuk *boiler* dan pakan ternak. Berdasarkan data dari Departemen Pertanian, jagung merupakan salah satu produk pertanian yang banyak dihasilkan di negara Indonesia. Pada tahun 2004, produksi jagung nasional mencapai 11.225.243 ton dan meningkat menjadi 12.523.894 ton pada tahun 2005. Pemanfaatan jagung saat ini sangat beraneka ragam, mulai dari bahan pangan hingga bioenergi. Buah jagung terdiri atas 30% limbah yang berupa tongkol jagung. Jika dikonversikan dengan jumlah produksi jagung pada tahun 2004, maka negara Indonesia berpotensi menghasilkan tongkol jagung sebanyak 3.757.000 ton pada tahun 2005.^[20] Melihat jumlah tongkol jagung yang melimpah, kandungan xilan dalam tongkol jagung yang tinggi, dan harga yang murah, memungkinkan tongkol jagung untuk diolah menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi seperti xilitol.

2.5 Hidrolisis

Hidrolisis adalah peristiwa pemecahan molekul besar menjadi bagian-bagian yang lebih kecil yang merupakan komponen monomer dari senyawa itu sendiri, melalui adisi oleh air.^[21] Untuk mempercepat reaksi hidrolisis dapat digunakan enzim atau asam sebagai katalis. Hidrolisis lignoselulosa dapat dilakukan secara enzimatik maupun kimiawi. Hidrolisis dengan enzim menghasilkan produk hidrolisis yang lebih spesifik. Akan tetapi monomer gula yang dihasilkan dengan cara ini sedikit, karena enzim sulit menembus bagian lignin yang merupakan pembentuk dinding sel yang kokoh. Hidrolisis secara kimiawi dengan asam, selain menghidrolisis hemiselulosa, dapat pula menghidrolisis selulosa. Akibatnya akan dihasilkan produk hidrolisis yang berupa campuran. Selain itu, hidrolisis dengan asam dapat pula mengakibatkan monosakarida yang dihasilkan terdegradasi menjadi senyawa bentuk lain.^[22]

H_2SO_4 , HCl, HF, atau CH_3COOH adalah asam yang biasa digunakan sebagai katalis dalam proses hidrolisis. Asam-asam tersebut melepaskan proton yang memecahkan ikatan eter heterosiklik antara monomer gula dalam rantai polimer yang dibentuk oleh hemiselulosa dan selulosa. Pemecahan ikatan ini menghasilkan berbagai senyawa, terutama gula seperti xilosa, glukosa, dan arabinosa. Senyawa lain yang dihasilkan adalah oligomer, furfural, dan asam asetat. Sejumlah tertentu hidrolisis hemiselulosa dapat dilakukan hampir tanpa kerusakan selulosa karena ikatan pada hemiselulosa lebih lemah dibandingkan ikatan pada selulosa. Hidrolisat yang

didapatkan dari hidrolisis dapat digunakan setelah dinetralkan untuk diubah menjadi xilitol. Untuk proses fermentasi, kehadiran asam asetat dan/atau furfural dalam hidrolisat dapat menghambat atau mencegah langkah fermentasi secara berkelanjutan. Oleh karena itu, hidrolisat dengan konsentrasi inhibitor yang rendah sangat dibutuhkan.^[23]

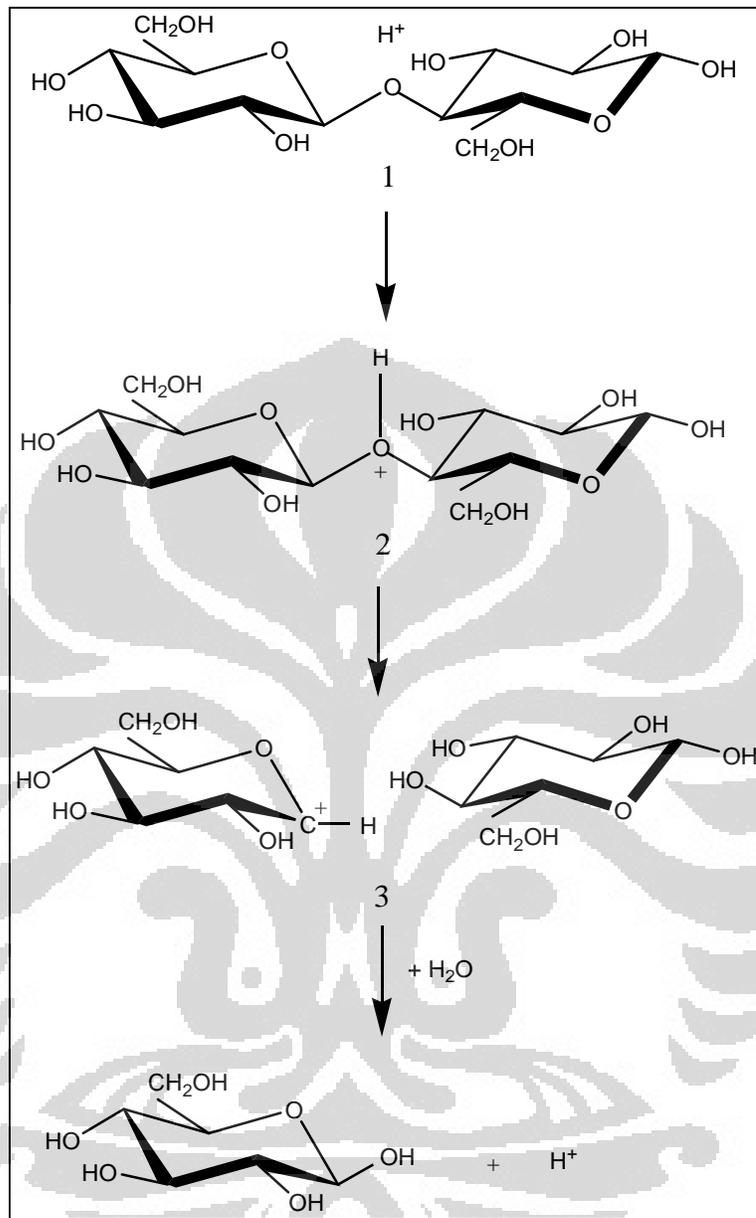
Asam asetat dalam bentuk tidak terdissosiasi dapat menghambat proses fermentasi mikroorganisme, begitu juga furfural. Furfural dapat dibentuk dengan mudah pada konsentrasi asam dan suhu yang tinggi. Minimalisasi degradasi xilosa dapat diperoleh melalui pengurangan konsentrasi asam pada proses hidrolisis. Metode lain yang digunakan untuk mengurangi inhibitor adalah dengan memberikan perlakuan dengan alkali terlebih dahulu sebelum proses hidrolisis. Alkali akan melarutkan dan memisahkan lignin serta gugus asetil dan mengekstrak senyawa-senyawa yang akan menghambat proses fermentasi dengan khamir.^[24] Selain kedua metode tersebut, pengurangan konsentrasi senyawa-senyawa beracun dalam hidrolisat dapat dilakukan dengan pemberian karbon aktif.^[25]

Hemiselulosa yang merupakan polimer bercabang, tidak membentuk mikrofibril yang kristalin dan rigid seperti selulosa, sehingga relatif lebih mudah dihidrolisis.^[6] Hemiselulosa relatif lebih mudah dihidrolisis oleh asam melalui pemutusan ikatan-ikatan glikosida menjadi komponen-komponen monomernya. Monosakarida-monosakarida yang terbentuk selama hidrolisis oleh asam meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asam dan waktu hidrolisis. Begitu pula dengan pentosa dan heksosa, cenderung

mengalami degradasi menjadi furfural dan 5-hidroksimetil furfural jika konsentrasi asam, waktu, dan suhu reaksi hidrolisis ditingkatkan.^[22,26]

Hidrolisis selulosa pada hakikatnya adalah pemutusan ikatan β -(1,4)glikosida antara satuan-satuan glukosa dalam molekul glukosa. Selulosa lebih sulit dihidrolisis daripada hemiselulosa karena memiliki derajat kristalinitas yang tinggi.^[6]

Hidrolisis dalam suasana asam menghasilkan pemecahan ikatan glikosida yang terdiri atas tiga tahap (Gambar 2.15). Pada tahap pertama, proton - sebagai katalis asam - berinteraksi dengan oksigen glikosida yang menghubungkan dua unit gula dan membentuk asam konjugat (2). Langkah ini diikuti oleh pemecahan secara lambat ikatan C-O-C menghasilkan intermediet kation karbonium siklik (3). Setelah mengalami adisi yang cepat, maka terbentuklah gula bebas. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.15.^[27]



Gambar 2.15 Mekanisme hidrolisis asam pada ikatan glikosida^[27]

2.6 Fermentasi

Fermentasi berasal dari kata *ferment* yang berarti mendidih. Pada awalnya fermentasi didefinisikan sebagai anggur yang mendidih, kemudian

pengertiannya berkembang secara luas menjadi penggunaan mikroorganisme untuk bahan pangan. Oleh Louis Pasteur, fermentasi didefinisikan sebagai proses penguraian gula pada buah anggur menjadi gelembung-gelembung udara (CO₂) oleh khamir yang terdapat pada cairan ekstrak buah anggur tersebut. Dari definisi ini kemudian arti fermentasi berkembang menjadi suatu kultur mikroorganisme dalam proses optimum untuk menghasilkan produk berupa metabolit-metabolit, enzim, atau produk lain.

2.6.1 Proses Fermentasi

Penggolongan proses fermentasi berdasarkan cara operasi adalah sebagai berikut:

2.6.1.1 Fermentasi Cair

A. *Submerged fermentation* (fermentasi bawah permukaan), dapat dibagi menjadi 3 macam:

- *Batch process*, yaitu fermentasi dengan cara memasukkan media dan inokulum secara bersamaan ke dalam bioreaktor dan pengambilan produk dilakukan pada akhir fermentasi.
- *Fed-batch* (gabungan sistem *batch* dengan kontinyu), yaitu fermentasi dengan cara memasukkan sebagian sumber nutrisi ke dalam bioreaktor dengan volume tertentu hingga diperoleh

produk yang mendekati maksimal, akan tetapi konsentrasi sumber nutrisi dibuat konstan.

- *Continuous process* (proses sinambung/ kontinyu), yaitu fermentasi yang dilakukan dengan cara pengaliran substrat dan pengambilan produk dilakukan secara terus-menerus (sinambung) setiap saat setelah diperoleh konsentrasi produk maksimal atau substrat pembatasnya mencapai konsentrasi yang hampir tetap.

B. *Surface fermentation* (fermentasi permukaan), misal pada pembuatan *nata de coco*

2.6.1.2 Solid State Fermentation (Fermentasi Padat)

Pada fermentasi ini, medium yang digunakan memiliki kadar air rendah (padat), seperti pada pembuatan tape dan oncom.

2.6.2 Penggolongan Produk Fermentasi

2.6.2.1 Berdasarkan Letak Produksi

- Produk intraseluler
- Produk ekstraseluler

2.6.2.2 Berdasarkan Peran dalam Metabolisme

- Metabolit primer

- Metabolit sekunder

2.6.2.3 Berdasarkan Waktu Produksi

- Diproduksi bersamaan dengan pertumbuhan (*growth associated*)
- Diproduksi pada saat pertumbuhan stasioner (*non-growth associated*)

Xilitol dapat diproduksi dari xilosa menggunakan khamir melalui proses fermentasi. Pada umumnya, khamir yang digunakan dalam proses biokonversi xilosa murni menjadi xilitol adalah *Candida* sp. Xilosa yang dihasilkan dari hidrolisis tongkol jagung juga dapat digunakan untuk memproduksi xilitol. Untuk produksi xilitol menggunakan hidrolisat tongkol jagung, perlakuan dengan amonia sangat bermanfaat dalam mempersiapkan substrat yang kaya akan xilosa. Amonia dapat menghilangkan lignin, alkali yang terekstrak, dan asam asetat yang terbentuk selama proses hidrolisis, yang dapat mengganggu dan menghambat proses fermentasi oleh khamir. Pendekatan ini tidak hanya untuk memproduksi substrat hemiselulosa yang lebih baik untuk biokonversi, tetapi juga mendapatkan hasil xilitol yang lebih tinggi dan waktu fermentasi yang lebih cepat daripada hidrolisat tanpa perlakuan dengan amonia.^[24]

Pada proses fermentasi xilosa, kehadiran glukosa mengakibatkan xilitol yang dihasilkan menjadi lebih rendah dibandingkan tanpa kehadiran glukosa. Glukosa meningkatkan aliran metabolisme secara keseluruhan,

sehingga terjadi lebih banyak regenerasi kofaktor yang mungkin berkontribusi dalam pengurangan produksi xilitol.^[28]

2.7 Khamir

Khamir merupakan bentuk pertumbuhan dari mikroorganisme eukariotik yang berada pada kingdom fungi. Khamir merupakan golongan fungi yang bersifat fakultatif anaerob. Terdapat sekitar 1500 spesies khamir yang telah ditemukan, yang kebanyakan bereproduksi secara aseksual dengan cara *budding* walau ada sebagian dengan cara pembelahan biner. Khamir memiliki keragaman dalam hal ukuran, ada yang berdiameter 3-7 μm dan ada pula yang dapat mencapai 40 μm . Khamir umumnya digunakan dalam produksi etanol dalam produksi *biofuel*.

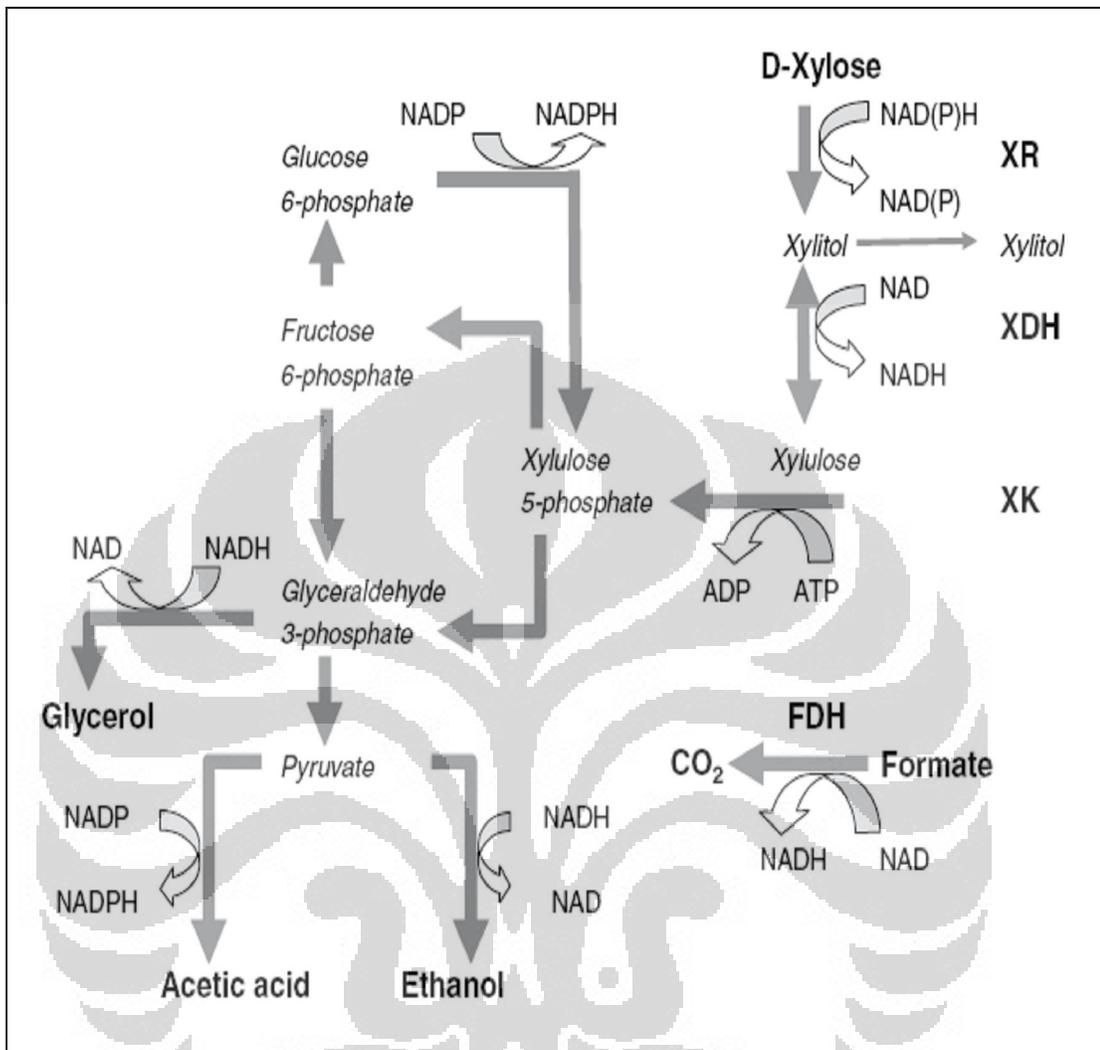
Candida^[29]

Genus *Candida* sering kali digunakan untuk memfermentasikan xilosa menjadi xilitol, sebagai contoh adalah *Candida tropicalis* yang diketahui memiliki enzim-enzim yang dapat mereduksi D-xilosa menjadi xilitol.

C. tropicalis memiliki *D-xylose reductase* (XR) dan *xylitol dehidrogenase* (XDH), namun tidak memiliki *xylose isomerase*. Spesies ini memiliki aktivitas *NAD⁺-linked XDH* yang tinggi serta aktivitas *NADP⁺-linked XDH* yang rendah. Pada kehadiran NADPH dan *NAD⁺* yang cukup, xilitol akan diproduksi dari D-xilosa dan xilitol yang dibentuk secara perlahan akan didehidrogenasi menjadi D-xilulosa.

D-xilosa dapat berisomerisasi menjadi D-xilulosa oleh *xylose isomerase* atau dapat direduksi menjadi xilitol oleh XR dengan adanya NADPH atau NADH. Xilitol yang diproduksi dapat terdehidrogenasi menjadi D-xilulosa oleh XDH dengan adanya NADP⁺ atau NAD⁺ dari reaksi sebelumnya.

Pada kondisi oksigen terlarut yang rendah, terjadi kenaikan NADPH dan NADH di dalam sel yang menyebabkan terjadinya reduksi D-xilosa secara intensif dan terakumulasinya xilitol dalam medium. Ketika aktivitas NADP-*linked* XDH pada *C. tropicalis* sangat rendah (hampir tidak ada aktivitas), proses dehidrogenasi xilitol menjadi D-xilulosa oleh NADP⁺ tidak terjadi. Pada saat yang bersamaan, aktivitas NADH-*linked* XR juga sangat rendah, sehingga produksi NAD⁺ oleh enzim ini tidak terjadi. Oleh karena itu, XDH tidak akan mengkatalisis reaksi dehidrogenasi xilitol menjadi D-xilulosa melalui NAD⁺. Hal inilah yang menjadi alasan mengapa *C. tropicalis* mengakumulasi lebih banyak xilitol pada kondisi oksigen yang terbatas. Jalur regenerasi metabolit dan kofaktor dari metabolisme D-xilosa dapat dilihat pada Gambar 2.16.



Gambar 2.16 Jalur regenerasi metabolit dan kofaktor dari metabolisme D-xilosa pada khamir ^[30]

Taksonomi dari *Candida fukuyamaensis* dan *Candida boidinii* adalah sebagai berikut:^[31]

- Kerajaan : Fungi
- Divisi : Ascomycota
- Sub divisi : Saccharomycotina

Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Famili : Saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida fukuyamaensis*

Candida boidinii



Gambar 2.17 *Candida boidinii* ^[32]

BAB III

PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat-alat yang digunakan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: labu Erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, pipet volumetrik, pipet tetes, *beaker glass*, batang pengaduk, corong gelas, tabung *centrifuge*, cawan Petri, jarum ose, botol semprot, pipet tetes, pipet mikro, propipet (bulb), dan tabung reaksi.

Instrumentasi yang digunakan yaitu: *blender*, autoklaf, alat *sentrifuge*, timbangan analitis, alat *degassing*, *heating mantel*, penangas air, *shaker (fermentor)*, *incubator*, *syringe*, HPLC Shimadzu prominence 20 dengan kolom Shimpack SCR-101 C dengan detektor Refraktif Indeks (RID-10A), pompa LC-20AB, dan pH meter.

3.1.2 Bahan-bahan yang digunakan

Glukosa, xilosa, xilitol, tongkol jagung, aquades, aquabides, H_2SO_4 , NaOH, $MgSO_4$ (magnesium sulfat), $(NH_4)_2SO_4$ (ammonium sulfat), KH_2PO_4 (kalium dihidrogen fosfat), karbon aktif, resin, kertas lakmus, kertas saring biasa, filter membran nitroselulosa nitrat 0,2 μm , pepton, ekstrak malt, dan ekstrak khamir.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Pembuatan Sampel Tongkol Jagung

Tongkol jagung dipotong-potong kemudian dicuci berulang kali. Setelah itu tongkol jagung dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung. Selanjutnya tongkol jagung dihaluskan dan disaring agar dihasilkan serbuk tongkol jagung yang lebih halus. Sampel serbuk tongkol jagung ini selanjutnya digunakan untuk pengujian berikutnya.

3.2.2 Hidrolisis Sampel Tongkol Jagung dengan Asam

Satu gram sampel serbuk halus tongkol jagung dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu ditambahkan 30 mL H_2SO_4 0,3 M. Selanjutnya sampel ditutup dengan alumunium foil, lalu dimasukkan ke dalam autoklaf untuk dihidrolisis selama 25 menit pada suhu 121 °C (250 °F). Setelah itu hidrolisat dinetralkan dengan NaOH 0,5 M dan disaring menggunakan kertas saring biasa. Kemudian filtratnya ditambahkan 1 g karbon aktif dan didiamkan selama 15 menit, lalu disaring lagi dengan kertas saring biasa. Selanjutnya hidrolisat siap digunakan sebagai media untuk fermentasi.

Untuk pengujian kadar xilosa dalam hidrolisat, filtrat yang didapatkan dari hasil sentrifugasi ditambahkan dengan resin penukar kation dan anion, kemudian disaring menggunakan membran nitroselulosa. Filtrat yang diperoleh dianalisis menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

3.2.3 Pembuatan Larutan Standar

3.2.3.1 Larutan Standar Xilosa

Larutan induk xilosa 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg xilosa, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan sebagai larutan induk untuk membuat deret larutan standar xilosa berikutnya, dengan variasi konsentrasi sebesar 25, 50, 100, dan 250 ppm. Deret larutan standar xilosa ini dianalisis menggunakan HPLC dengan kondisi kecepatan alir 1 mL/menit, suhu oven 80 °C, dan fase gerak yang digunakan adalah aquabides. Nilai waktu retensi yang diperoleh digunakan untuk uji kualitatif dan nilai luas area untuk uji kuantitatif. Dari nilai luas area dan konsentrasi masing-masing larutan standar xilosa, dibuat persamaan regresi linier.

3.2.3.2 Larutan Standar Xilitol

Larutan induk xilitol 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg xilitol, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk membuat deret larutan standar xilitol berikutnya, dengan variasi konsentrasi sebesar 20; 50; dan 100 ppm. Langkah pekerjaan selanjutnya sama seperti tahap 3.2.3.1 di atas.

3.2.3.3 Larutan Standar Glukosa

Larutan induk glukosa 250 ppm dibuat dengan menimbang 25 mg glukosa, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk membuat deret larutan standar glukosa berikutnya, dengan variasi konsentrasi sebesar 25; 50; dan 100 ppm. Langkah pekerjaan selanjutnya sama seperti tahap 3.2.3.1 di atas.

3.2.3.4 Larutan Standar Arabinosa

Larutan induk arabinosa 250 ppm dibuat dengan menimbang 25 mg arabinosa, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk membuat deret larutan standar arabinosa berikutnya, dengan variasi konsentrasi sebesar 25; 50; dan 100 ppm. Langkah pekerjaan selanjutnya sama seperti tahap 3.2.3.1 di atas.

3.2.4 Penyiapan Inokulum

Dalam proses ini digunakan sel mikroorganisme berupa khamir dari genus *Candida* yang didapat dari laboratorium mikrobiologi UICC (Universitas Indonesia Culture Collection). Khamir yang digunakan adalah *Candida fukuyamaensis* dan *Candida boidinii*. Kultur tersebut digunakan sebagai awalan yang kemudian dikembangkan dalam medium mengandung glukosa sebesar 5 g/L dan 20 g/L xilosa sebagai sumber karbonnya. Nutrisi yang

digunakan adalah 1 g/L ekstrak khamir dan mineral berupa ammonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g/L dan magnesium sulfat $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/L. Medium diatur pada pH 6 menggunakan NaOH dan suhu 30°C . Untuk proses fermentasi, xilosa murni digantikan oleh hidrolisat yang mengandung xilosa.

3.2.5 Fermentasi

Lima puluh mL hidrolisat yang akan digunakan sebagai medium fermentasi ditambahkan dengan mineral-mineral $\{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{KH}_2\text{PO}_4, \text{ dan } \text{MgSO}_4\}$ serta ekstrak khamir. Kemudian dilakukan penyesuaian pH hingga didapat pH 6, yang merupakan pH optimum untuk pertumbuhan khamir. Setelah itu medium disterilisasi. Sebanyak 2,5 mL suspensi khamir dimasukkan ke dalam medium. Setelah itu dilakukan inkubasi menggunakan *shaker* selama 2 hari pada suhu 30°C , 110 rpm.

3.2.6 Penentuan Jumlah Sel Khamir

Jumlah sel khamir selama proses fermentasi didapatkan dari perhitungan TPC (*Total Plate Count*). Hal ini dilakukan dengan cara mengambil suspensi khamir dengan volume yang diketahui pengencerannya dan dibiakkan dalam cawan petri selama 2 hari (sesuai waktu fermentasi).

3.2.7 Variasi Kondisi

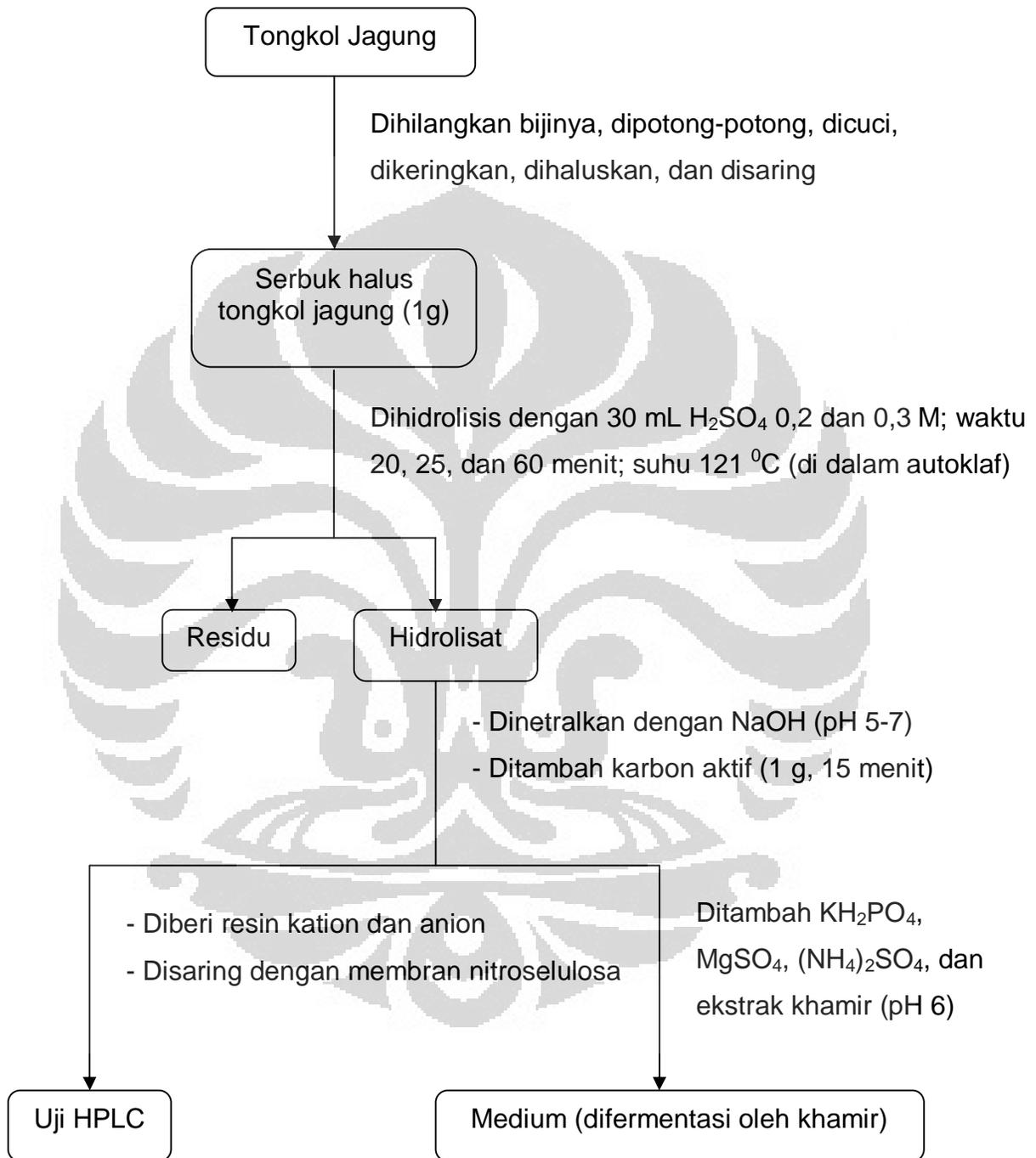
Variasi kondisi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah:

- Variasi bentuk substrat tongkol jagung pada proses hidrolisis (halus dan kasar)
- Variasi konsentrasi asam pada proses hidrolisis (0,2 dan 0,3 M)
- Variasi waktu hidrolisis (20, 25, dan 60 menit)
- Variasi kondisi fermentasi (tertutup dan tidak tertutup rapat)
- Variasi jenis khamir yang digunakan (*C. fukuyamaensis* dan *C. boidinii*)
- Variasi kondisi hidrolisat (dengan dan tanpa adanya ampas)
- Pada penelitian ini dibuat 2 kelompok kontrol, yaitu fermentasi dengan D-xilosa dan hidrolisat tanpa penambahan khamir yang diberi perlakuan sama dengan kelompok sampel

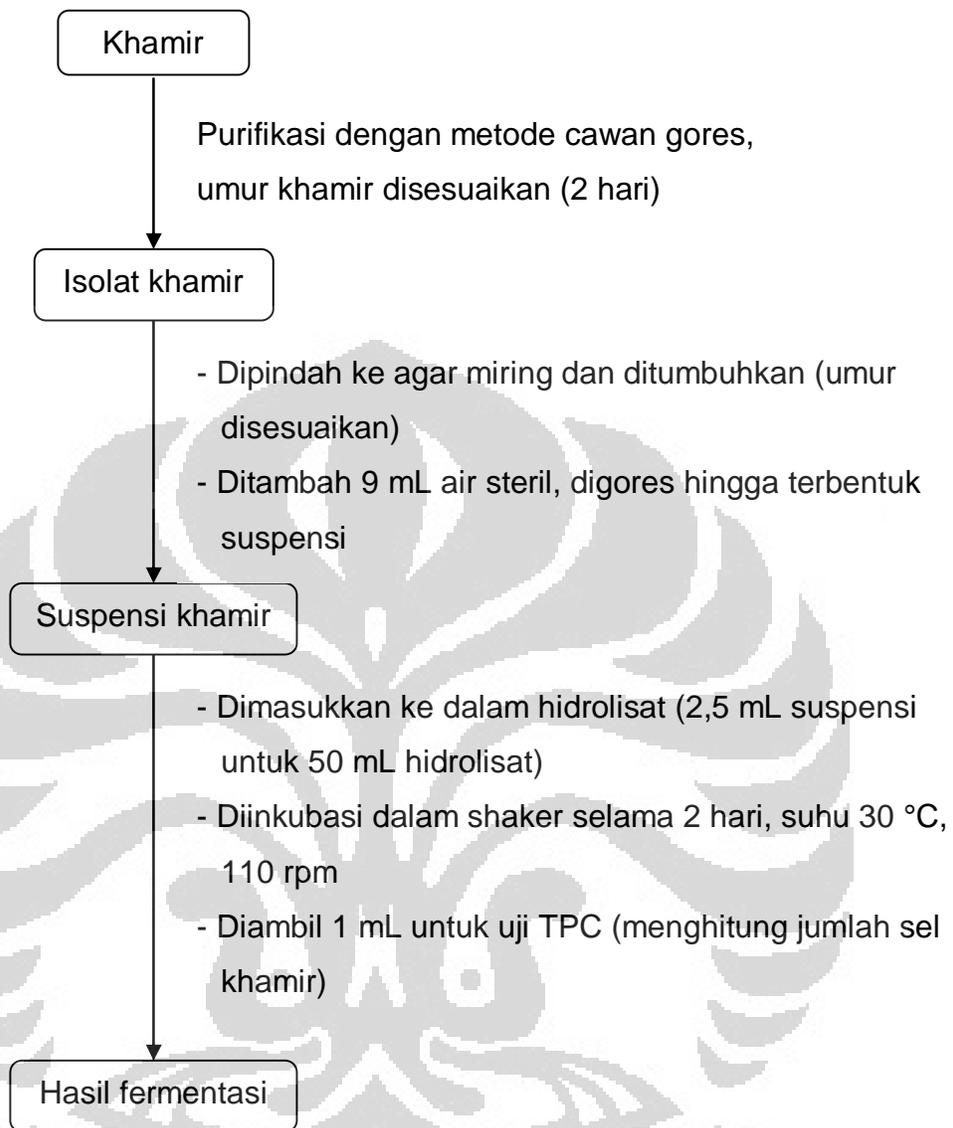
3.2.8 Analisis Produk dengan Alat HPLC Shimadzu dengan Kolom Kalsium Karbohidrat dan Fasa Gerak Air Akuasi Destilat

Sampel hasil fermentasi disentrifugasi selama 20 menit, dengan kecepatan putar 3000 rpm. Supernatan yang didapatkan dari hasil sentrifugasi ditambahkan dengan resin penukar kation dan anion, kemudian disaring dengan menggunakan membran nitroselulosa. Sebanyak 20 µL larutan tersebut dianalisis dengan HPLC dan hasilnya diamati dengan membandingkan waktu retensinya dengan standar (xilitol dan D-xilosa). Konsentrasi xilosa dan xilitol dikoreksi dengan inokulum pada waktu 0 jam.

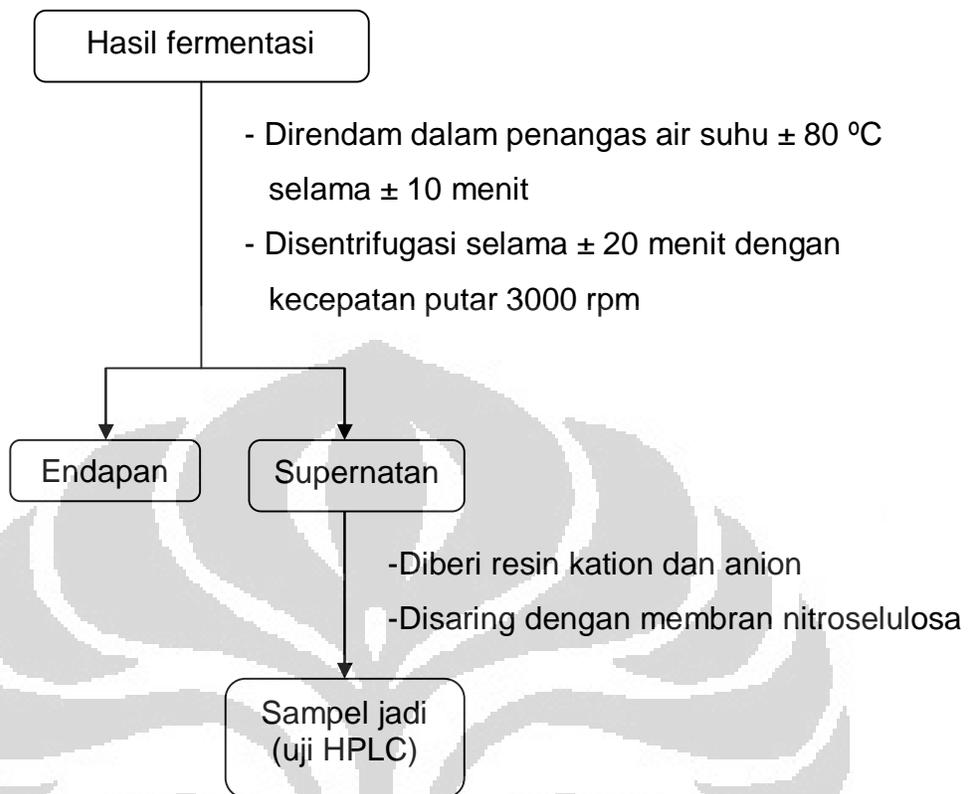
3.2.9 Diagram Kerja Secara Umum



Gambar 3.1 Bagan kerja hidrolisis



Gambar 3.2 Bagan kerja fermentasi



Gambar 3.3 Bagan kerja setelah fermentasi

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan hidrolisis kimiawi xilan pada tongkol jagung menggunakan asam sulfat sebagai katalis untuk menghasilkan xilosa sebagai bahan baku pembuatan xilitol. Xilosa yang dihasilkan kemudian difermentasikan oleh khamir penghasil enzim *xylose reductase* (XR), yaitu dari genus *Candida* (*Candida fukuyamaensis* dan *Candida boidinii*). Kondisi optimum untuk hidrolisis tongkol jagung didapatkan dari hasil penelitian sebelumnya.^[9] Spesies khamir yang digunakan dalam penelitian merupakan dua khamir yang dapat menghasilkan xilitol dengan kadar paling tinggi, berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan kelompok kami, yaitu oleh Riki. Penelitian sebelumnya menggunakan D-xilosa yang kemudian dikonversi menjadi xilitol melalui proses fermentasi.

4.1 Sampling Tongkol Jagung

Tongkol jagung yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari tanaman jagung yang berasal dari daerah Puncak, Jawa Barat. Beberapa alasan penggunaan tongkol jagung sebagai sumber hemiselulosa adalah sebagai berikut:

- Kadar pentosan/ xilan pada tongkol jagung (36%) lebih tinggi dibandingkan limbah lignoselulosa lainnya yang mungkin

dimanfaatkan seperti ampas tebu (27,97%), sekam padi (16,94-21,95%), dan sabut kelapa sawit (24%).^[31,20]

- Potensi tongkol jagung di Indonesia cukup melimpah (data di sub bab 2.4.4). Hal ini sangat mendukung apabila suatu waktu penelitian ini dilakukan untuk skala industri.

Beberapa alasan tersebut memungkinkan tongkol jagung untuk diolah menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi, seperti xilitol.

4.2 Pembuatan Sampel Tongkol Jagung

Tongkol jagung dibersihkan dari sisa-sisa biji untuk meminimalisir amilum yang terdapat dalam biji jagung. Amilum yang masih tersisa pada biji jagung dapat terhidrolisis menjadi glukosa ataupun gula-gula lain (monosakarida maupun disakarida) saat proses hidrolisis, yang dapat mengganggu proses fermentasi. Setelah itu tongkol jagung dicuci berulang kali dan segera dikeringkan, karena media yang mengandung kadar gula dan air yang tinggi sangat rentan untuk ditumbuhi jamur. Tongkol jagung kemudian dihaluskan sampai diperoleh serbuk tongkol jagung yang halus. Penghalusan ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan kontak substrat tongkol jagung, sehingga mempermudah reaksi hidrolisis dengan asam.

4.3 Hidrolisis Tongkol Jagung

Reaksi hidrolisis dilakukan pada suhu 121 °C. Diharapkan pada keadaan ini reaksi hidrolisis dapat berlangsung sesingkat mungkin, karena hal ini dapat mempengaruhi pembentukan produk samping hasil degradasi.

Pada penelitian ini, larutan asam yang digunakan untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis hemiselulosa dalam tongkol jagung adalah asam sulfat. Asam sulfat merupakan salah satu asam yang biasa digunakan sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis.

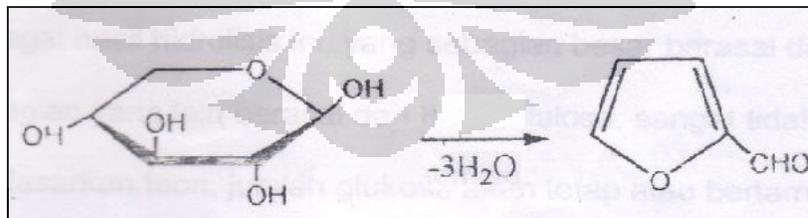
Setelah melalui proses hidrolisis, hidrolisat yang dihasilkan dinetralkan dengan NaOH hingga pH-nya berkisar antara 5,0-7,0. Penetralkan dimaksudkan agar hidrolisat tidak terhidrolisis terus-menerus, sedangkan pH penetralkan berkisar antara 5,0-7,0. Apabila pH lebih dari 7,0 (hidrolisat bersifat basa), dikhawatirkan cincin karbohidrat yang ada akan rusak. Selanjutnya ke dalam hidrolisat ditambahkan karbon aktif, untuk menghilangkan warna coklat yang terbentuk selama proses hidrolisis akibat proses karamelisasi yang menghasilkan senyawa-senyawa seperti furfural dan hidroksimetilfurfural.^[34]

Pada umumnya, proses pencoklatan atau *browning* dibagi menjadi dua jenis, yaitu pencoklatan enzimatik dan non enzimatik. Pencoklatan enzimatik biasanya terjadi pada buah-buahan yang banyak mengandung substrat senyawa fenolik, sedangkan salah satu pencoklatan non enzimatik adalah karamelisasi yang melibatkan degradasi gula. Bila pemanasan dilakukan terus-menerus, akan dihasilkan warna yang lebih gelap dan

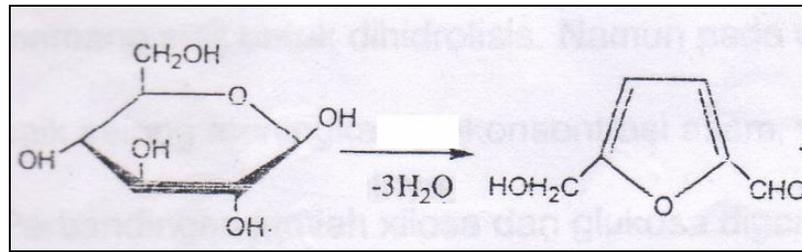
mengarah ke pembentukan warna coklat. Jika reaksi ini tidak dikontrol, maka dapat memberikan hasil yang tidak menyenangkan, hangus, dan produk-produk yang pahit.^[35]

Penghilangan warna coklat pada hidrolisat sama artinya dengan pengurangan konsentrasi senyawa-senyawa beracun yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada proses fermentasi. Maka, selain penghilangan warna coklat, penambahan karbon aktif juga dapat mengurangi konsentrasi senyawa-senyawa beracun dalam hidrolisat. Bila senyawa-senyawa tersebut tidak dihilangkan, pertumbuhan mikroorganisme akan terganggu dan proses fermentasi tidak dapat berjalan dengan baik. Selama proses hidrolisis dengan menggunakan larutan H_2SO_4 , senyawa-senyawa yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme juga terbentuk, seperti asam asetat, furfural, hidroksimetilfurfural, dan produk degradasi lignin (beberapa senyawa aromatik dan fenolik).^[25]

Degradasi xilosa menjadi furfural dan glukosa menjadi hidroksimetilfurfural dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan 4.2.



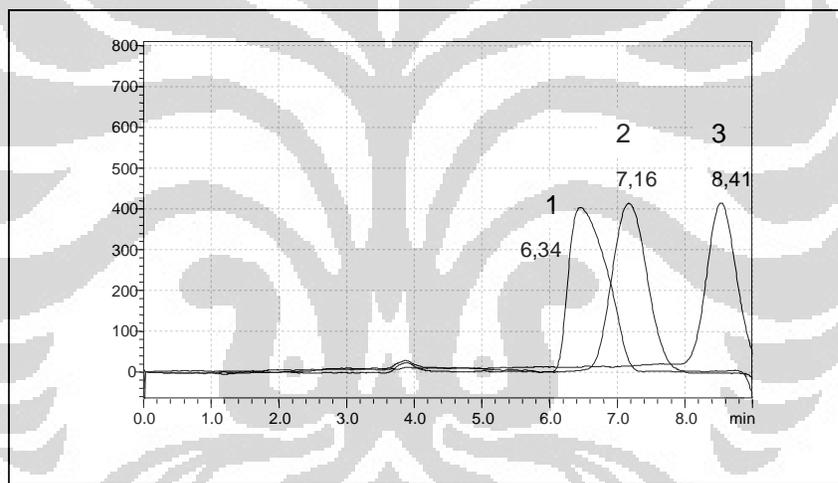
Gambar 4.1 Reaksi β-D-xilopiranososa menjadi furfural



Gambar 4.2 Reaksi β-D-glukopiranososa menjadi HMF

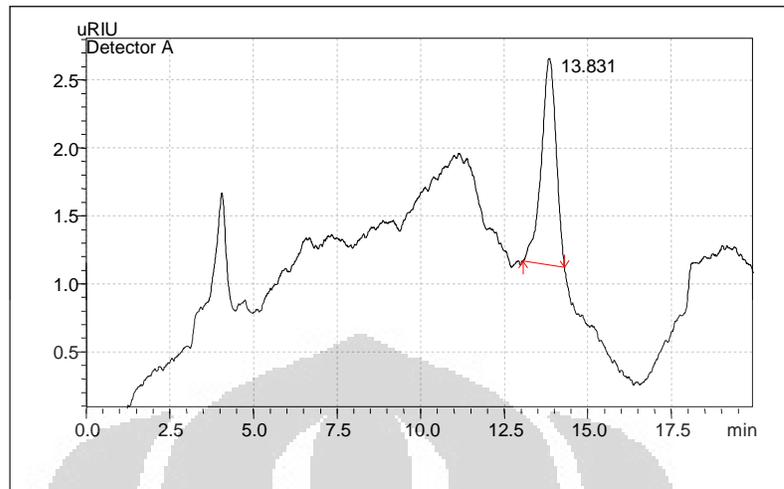
4.4 Identifikasi Standar Karbohidrat

Masing-masing standar karbohidrat diukur dengan HPLC agar diketahui waktu retensinya untuk uji kualitatif.



1. Glukosa, 2. Xilosa, 3. Arabinosa

Gambar 4.3 Kromatogram standar karbohidrat

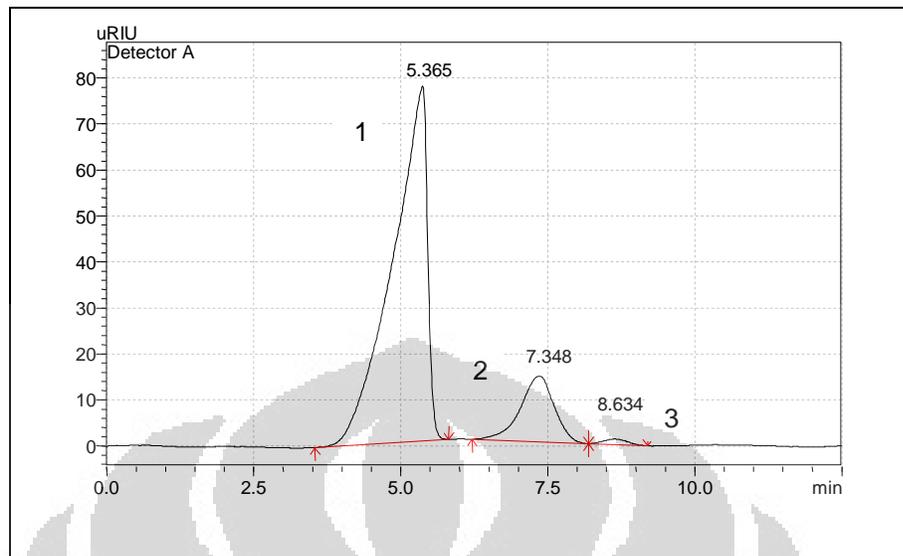


Gambar 4.4 Kromatogram standar xilitol

Semua hasil pengukuran HPLC berupa kromatogram HPLC dan grafik deret masing-masing standar tertera dalam Lampiran 1 dan 2.

4.5 Hasil Hidrolisis

Pada penelitian ini dilakukan hidrolisis pada kondisi optimum yang telah diketahui dari penelitian sebelumnya.^[9] Hidrolisis pada kondisi optimum bertujuan untuk mendapatkan xilosa dalam jumlah yang paling besar. Dari hidrolisis dengan kondisi optimum diperoleh kadar xilosa sebesar 34,34 %.



1. Oligosakarida, 2. Xilosa, 3. Arabinosa

Gambar 4.5 Kromatogram hidrolisat tongkol jagung pada kondisi optimum

Hasil hidrolisis menunjukkan bahwa dalam sampel tongkol jagung dihasilkan produk utama berupa monomer xilosa dan produk samping berupa arabinosa. Xilosa dihasilkan dari hidrolisis hemiselulosa berupa xilan dan arabinosa dihasilkan dari hidrolisis cabang rantai induk xilan.

Selain arabinosa, produk samping yang biasa dihasilkan dari hidrolisis hemiselulosa pada tongkol jagung adalah glukosa, yang merupakan hasil hidrolisis selulosa. Namun, dalam kromatogram tidak terdeteksi adanya glukosa. Hal ini membuktikan bahwa hidrolisis hemiselulosa untuk menghasilkan xilosa dengan konsentrasi asam yang rendah hampir tidak menimbulkan kerusakan pada selulosa karena ikatan pada hemiselulosa lebih lemah dibandingkan ikatan pada selulosa. Dari kromatogram terlihat

adanya arabinosa yang membuktikan bahwa telah terjadi hidrolisis cabang rantai induk xilan. Hidrolisat yang mengandung xilosa ini kemudian dijadikan medium untuk fermentasi, sehingga xilosa dapat dikonversi menjadi xilitol.

Selain hidrolisis menggunakan kondisi optimum, pada penelitian ini juga dilakukan beberapa variasi untuk meminimalisir produk samping yang terbentuk dari proses hidrolisis. Hal tersebut dilakukan untuk mencegah adanya senyawa-senyawa beracun yang dapat mengganggu dan menghambat proses fermentasi oleh khamir, yang dapat menyebabkan reaksi fermentasi tidak berjalan sempurna. Selain untuk meminimalisir produk samping yang terbentuk, variasi kondisi hidrolisis juga dilakukan untuk mendapatkan xilosa dengan jumlah yang lebih besar.

Kromatogram hasil variasi hidrolisis (bentuk substrat, konsentrasi asam, dan waktu hidrolisis) tongkol jagung tertera dalam Lampiran 3. Data perhitungan untuk hasil variasi hidrolisis tertera dalam Lampiran 6.

4.5.1 Variasi Bentuk Substrat Tongkol Jagung

Pada penelitian ini dilakukan variasi bentuk substrat tongkol jagung yang akan dihidrolisis. Hidrolisis dilakukan dengan bentuk tongkol jagung yang lebih halus dan lebih kasar (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 Substrat tongkol jagung

A: kasar

B: halus

Dari hasil penelitian didapatkan hasil hidrolisis tongkol jagung dengan bentuk yang lebih halus memiliki kadar xilosa yang lebih banyak dibandingkan bentuk yang lebih kasar. Hal ini disebabkan substrat dengan bentuk yang lebih halus memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga kontak antara substrat tongkol jagung dan asam sulfat lebih mudah dan reaksi hidrolisis berlangsung lebih sempurna. Hasil pengolahan data untuk variasi bentuk substrat dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kadar xilosa pada hidrolisat

Bentuk Substrat	% Kadar Xilosa (w/w)
Halus	34,34
Kasar	29,36

4.5.2 Variasi Konsentrasi Asam

Meskipun dari penelitian sebelumnya telah diketahui konsentrasi asam yang optimum untuk proses hidrolisis, pada penelitian ini dicoba dilakukan hidrolisis pada dua konsentrasi asam yang berbeda. Konsentrasi asam yang digunakan untuk hidrolisis adalah 0,2 M dan 0,3 M. Ternyata didapatkan hasil bahwa dengan menggunakan konsentrasi 0,3 M menghasilkan kadar xilosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan konsentrasi 0,2 M. Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi asam 0,3 M merupakan konsentrasi yang lebih baik dibandingkan konsentrasi asam 0,2 M untuk hidrolisis.

Tabel 4.2 Kadar xilosa pada hidrolisat

Konsentrasi Asam	% Kadar Xilosa (w/w)
0,2 M	29,85
0,3 M	34,34

Penggunaan konsentrasi asam sulfat yang rendah (0,3 M) ternyata telah mampu menghidrolisis hemiselulosa (xilan) dan bahkan kadar xilosa yang dihasilkan telah mencapai titik optimum, sedangkan untuk hidrolisis selulosa yang menghasilkan glukosa membutuhkan kadar asam sulfat yang lebih tinggi (1 M).^[9] Hal ini secara umum berkaitan dengan hemiselulosa yang berbentuk amorf, tidak teratur, sehingga lebih mudah dihidrolisis. Sedangkan selulosa membentuk mikrofibril yang kristalin dan teratur dengan rigiditas tinggi yang menjadikan selulosa sulit dihidrolisis, sehingga dibutuhkan konsentrasi H₂SO₄ yang relatif lebih tinggi.

4.5.3 Variasi Waktu Hidrolisis

Waktu hidrolisis optimum yang didapatkan dari penelitian sebelumnya adalah 25 menit. Dalam penelitian ini dicoba dilakukan variasi terhadap waktu hidrolisis. Didapatkan hasil bahwa waktu hidrolisis 25 menit merupakan waktu optimum untuk hidrolisis karena menghasilkan xilosa dengan jumlah yang paling besar. Dapat disimpulkan bahwa 25 menit merupakan waktu optimum untuk hidrolisis hemiselulosa dengan larutan asam.

Tabel 4.3 Kadar xilosa pada hidrolisat

Waktu (menit)	% Kadar Xilosa (w/w)
20	19,64
25	34,34
60	33,00

Pada waktu hidrolisis 25 menit, xilosa teridentifikasi dalam jumlah yang paling besar.^[9] Semakin lama waktu berlangsungnya proses hidrolisis kimiawi, maka semakin banyak ikatan-ikatan glikosida pada polisakarida yang terputus membentuk monomer-monomernya. Namun setelah mencapai waktu optimum (25 menit), kadar masing-masing monosakarida cenderung turun. Hal ini disebabkan furfural dan hidroksimetilfurfural yang terbentuk semakin bertambah dengan meningkatnya waktu hidrolisis, sehingga jumlah monosakarida yang terdegradasi akan jauh lebih banyak dibandingkan dengan pertambahan dari masing-masing monosakarida baru yang terbentuk.

4.6 Fermentasi

Sebelum proses fermentasi dilakukan, semua peralatan dan media yang akan digunakan dalam proses fermentasi disterilkan terlebih dahulu untuk mencegah kontaminasi oleh mikroorganisme lain. Sterilisasi dilakukan dengan dua cara, yaitu sterilisasi kering untuk peralatan gelas dan sterilisasi basah (autoklaf) untuk media dan *tip* pipet mikro yang berukuran 2 mL. Selain itu, terdapat beberapa hal lain yang perlu dipersiapkan sebelum proses fermentasi dilakukan, yaitu penyiapan hidrolisat dan penyiapan inokulum.

Sebelum fermentasi, spesies khamir yang akan digunakan terlebih dahulu dimurnikan (purifikasi) dengan menggunakan metode cawan gores. Metode cawan gores merupakan cara yang paling umum dan mudah untuk pemurnian mikroorganisme dari kontaminasi mikroorganisme lain. Hasil pemurnian tersebut kemudian dipindahkan dan diinkubasi dalam media agar miring dan digunakan sebagai *stock culture*. Apabila khamir tersebut akan digunakan untuk fermentasi, dilakukan pengaktifan terlebih dahulu dengan memindahkan *stock culture* ke media agar miring lain dan diinkubasi selama 2 hari. Media yang digunakan sebagai media tumbuh khamir ini adalah YMA (*Yeast Malt Agar*) yang terdiri dari: ekstrak khamir (3 g/L), ekstrak malt (3 g/L), pepton (5 g/L), glukosa (10 g/L), dan agar (15 g/L).

Inokulum khamir yang telah berusia 2 hari siap digunakan untuk fermentasi. Sebelumnya dilakukan penambahan air steril secara aseptik untuk membuat suspensi khamir. Inokulum ini ditumbuhkan dalam hidrolisat yang mengandung xilosa sebagai sumber karbon, ekstrak khamir sebagai

sumber nutrisi (sumber vitamin B serta sumber C dan N), KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebagai sumber mineral. pH medium diatur pada pH 6, yang merupakan pH optimal untuk pertumbuhan khamir secara umum. Sebelum suspensi khamir dimasukkan ke dalam medium fermentasi, dilakukan sterilisasi basah terhadap medium yaitu dengan cara memasukkan medium ke dalam erlenmeyer dan disterilisasi dengan autoklaf. Medium yang telah disterilisasi siap digunakan untuk fermentasi. Fermentasi dilakukan selama 2 hari dalam *shaker incubator* dan diharapkan pada hari kedua xilosa telah dikonversi menjadi xilitol.

4.7 Hasil Fermentasi

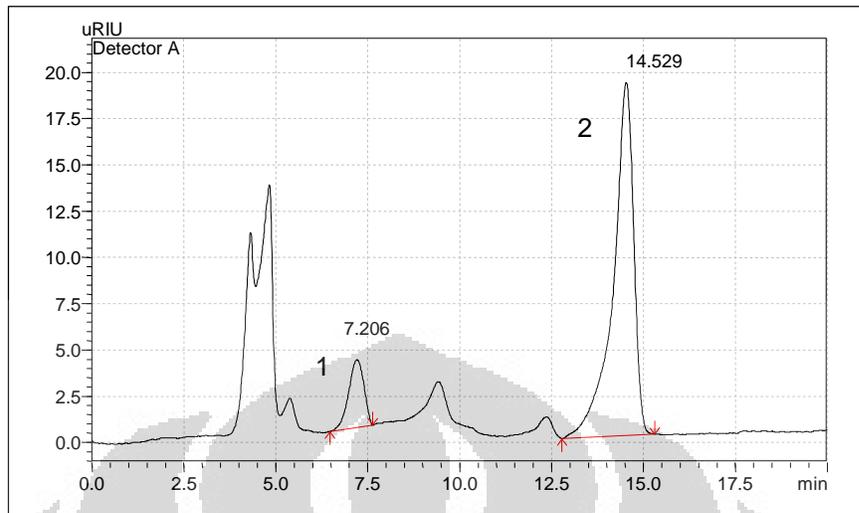
Proses fermentasi dihentikan setelah 2 hari dengan memanaskan erlenmeyer di penangas air yang bersuhu $80\text{ }^\circ\text{C}$ selama 10 menit. Hal ini bertujuan untuk mengurangi aktivitas khamir tanpa merusak struktur karbohidrat yang ada. Setelah itu dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan mikroorganisme dengan larutan hasil fermentasi dengan kecepatan putaran 3000 rpm selama 20 menit. Setelah proses sentrifugasi selesai, dilakukan dekantasi untuk memperoleh supernatannya. Ke dalam supernatan dilakukan penambahan resin penukar kation dan anion untuk menghilangkan ion-ion yang ada agar tidak merusak kolom kromatografi. Selanjutnya dilakukan analisis kadar xilosa dan xilitol dalam supernatan yang telah bebas ion dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dengan kolom kalsium karbohidrat. Hasil kromatogram yang didapat dari pengukuran

ditentukan luas areanya dan besarnya dibandingkan dengan luas area standar xilosa dan xilitol yang sebelumnya telah diketahui.

Kromatogram hasil variasi kondisi fermentasi (tertutup dan tidak tertutup rapat, spesies khamir, dan substrat hidrolisat) tertera dalam Lampiran 4. Data perhitungan untuk hasil fermentasi tertera dalam Lampiran 7.

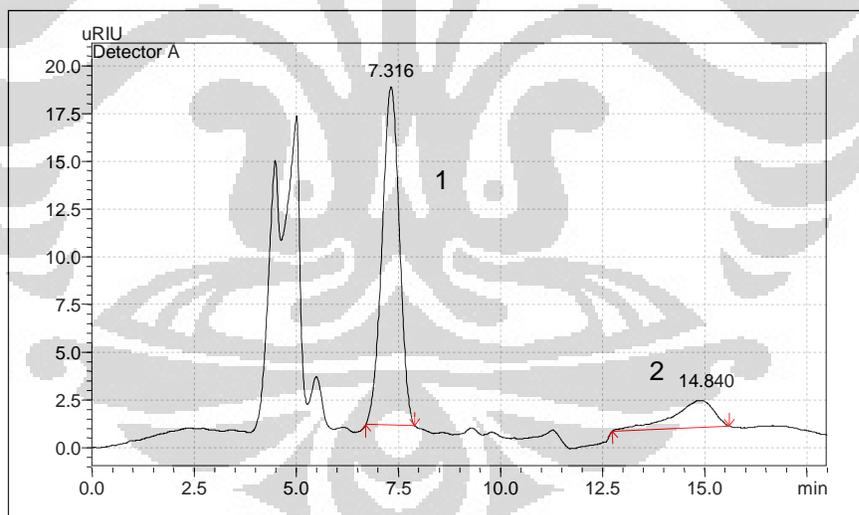
4.7.1 Kelompok Kontrol

Selain melakukan proses fermentasi terhadap hidrolisat, dalam penelitian ini juga dilakukan proses fermentasi dengan menggunakan xilosa murni yang berfungsi sebagai kelompok kontrol. Hal ini dilakukan untuk menguji kemampuan khamir dalam mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Apabila dalam fermentasi dengan xilosa murni menghasilkan xilitol dengan kadar yang tinggi, maka spesies khamir tersebut memang memiliki kemampuan untuk mengkonversi xilosa menjadi xilitol.



1. Xilosa, 2. Xilitol

Gambar 4.7 Kromatogram hasil fermentasi menggunakan xilosa murni oleh *C. fukuyamaensis*



1. Xilosa, 2. Xilitol

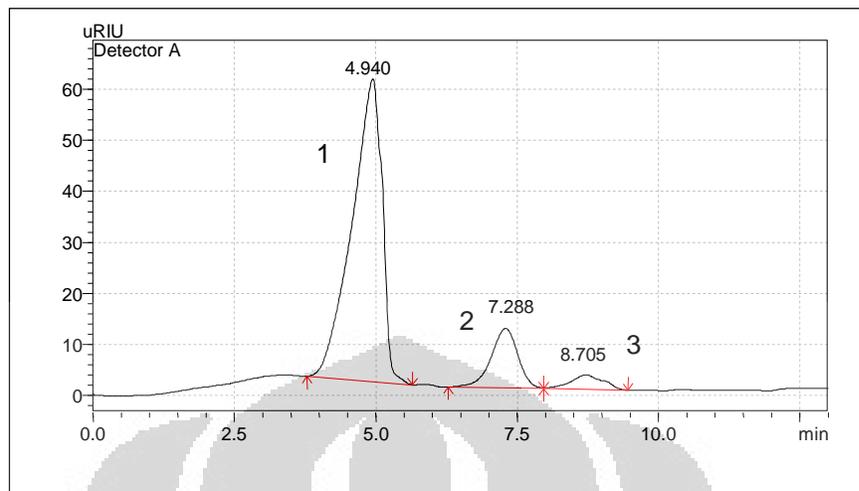
Gambar 4.8 Kromatogram hasil fermentasi menggunakan xilosa murni oleh *C. boidinii*

Dari kromatogram terlihat bahwa *C. fukuyamaensis* memiliki kemampuan yang lebih baik dalam mengkonversi xilosa menjadi xilitol dibandingkan *C. boidinii*. Berikut data perhitungan kadar xilosa yang dikonsumsi, kadar xilitol, % konversi xilosa menjadi xilitol, serta % yield dengan kadar xilosa awal sebesar 20 g/L.

Tabel 4.4 Hasil fermentasi variasi spesies menggunakan substrat xilosa murni

Spesies	Xilosa yang dikonsumsi (g/L)	Xilitol yang terbentuk (g/L)	% Konversi (w/w)	% Yield (w/w)
<i>C. fukuyamaensis</i>	18,29	5,53	30,24	16,59
<i>C. boidinii</i>	11,45	0,78	6,80	2,337

Selain membuat kelompok kontrol untuk fermentasi dengan menggunakan xilosa murni, dibuat juga kelompok kontrol dengan menggunakan hidrolisat tanpa penambahan khamir. Untuk kelompok kontrol ini, diberikan perlakuan yang sama dengan kelompok sampel, hanya saja tidak ditambahkan khamir ke dalamnya. Pembuatan kontrol ini dimaksudkan untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi dari mikroorganisme lain.



1. Oligosakarida, 2. Xilosa, 3. Arabinosa

Gambar 4.9 Kromatogram hidrolisat tanpa penambahan khamir

Dari kromatogram terlihat bahwa tidak ada perbedaan antara hidrolisat awal (dapat dilihat pada Gambar 4.5) dengan hidrolisat tanpa penambahan khamir yang telah diberi perlakuan yang sama dengan sampel, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terjadi kontaminasi dari mikroorganisme lain.

4.7.2. Variasi Spesies *Candida*

Spesies *Candida* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida fukuyamaensis* dan *Candida boidinii*. Kedua jenis *Candida* tersebut termasuk ke dalam 4 spesies khamir yang menghasikan kadar xilitol paling tinggi yang telah diketahui dari penelitian sebelumnya. Diduga kedua khamir tersebut memiliki aktivitas enzim *xylose reductase* dan *xylitol dehidrogenase*, sehingga dapat mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Pengolahan data untuk fermentasi

dengan variasi spesies menggunakan substrat hidrolisat dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil fermentasi variasi spesies menggunakan substrat hidrolisat

Spesies	Xilosa yang dikonsumsi (g/L)	Xilitol yang terbentuk (g/L)	% Konversi (w/w)	% Yield (w/w)
<i>C. fukuyamaensis</i>	6,44	0,21	3,24	0,626
<i>C. boidinii</i>	6,14	0,084	1,38	0,254

Berdasarkan Tabel 4.5 terlihat bahwa *C. fukuyamaensis* menghasilkan xilitol dengan kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan *C. boidinii*, sehingga dapat disimpulkan bahwa *C. fukuyamaensis* lebih berpotensi dalam menghasilkan xilitol dibandingkan dengan *C. boidinii*. Hal tersebut juga dibuktikan pada fermentasi dengan menggunakan xilosa murni, yang menunjukkan bahwa *C. fukuyamaensis* menghasilkan persen konversi yang lebih tinggi dibandingkan dengan *C. boidinii* (Tabel 4.4).

Akan tetapi, persen konversi yang didapatkan dari fermentasi dengan menggunakan substrat hidrolisat jauh lebih kecil bila dibandingkan dengan substrat xilosa murni (Tabel 4.4). Hal ini diduga terjadi karena di dalam hidrolisat masih terkandung senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sehingga kadar xilitol yang dihasilkan pun sedikit.

4.7.3 Variasi Kondisi Fermentasi

Pada penelitian ini, dilakukan variasi terhadap kondisi fermentasi, yaitu pada keadaan tertutup rapat dan tidak tertutup rapat. Pada keadaan tertutup rapat, erlenmeyer tempat berlangsungnya proses fermentasi ditutup dengan plastik, sehingga jumlah oksigen di dalam erlenmeyer tersebut lebih sedikit dibandingkan dengan keadaan tidak tertutup rapat karena oksigen dapat masuk melalui celah yang terbuka. Hasil fermentasi dengan kondisi tertutup rapat dan tidak tertutup rapat dapat dilihat pada Tabel 4.6.

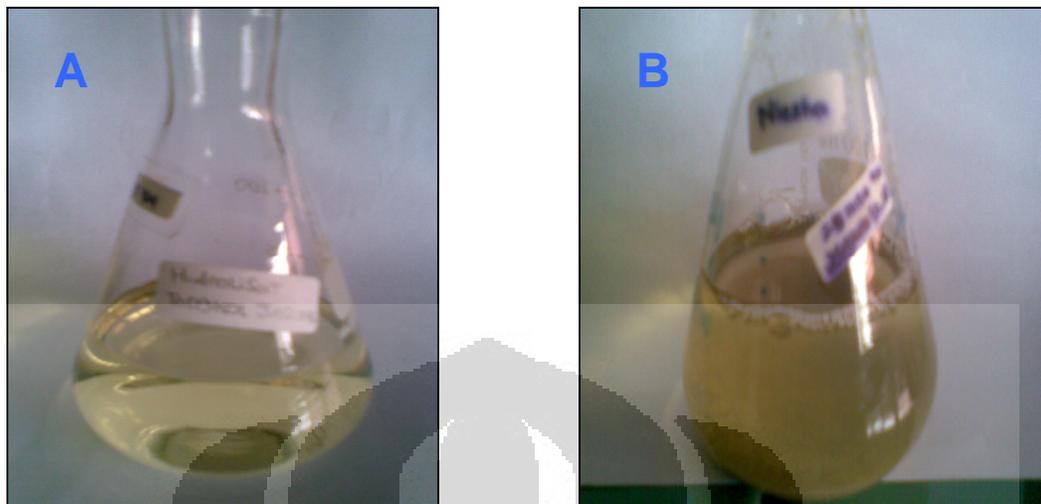
Tabel 4.6 Hasil fermentasi variasi kondisi fermentasi

<i>C. fukuyamaensis</i>	Xilosa yang dikonsumsi (g/L)	Xilitol yang terbentuk (g/L)	% Konversi (w/w)	% Yield (w/w)
Tidak tertutup rapat	6,44	0,21	3,24	0,626
Tertutup rapat	6,24	0,16	2,45	0,458

Berdasarkan data di atas, fermentasi pada kondisi tidak tertutup rapat menghasilkan xilosa dengan jumlah yang lebih besar dibandingkan kondisi tertutup rapat. Hal ini menunjukkan bahwa spesies khamir yang digunakan untuk memfermentasikan xilosa menjadi xilitol termasuk jenis khamir yang membutuhkan oksigen dalam proses metabolismenya.

4.7.4 Variasi Kondisi Hidrolisat (Dengan dan Tanpa Ampas)

Pada proses fermentasi, selain dilakukan kedua variasi di atas, juga dilakukan variasi terhadap kondisi hidrolisat yang digunakan sebagai medium fermentasi, yaitu dengan dan tanpa ampas (Gambar 4.10).



Gambar 4.10 Hidrolisat tongkol jagung yang digunakan untuk fermentasi

A: tanpa ampas (disaring)

B: dengan ampas (tidak disaring)

Berikut adalah tabel hasil fermentasi untuk kedua hidrolisat.

Tabel 4.7 Hasil fermentasi variasi hidrolisat

<i>C.fukuyamaensis</i>	Xilosa yang dikonsumsi (g/L)	Xilitol yang terbentuk (g/L)	% Konversi (w/w)	% Yield (w/w)
Tanpa Ampas	6,30	0,23	3,59	0,679
Dengan Ampas	6,44	0,21	3,24	0,626

Berdasarkan tabel di atas, terlihat bahwa biokonversi xilosa menjadi xilitol lebih tinggi pada hidrolisat tanpa ampas. Pada fermentasi dengan hidrolisat yang menggunakan ampas, tidak diberi perlakuan dengan karbon aktif, sedangkan untuk hidrolisat tanpa ampas diberi perlakuan dengan karbon aktif. Karbon aktif selain digunakan untuk mengurangi konsentrasi senyawa-senyawa beracun dalam hidrolisat juga dapat menaikkan jumlah

xilitol yang dihasilkan.^[25] Hal ini disebabkan senyawa-senyawa beracun dalam hidrolisat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan mengganggu dalam proses fermentasi diserap oleh karbon aktif, sehingga pertumbuhan mikroorganisme tidak terganggu dan kadar xilitol yang dihasilkan pun semakin meningkat. Namun, kadar xilitol yang dihasilkan ternyata tidak berbeda secara signifikan.

Hidrolisat yang diberi perlakuan dengan karbon aktif memiliki kadar xilosa yang lebih rendah dibandingkan dengan hidrolisat tanpa perlakuan dengan karbon aktif (Tabel 4.8). Hal ini disebabkan karbon aktif tidak hanya menyerap senyawa-senyawa beracun dalam hidrolisat namun juga menyerap xilosa, sehingga kadarnya pun berkurang meskipun pengurangan kadar xilosa tidak terjadi secara signifikan.

Tabel 4.8 Kadar xilosa dalam hidrolisat

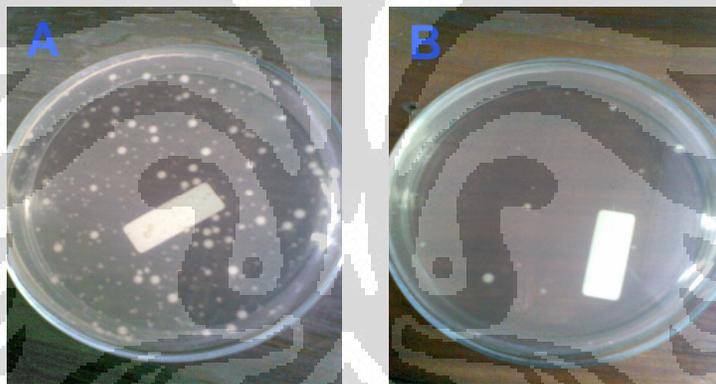
Hidrolisat	Kadar xilosa (g/L)
Dengan ampas	6,91
Tanpa ampas	6,3

4.8 Penghitungan Jumlah Sel Khamir

Pada proses fermentasi diperlukan pengukuran pertumbuhan mikroorganisme, baik pengukuran jumlah sel maupun biomassa sel, karena jumlah sel khamir yang terdapat dalam proses fermentasi dapat mempengaruhi biokonversi xilosa menjadi xilitol. Pada umumnya, semakin banyak jumlah sel khamir, maka hasil fermentasi yang terbentuk juga semakin banyak. Pada penelitian ini dilakukan perhitungan jumlah sel khamir

dengan menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*). Perhitungan jumlah sel dilakukan pada kedua khamir serta dilakukan secara duplo untuk mendapatkan data yang lebih akurat.

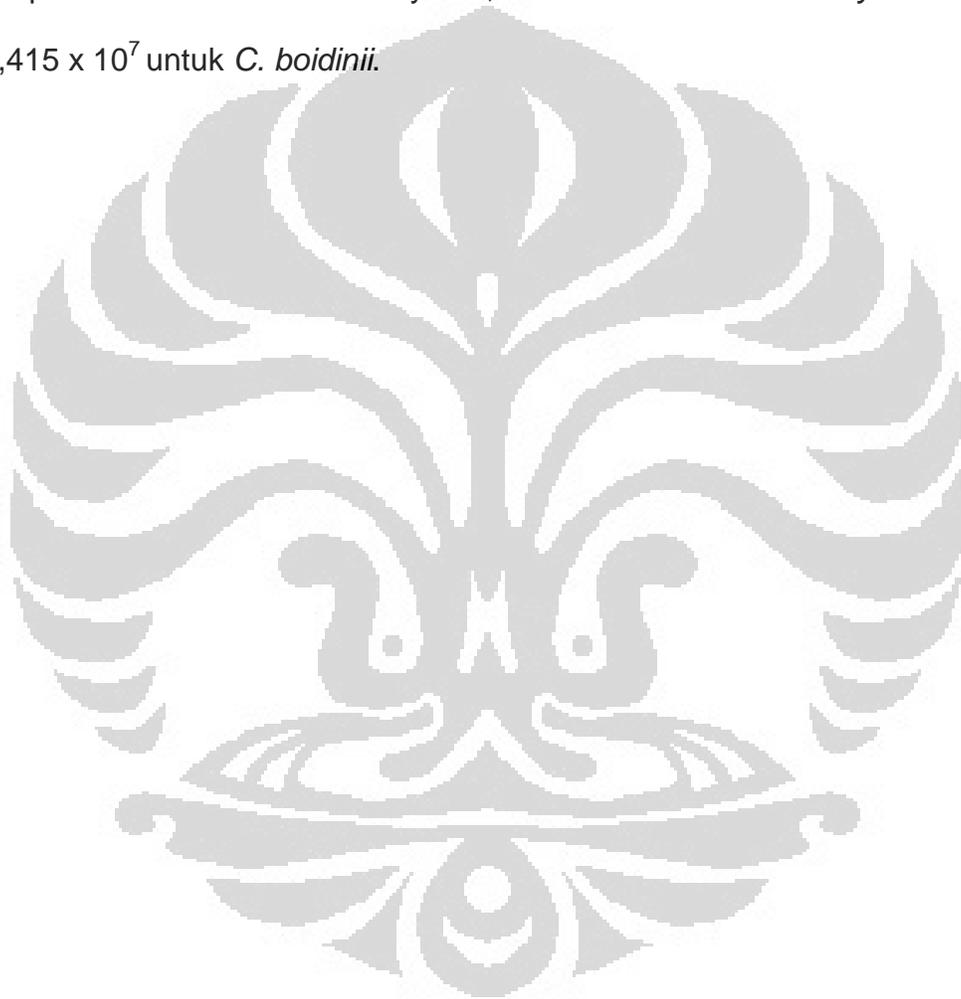
TPC dilakukan dengan cara menuangkan 1 mL suspensi khamir ke dalam 99 ml air steril kemudian dilakukan pengenceran hingga 10^7 kali, yang terbagi dalam 5 tahap, yaitu pengenceran 10^2 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 . Hasil pengenceran ini diinkubasi 2 hari pada cawan petri yang mengandung media YMA. Setelah 2 hari dilakukan perhitungan koloni yang diperoleh. Berikut adalah gambar hasil inkubasi selama 2 hari untuk TPC.



Gambar 4.11 Hasil TPC *C. fukuyamaensis*
(A) Pengenceran 10^5 kali (B) Pengenceran 10^7 kali

Dengan metode TPC, perhitungan hanya dapat dilakukan jika koloni berada dalam rentang 30- 300 cfu. Apabila jumlah koloni melebihi rentang tersebut data yang dihasilkan tidak lagi representatif. Kekurangan dari metode TPC ini adalah tidak dapat digunakan untuk menghitung inokulasi, namun dengan metode ini organisme yang hidup dapat dihitung.

Dari perhitungan diperoleh jumlah sel (pada pengenceran 10^5 kali) untuk *C. fukuyamaensis* adalah sebanyak 226 dan 240 (menjadi 233 setelah dirata-ratakan), dan untuk *C. boidinii* adalah sebanyak 232 dan 251 (menjadi 241,5 setelah dirata-ratakan). Sehingga jumlah sel yang terdapat dalam 1 mL suspensi khamir adalah sebanyak $2,33 \times 10^7$ sel untuk *C. fukuyamaensis* dan $2,415 \times 10^7$ untuk *C. boidinii*.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Hidrolisis kimiawi 1 g tongkol jagung pada konsentrasi H_2SO_4 0,3 M; waktu hidrolisis 25 menit dan suhu 121 °C menghasilkan xilosa sebesar 34,34 % (w/w) dengan persen hidrolisis 95,39 % (w/w).
2. *C. fukuyamaensis* dan *C. boidinii* dapat mengkonversi xilosa dalam hidrolisat menjadi xilitol.
3. Fermentasi menggunakan *C. fukuyamaensis* menghasilkan kadar xilitol tertinggi sebesar 0,23 g/L dengan persen konversi 3,59 % (w/w) dan persen yield 0,68% (w/w), sedangkan untuk fermentasi menggunakan *C. boidinii* didapatkan kadar xilitol sebesar 0,084 g/L dengan persen konversi 1,38% (w/w) dan persen yield 0,25% (w/w).
4. Kondisi fermentasi seperti tanpa dan dengan ampas serta tertutup dan tidak tertutup tidak mempengaruhi jumlah xilitol yang dihasilkan secara signifikan.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penambahan kosubstrat lainnya (seperti glukosa dan arabinosa) untuk mengetahui pengaruhnya terhadap konversi xilosa menjadi xilitol.

2. Perlu dilakukan optimasi terhadap kondisi fermentasi, seperti pH dan lama waktu fermentasi untuk mengetahui kondisi optimum dalam proses fermentasi menggunakan hidrolisat tongkol jagung.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme untuk mengetahui pengaruh-pengaruhnya terhadap biokonversi xilosa menjadi xilitol.



DAFTAR PUSTAKA

1. Yulianto. W. A. "Gula Permen Karet Menjaga Kesehatan Gigi."
<http://www.sinarharapan.co.id/ipitek/kesehatan/20031107/kes3.html>.
11 Januari 2008, pukul 10.28.
2. Makinen, K.K. "History, Safety, and Dental Properties of Xylitol." 7
halaman. <http://www.xylitol.org/drmakinen.html>. 11 Januari 2008, pukul
10.45.
3. Sellman, S. "Xylitol – Our Sweet Salvation?" 9 halaman.
<http://www.laleva.cc/food/xylitol.html>. 11 Januari 2008, pukul 10.50.
4. Kontiokari, T., Uhari, M., Koskela, M. 1995. "Effect of Xylitol on Growth
of Nasopharyngeal Bacteria in Vitro." *Antimicrobial Agents and
Chemotherapy*. 39 (8): 1820-1823.
5. "Reduced-calorie sweeteners Xylitol." 3 halaman.
<http://www.caloriecontrol.org/xylitol.html>. 12 Januari 2008, pukul 15.15.
6. Saha, C. B. 2003. "Hemicellulose Biocoverion." *J Ind, Microbial
Biotech*, (30): 279-291.
7. Sjostrom, E. 1995. *Kimia Kayu, dasar-dasar dan penggunaan*,
terjemahan dari *Wood chemistry, fundamentals and applications*, oleh
Sastrohamidjoyo, H. Gajah Mada University Press, Yogyakarta: viii +
390 halaman.

8. Huda, Thorikul. "Tongkol Jagung sebagai Bahan Plastik Masa Depan."
<http://thorig.wordpress.com/2007/02/01/hello-world/>. 5 Maret 2008,
pukul 10.30.
9. Nurmalia. 2007. *Studi Optimasi Hidrolisis Kimiawi Ampas Tebu untuk Menghasilkan D-Xilosa sebagai Bahan Pembuatan Xylitol*. Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
10. "Xylitol." 3 halaman. <http://en.wikipedia.org/wiki/Xylitol>. 28 Januari 2008, pukul 14.33.
11. Kiet, L. A., Peter, M., Marilyn, R. 2006. "Xylitol, Sweeteners, and Dental Caries." *Pediatric Dentistry*. (28):154-163.
12. "Safety data for d-(+)-xylose. "
[http://www.psychem.ox.ac.uk/MSDS/XY/d-\(+\)-xylose.html](http://www.psychem.ox.ac.uk/MSDS/XY/d-(+)-xylose.html). 28 Januari 2008, pukul 14.50.
13. Denmark's Technical University. 2007. *Ethanol Potential for Empty Fruit Bunches Pre-treated by Wet-Explosion*. Bio Centrum-DTU. hlm.5.
14. Palonen, H. 2004. *Role of Lignin in the Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose*. VTT Biotechnology. Espoo.
15. Nelson, D. L., Michael, M. C. 2005. *Principles of Biochemistry*. Lehninger. Hlm. 247-252. 4th Edition. WH Freeman and Company, Newyork, Hlm. 247-252.
16. Der Reyden, D. Van. 1992. "Recent Scientific Research in Paper Conservation." *J. Am. Inst. Conservation*. 31 (1): 117-138.

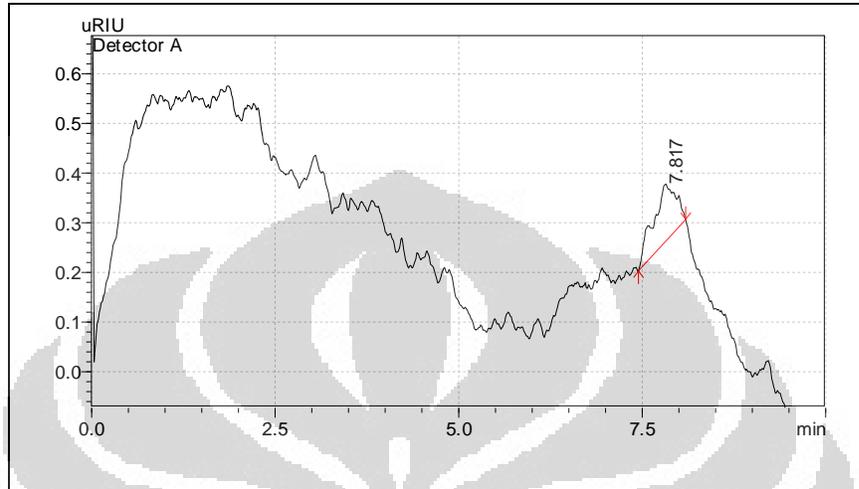
17. NurBayti, S. 2002. *Produksi dan Karakterisasi Selulase Penicillium nalgiovense Laxa dari Sarang Rayap*. Karya Utama Magister Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
18. "Jagung." <http://en.wikipedia.org/wiki/Jagung>. 5 Maret 2008, pukul 10.20.
19. "Tanaman Penghasil Pati." <http://www.iptek.net.id/ind/warintek/?mnu=6&ttg=6&doc=6a6>. 5 Maret 2008, pukul 09.42.
20. "Statistika Pertanian." <http://www.deptan.go.id>. 5 Maret 2008, pukul 10.45.
21. Aditya, A. 2004. *Studi Pendahuluan Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisis Sekam Padi (Oryza sativa L.) dengan Menggunakan Enzim Xilanase dari Trichoderma viridae untuk Menghasilkan D-Xilosa sebagai Bahan Dasar Xilitol*. FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
22. Pessoa, JR. A., Mancilha, I. M., Sato, S. 1997. "Acid Hydrolysis Of Hemicellulose from Sugarcane Bagasse." *Braz. J. Chem. Eng.* 14 (3)
23. Aguilar, R., dkk. 2002. "Kinetic Study of the Acid Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse." *Journal of Food Engineering.* (55): 309-318.
24. Dominguez, Jose M., dkk. 1997. "Dilute Acid Hemicellulose Hydrolysates from Corn Cobs for Xylitol Production by Yeast." *Bioresource Technology.* (61): 85-90.

25. Mussatto, Solange I., Roberto, Inês C. 2004. "Optimal Experimental Condition for Hemicellulosic Hydrolyzate Treatment with Activated Charcoal for Xylitol Production." *Biotechnol. Prog.* (20): 134-139.
26. Buhner, J., Anglebevor, F. A. "Dilute Acid Hydrolysis and Fermentation of Corn Fiber to Xylitol." 2 halaman.
<http://www.p2pays.org/ref/35/34369.pdf>. 12 Januari 2008, pukul 15.24.
27. Xiang, Q., Yong, Y. L., Robert, W. T. 2004. "Kinetics of Glucose Decomposition During Dilute-Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass." *App. Biochem. Biotech.* 113-116.
28. Karhumaa, K., dkk. 2006. "High Activity of Xylose Reductase and Xylitol Dehydrogenase Improves Xylose Fermentation by Recombinant *Saccharomyces Cerevisiae*." *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (73): 1039-1046.
29. Horitsu, H., dkk. 1992. "Production of Xylitol from D-Xylose by *Candida tropicalis*: Optimization of Production Rate." *Biotechnology and Bioengineering.* (40): 1085-1091.
30. Granström, Tom B., Izumori, K., Leisola, M. 2007. "A Rare Sugar Xylitol. Part I: the Biochemistry and Biosynthesis of Xylitol." *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (74): 277-281.
31. "[Candida \(Genus\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Candida_(genus))." [http://en.wikipedia.org/wiki/Candida_\(genus\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Candida_(genus)). 28 Januari 2008, pukul 14.24.
32. http://www.innovations-report.de/bilder_neu/51731_mikroben.jpg. 9 Juni 2008, pukul 14.11.

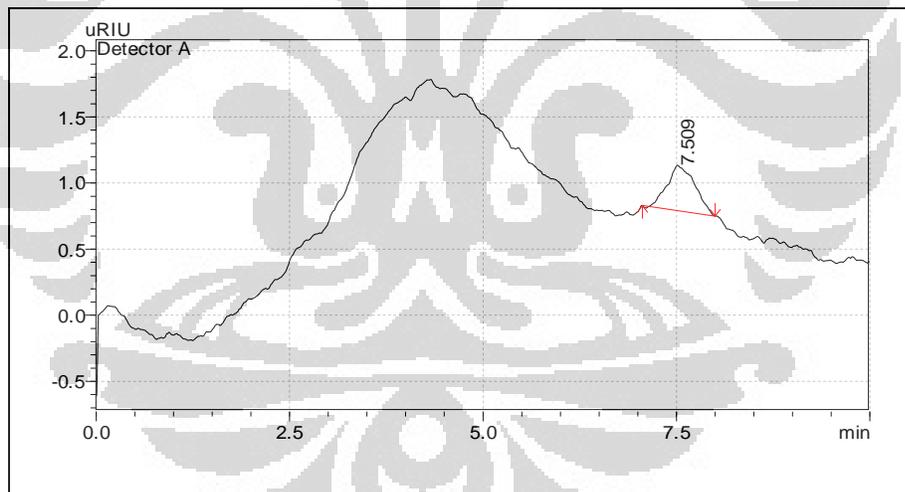
33. Husin, A. A. 2006. "Pemanfaatan Limbah untuk Bahan Bangunan."
Hlm.8.
34. Wijanarko, A., Witono, J. A., Wiguna, M. S. 2006. *Tinjauan Komprehensif Perancangan Awal Pabrik Furfural Berbasis Ampas Tebu di Indonesia. J. Indo. Oil. Gas. Community. Komunitas Migas Indonesia.* 1-10.
35. Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi.* Jakarta: Gramedia.
36. Urliandini, L. C. 2005. *Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisis Enzimatik Ampas Tebu untuk Menghasilkan D-Xilosa sebagai Bahan Dasar Xilitol.* Karya Utama Sarjana Kimia. FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
37. Setiasih, Siswati, dkk. 2006. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi.*
38. Setiasih, Siswati dan Endang Saepudin. 2005. *Handout Kuliah: Bioteknologi.*

LAMPIRAN 1 : Kromatogram standar xilosa

1. Xilosa 50 ppm

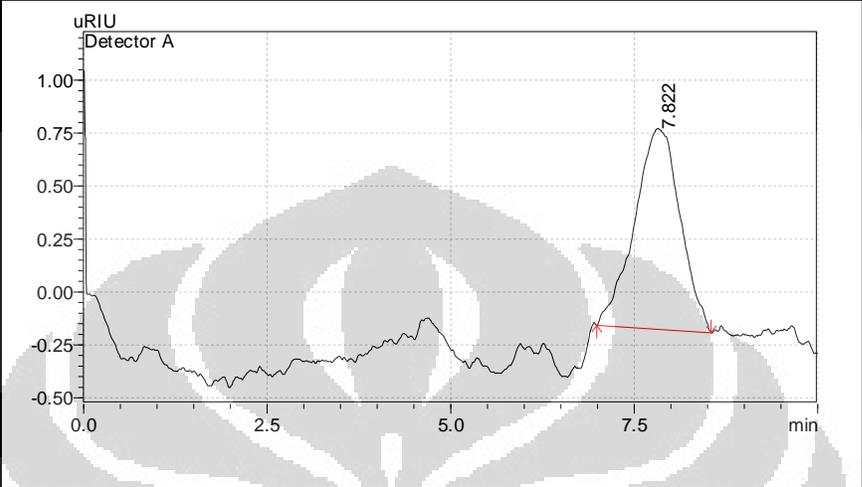


2. Xilosa 100 ppm

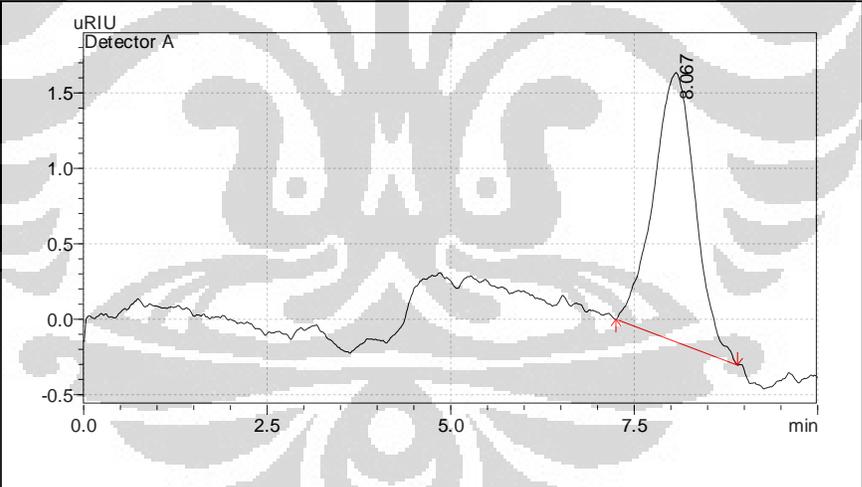


LAMPIRAN 1 : Lanjutan

3. Xilosa 250 ppm



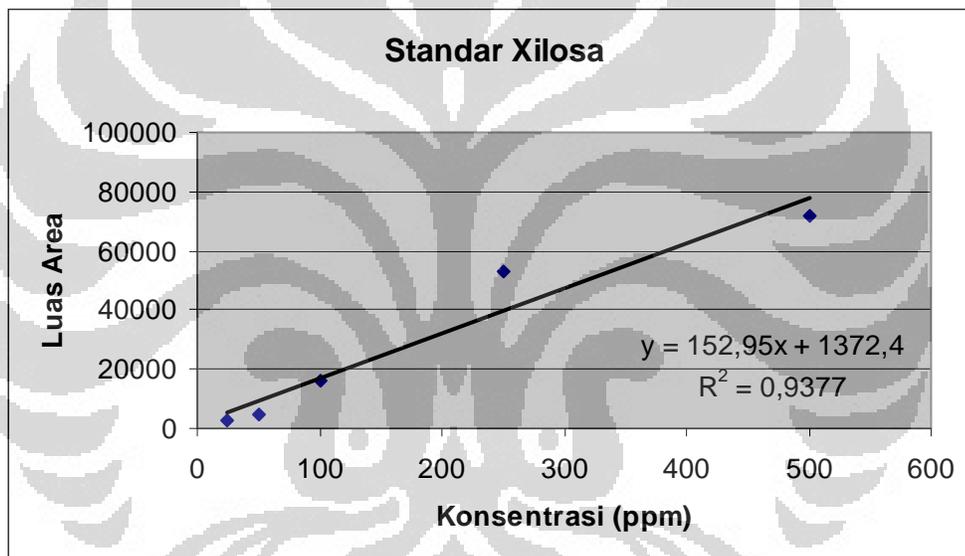
4. Xilosa 500 ppm



LAMPIRAN 1 : Lanjutan

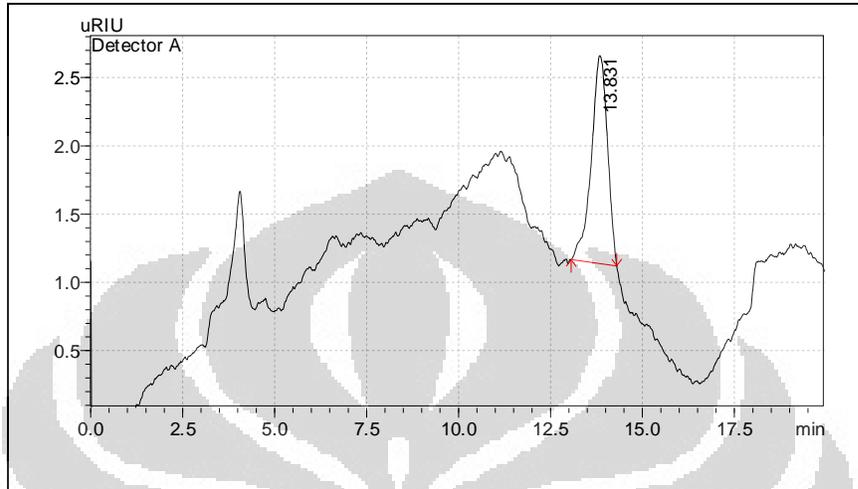
Grafik standar xilosa

Xilosa (ppm)	Luas Area
25	2541
50	4945
100	16025
250	53018
500	71813



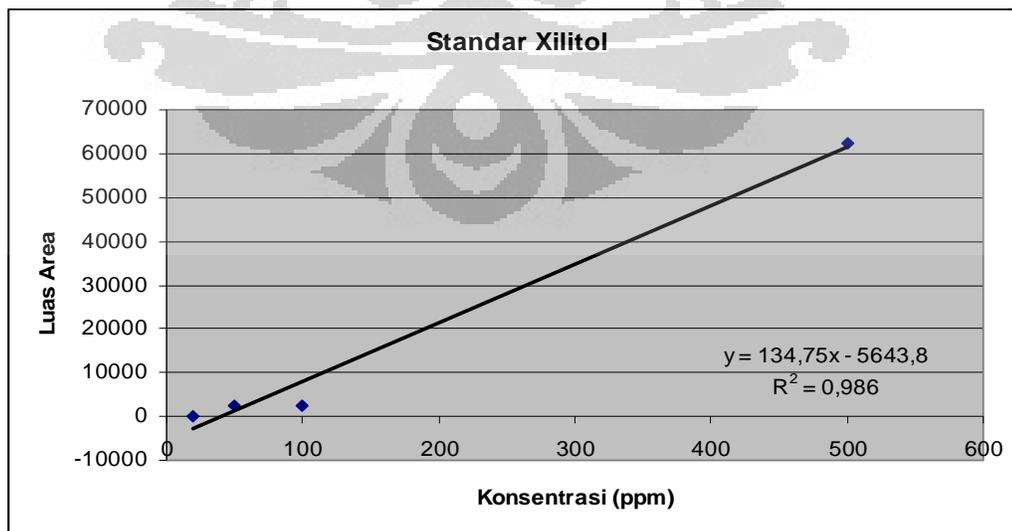
LAMPIRAN 2 : Kromatogram standar xilitol

Xilitol 500 ppm



Grafik standar xilitol

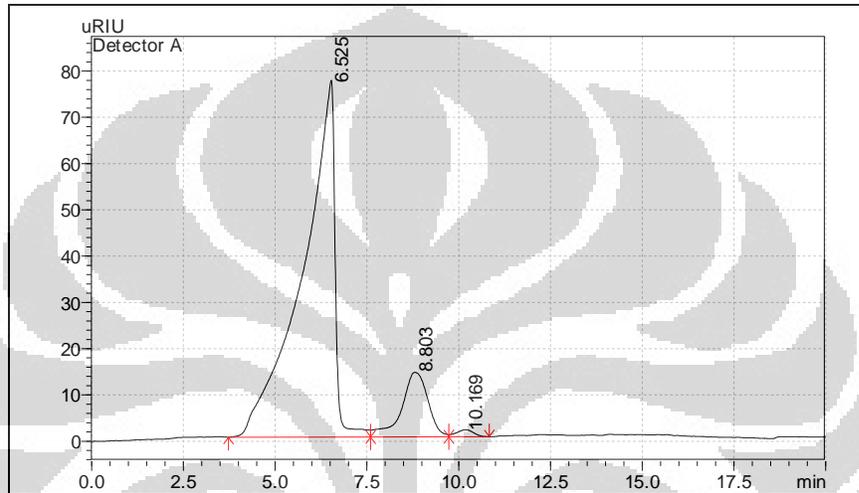
Xilosa (ppm)	Luas Area
20	75
50	2495
100	2626
500	62511



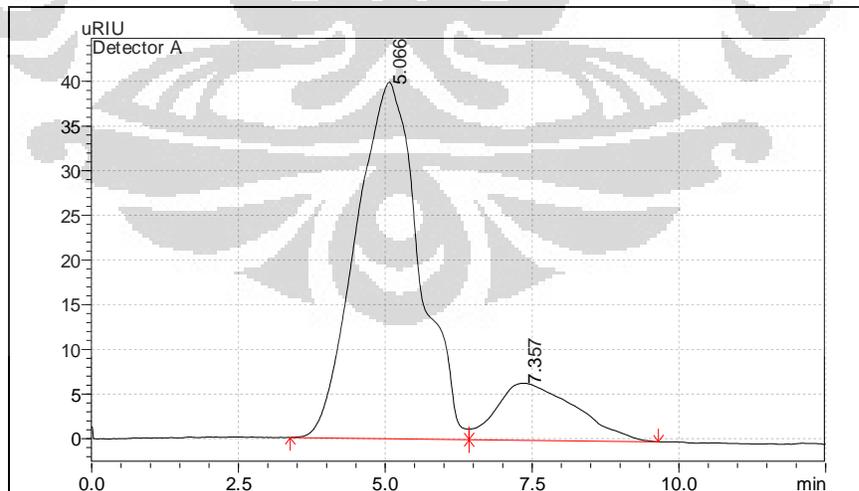
Lampiran 3 : Kromatogram hasil pengukuran HPLC untuk hidrolisat

Variasi bentuk substrat tongkol jagung

1. Konsentrasi asam 0,3 M, waktu hidrolisis 25 menit, temperatur 121°C (250 °F), bentuk substrat: halus



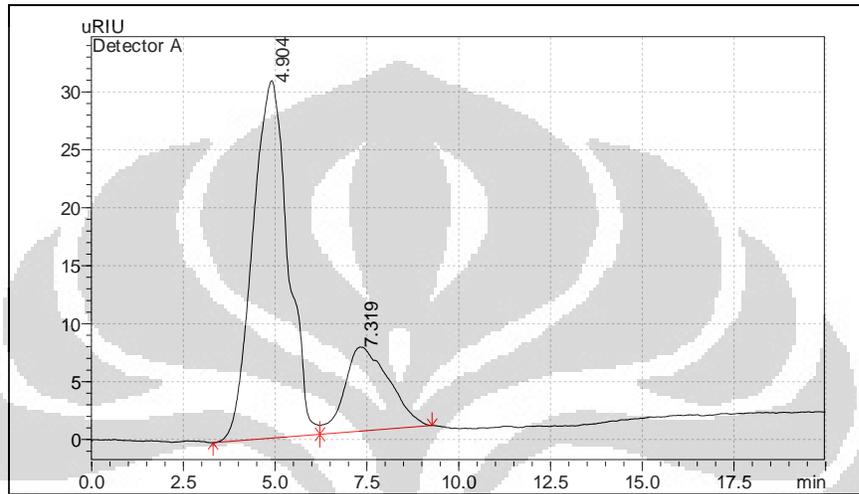
2. Konsentrasi asam 0,3 M, waktu hidrolisis 25 menit, temperatur 121°C (250 °F), bentuk substrat: kasar



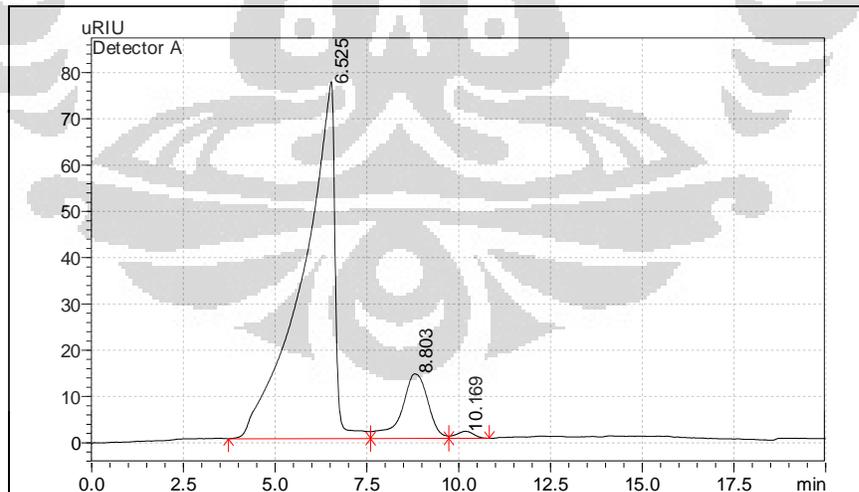
LAMPIRAN 3 : Lanjutan

Variasi konsentrasi asam

1. Konsentrasi asam 0,2 M, waktu hidrolisis 25 menit, temperatur 121°C (250 °F)



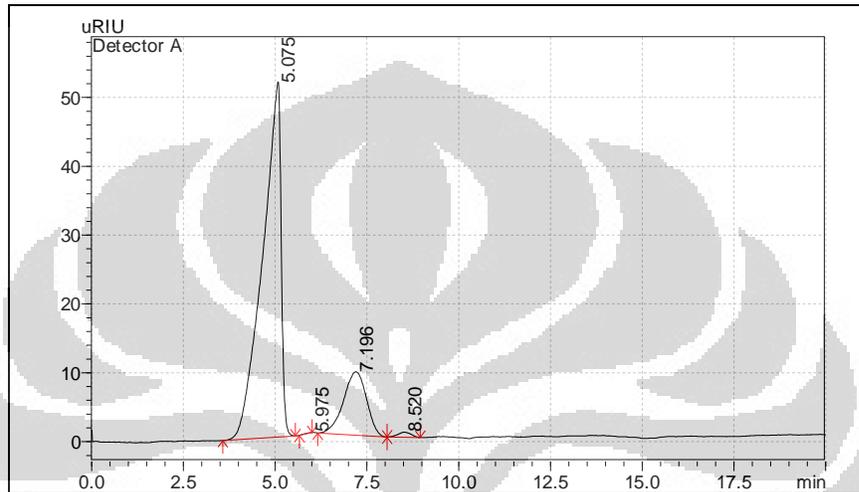
2. Konsentrasi asam 0,3 M, waktu hidrolisis 25 menit, temperatur 121°C (250 °F)



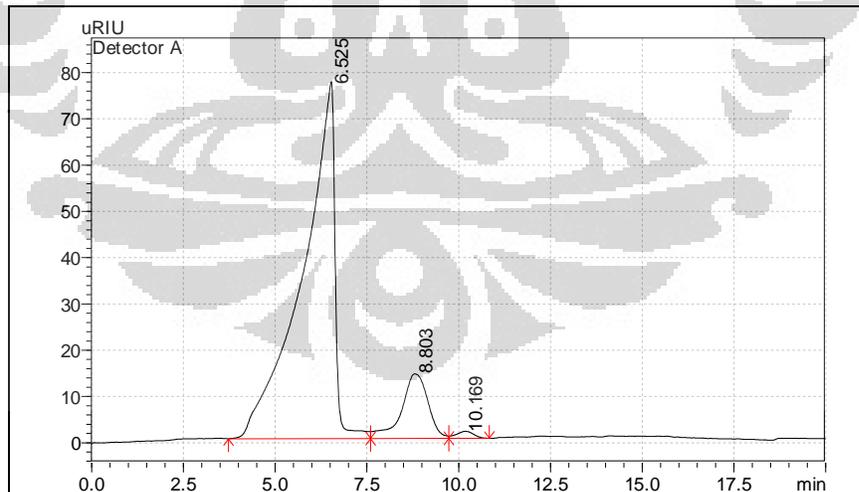
LAMPIRAN 3 : Lanjutan

Variasi waktu hidrolisis

1. Konsentrasi asam 0,3 M, waktu hidrolisis 20 menit, temperatur 121°C (250 °F)

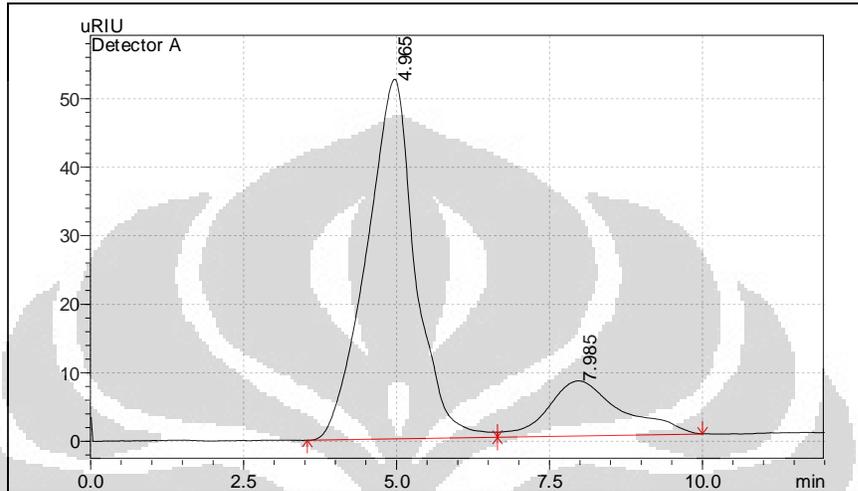


2. Konsentrasi asam 0,3 M, waktu hidrolisis 25 menit, temperatur 121°C (250 °F)



LAMPIRAN 3 : Lanjutan

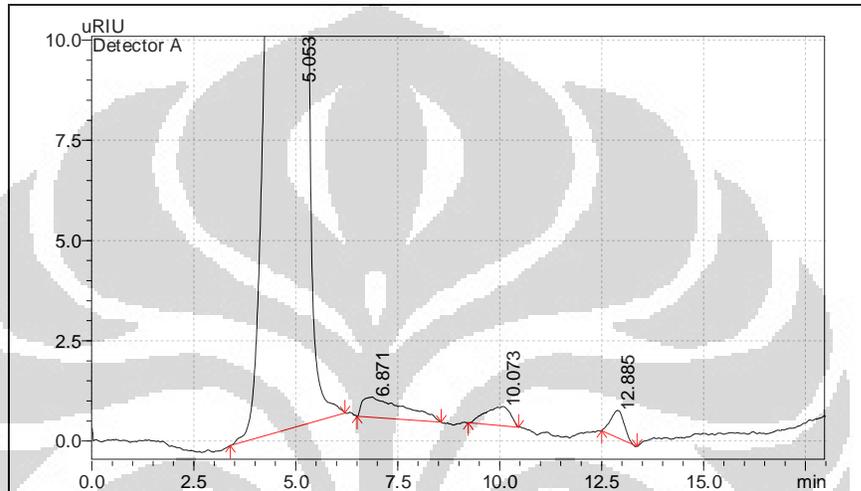
3. Konsentrasi asam 0,3 M, waktu hidrolisis 60 menit, temperatur 121°C (250 °F)



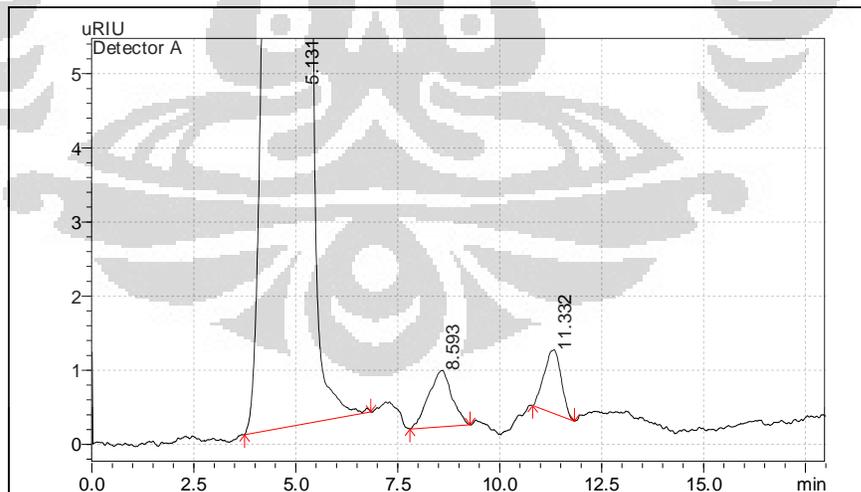
Lampiran 4 : Kromatogram hasil pengukuran HPLC untuk variasi spesies *Candida*, kondisi fermentasi, dan kondisi hidrolisat

1. *C. Fukuyamaensis*

- Anaerob, dengan ampas

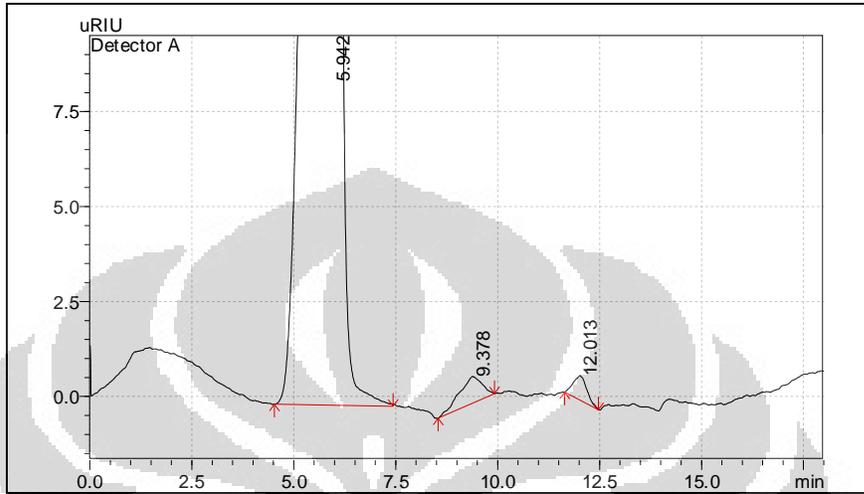


- Aerob, dengan ampas

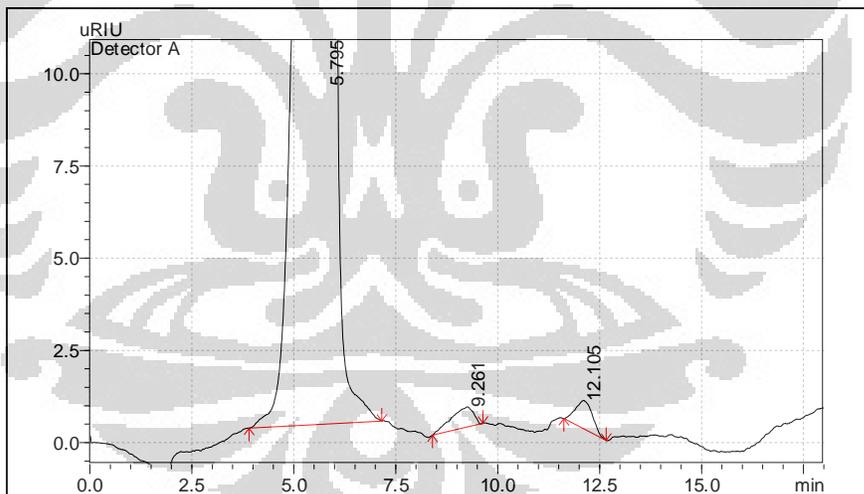


LAMPIRAN 4 : Lanjutan

- Anaerob, tanpa ampas

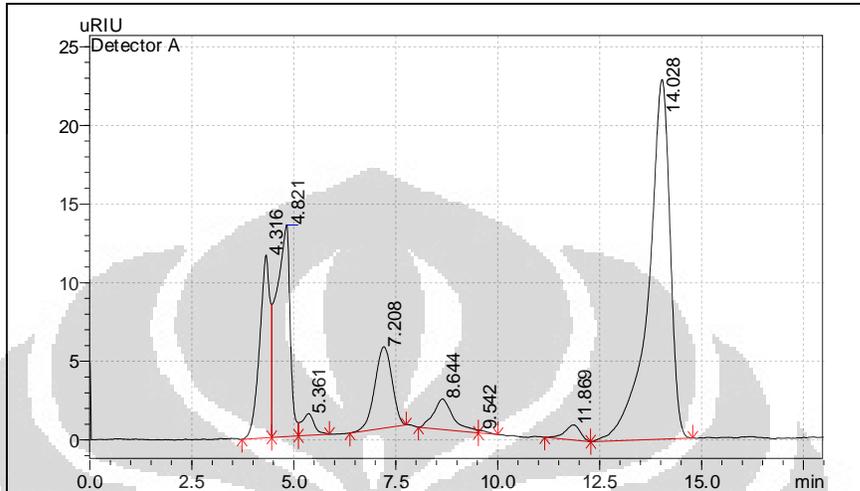


- Aerob, tanpa ampas

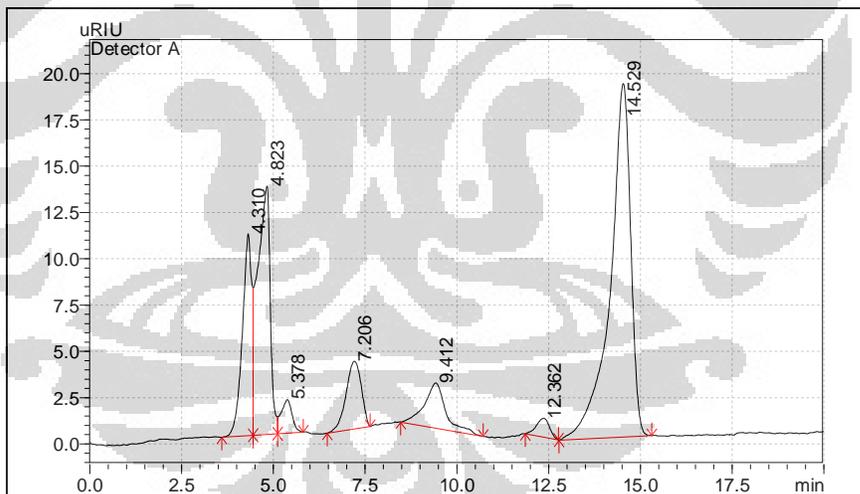


LAMPIRAN 4 : Lanjutan

- Anaerob, xilosa murni



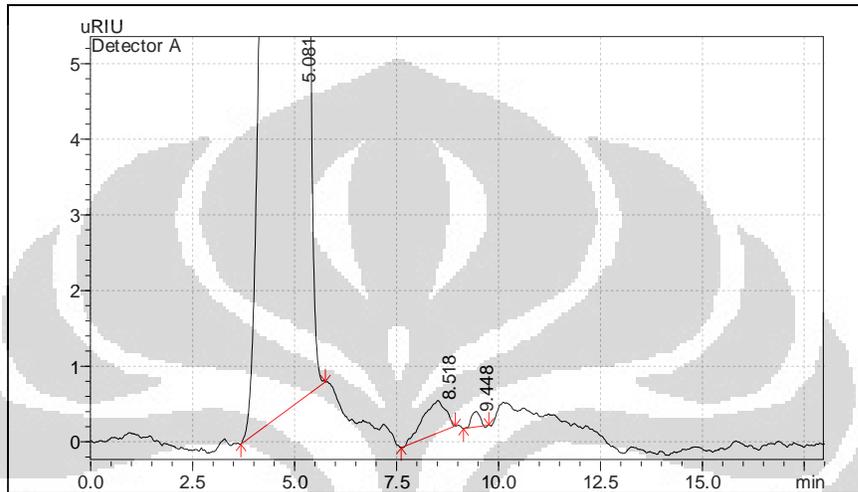
- Aerob, xilosa murni



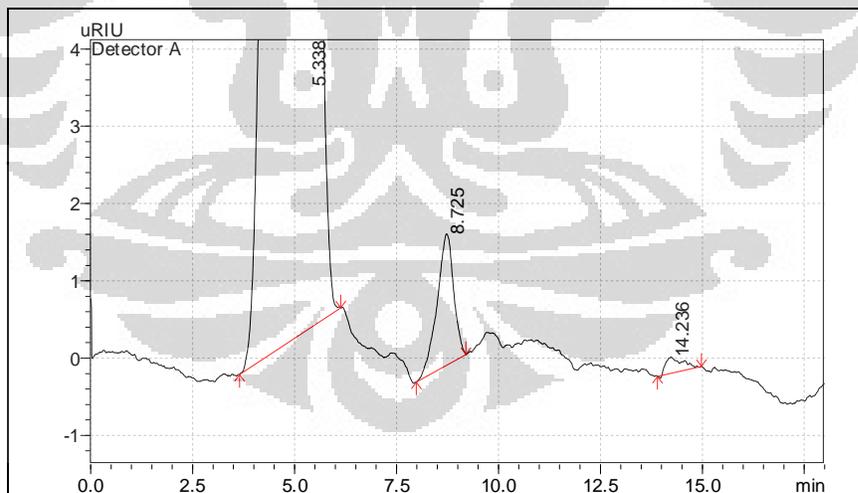
LAMPIRAN 4 : Lanjutan

2. *C. Boidinii*

- Anaerob, dengan ampas

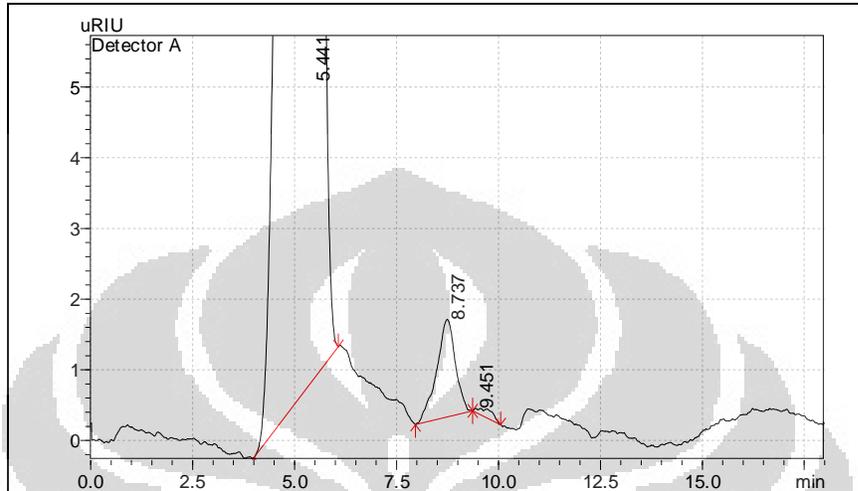


- Aerob, dengan ampas

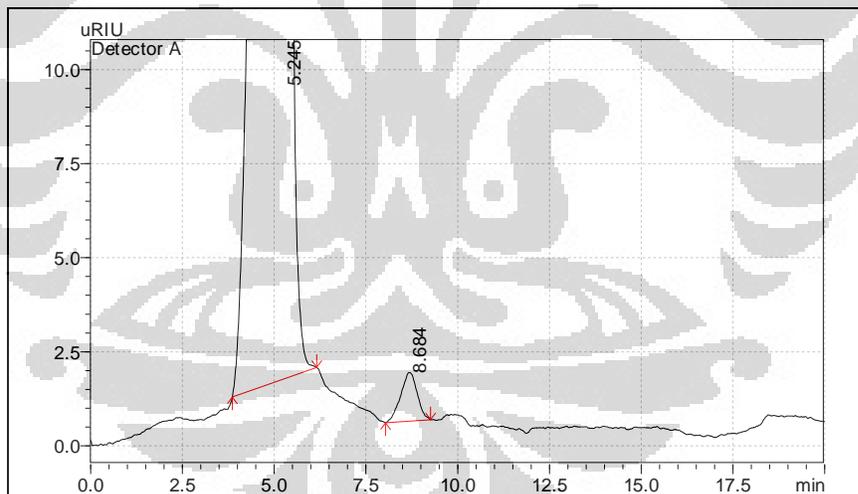


LAMPIRAN 4 : Lanjutan

- Anaerob, tanpa ampas

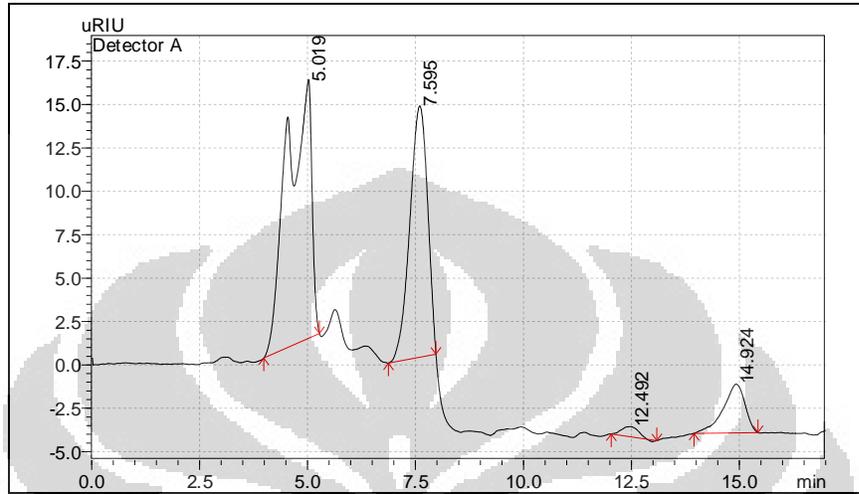


- Aerob, tanpa ampas

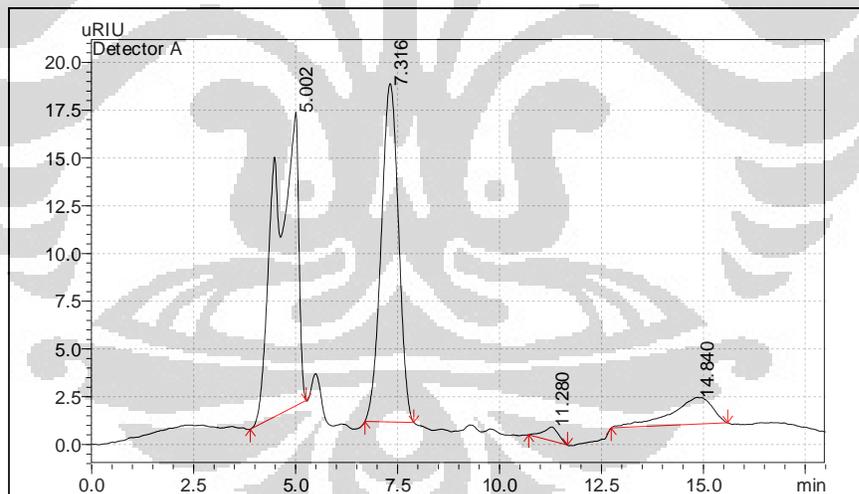


LAMPIRAN 4 : Lanjutan

- Anaerob, xilosa murni (kontrol)



- Aerob, xilosa murni (kontrol)



Lampiran 5 : Tabel pengelompokan data hasil pengukuran dengan HPLC

1. Variasi bentuk substrat tongkol jagung

Bentuk Substrat	Peak 1 Xilo-oligo		Peak 2 Xilosa		Peak3 Arabinosa	
	tr	LA	tr	LA	tr	LA
Halus	6,525	4705280	8,803	701723	10,169	50301
Kasar	5,066	2996992	7,357	600231	tdk t'identifikasi	tdk t'identifikasi

2. Variasi konsentrasi asam

Konsentrasi Asam	Peak 1 Xilo-oligo		Peak 2 Xilosa		Peak 3 Arabinosa	
	tr	LA	tr	LA	tr	LA
0,2 M	4,904	2066805	7,319	610063	tdk t'identifikasi	tdk t'identifikasi
0,3 M	6,525	4705280	8,803	701723	10,169	50301

Lampiran 5 : Lanjutan

3. Variasi waktu hidrolisis

Waktu Hidrolisis (menit)	Peak 1 Xilo-oligo		Peak 2 Xilosa		Peak 3 Arabinosa	
	tr	LA	tr	LA	tr	LA
20	5,075	1794425	7,196	401923	tdk t'identifikasi	tdk t'identifikasi
25	6,525	4705280	8,803	701723	10,169	50301
60	4,965	2913796	7,985	674467	tdk t'identifikasi	tdk t'identifikasi

1. Tabel data hasil perhitungan kadar xilosa terhadap variasi bentuk substrat tongkol jagung

Bentuk Substrat	Luas Area	Kadar Xilosa (ppm)	fp (2,5)	Xilosa (g/L)	Xilosa (g/mL)	Xilosa (g/30 mL)	% Yield (w/w)	% Konversi (w/w)
Halus	701723	4578,95	11447,38	11,45	0,0114	0,3434	34,34	95,39
Kasar	600231	3915,39	9788,47	9,79	0,0098	0,2936	29,36	81,57

2. Tabel data hasil perhitungan kadar xilosa terhadap variasi konsentrasi asam

Konsentrasi Asam	Luas Area	Kadar Xilosa (ppm)	fp (2,5)	Xilosa (g/L)	Xilosa (g/mL)	Xilosa (g/30 mL)	% Yield (w/w)	% Konversi (w/w)
0,2 M	610063	3979,67	9949,18	9,95	0,0099	0,2985	29,85	82,91
0,3 M	701723	4578,95	11447,38	11,45	0,0114	0,3434	34,34	95,39

3. Tabel data hasil perhitungan kadar xilosa terhadap variasi waktu hidrolisis

Waktu Hidrolisis	Luas Area	Kadar Xilosa (ppm)	fp (2,5)	Xilosa (g/L)	Xilosa (g/mL)	Xilosa (g/30 mL)	% Yield (w/w)	% Konversi (w/w)
20'	401923	2618,83	6547,08	6,55	0,0065	0,1964	19,64	54,56
25'	701723	4578,95	11447,38	11,45	0,0114	0,3434	34,34	95,39
60'	674467	4400,75	11001,87	11,00	0,0110	0,3300	33,00	91,68

LAMPIRAN 6 : Lanjutan

Lampiran 7 : Data perhitungan hasil fermentasi

1. Tabel data hasil perhitungan kadar xilosa

Parameter	Luas Area	Kadar Xilosa (ppm)	Xilosa (g/L)	Xilosa (g/mL)	Xilosa (g/30 mL)
A Boi 1	48238	306,41	0,77	0,00077	0,023
A Boi 2	17191	103,42	0,26	0,00026	0,008
A Fuk 1	30310	189,20	0,47	0,00047	0,014
A Fuk 2	37094	233,55	0,58	0,00058	0,018
B Boi 1	40549	256,14	0,64	0,00064	0,019
B Boi 2	44364	281,08	0,7	0,0007	0,021
B Fuk 1	Tidak terdeteksi adanya xilosa				
B Fuk 2	Tidak terdeteksi adanya xilosa				
X boi 1	524678	3421,42	8,55	0,00855	0,257
X boi 2	413699	2695,83	6,74	0,00674	0,202
B TY 1	386770	2519,76	6,3	0,0063	0,189
B TY 2	375223	2444,27	6,11	0,00611	0,183
A TY 1	424219	2764,61	6,91	0,00691	0,207
A TY 2	418874	2729,66	6,82	0,00682	0,205
X Fuk 1	106080	684,59	1,71	0,00171	0,051
X Fuk 2	152414	987,52	2,47	0,00247	0,074

LAMPIRAN 7 : Lanjutan

2. Tabel data hasil perhitungan kadar xilitol

Parameter	Luas Area	Kadar Xilitol (ppm)	Xilitol (g/L)	Xilitol (g/mL)	Xilitol (g/30 mL)	% Yield (w/w)
A Boi 1	5750	84,56	0,084	8,5E-05	0,0025	0,254
A Boi 2	Tidak terdeteksi adanya xilitol					
A Fuk 1	22490	208,78	0,209	0,00021	0,0063	0,626
A Fuk 2	14950	152,83	0,153	0,00015	0,0046	0,458
B Boi 1	Tidak terdeteksi adanya xilitol					
B Boi 2	Tidak terdeteksi adanya xilitol					
B Fuk 1	24862	226,39	0,226	0,00023	0,0068	0,679
B Fuk 2	15669	158,16	0,158	0,00016	0,0047	0,474
X boi 1	99321	778,96	0,779	0,00078	0,0234	2,337
X boi 2	98738	774,63	0,775	0,00077	0,0232	2,324
B TY 1	Tidak terdeteksi adanya xilitol					
B TY 2	Tidak terdeteksi adanya xilitol					
A TY 1	Tidak terdeteksi adanya xilitol					
A TY 2	Tidak terdeteksi adanya xilitol					
X Fuk 1	739522	5529,99	5,530	0,00553	0,1659	16,59
X Fuk 2	842101	6291,24	6,291	0,00629	0,1887	18,87

LAMPIRAN 7 : Lanjutan

3. Tabel data persen konversi xilosa menjadi xilitol

Parameter	Xilosa awal (g/L)	Xilosa sisa (g/L)	Xilosa yang dikonsumsi (g/mL)	Xilitol yang terbentuk (g/30 mL)	% Konversi (w/w)
A Boi 1	6,91	0,77	6,14	0,084	1,38
A Boi 2	6,82	0,26	6,56	0	0
A Fuk 1	6,91	0,47	6,44	0,209	3,24
A Fuk 2	6,82	0,58	6,24	0,153	2,45
B Boi 1	6,30	0,64	5,66	0	0
B Boi 2	6,11	0,70	5,41	0	0
B Fuk 1	6,30	0	6,30	0,226	3,59
B Fuk 2	6,11	0	6,11	0,158	2,59
X boi 1	20	8,55	11,45	0,779	6,80
X boi 2	20	6,74	13,26	0,775	5,84
B TY 1	6,30	6,30	0	0	0
B TY 2	6,11	6,11	0	0	0
A TY 1	6,91	6,91	0	0	0
A TY 2	6,82	6,82	0	0	0
X Fuk 1	20	1,71	18,29	5,530	30,24
X Fuk 2	20	2,47	17,53	6,291	35,88

Keterangan: A: dengan ampas

B: tanpa ampas

Boi: *C. boidinii*

Fuk: *C. fukuyamaensis*

1: tidak tertutup rapat

2: tertutup rapat

X: xilosa murni

TY: tanpa yeast

LAMPIRAN 7 : Lanjutan

Contoh cara perhitungan:

1. Xilosa

Persamaan regresi linier dari grafik std xilosa $y = 152,95x + 1372,4$; y = luas area dan x = konsentrasi xilosa (ppm)

Misal pada sampel 0,3 M => Luas area (y) = 701723, maka konsentrasi xilosa (x) = $(701723-1372,4)/152,95 = 4578,95$ ppm

Karena terjadi pengenceran 2,5 x, maka dalam larutan terdapat:

$$4578,95 \text{ ppm} \times 2,5 = 11447,37 \text{ ppm} = 0,0114 \text{ g/mL} = 11,45 \text{ g/L}$$

Karena volume larutan 30 mL, maka dalam 30 mL larutan terdapat:

$$0,0114 \text{ g/mL} \times 30 \text{ mL} = 0,3434 \text{ g}$$

Sehingga % yield xilosa dalam 1 g tongkol jagung = $(0,3434\text{g}/1 \text{ g}) \times 100 \% = 34,34\%$ (w/w), dengan persen hidrolisis xilan menjadi xilosa = $(34,34\%/36\%) \times 100\% = 95,39 \%$ (w/w), dimana 36% adalah kadar hemiselulosa dalam tongkol jagung.

2. Xilitol

Persamaan regresi linier dari grafik std xilitol $y = 134,75x - 5634,8$; y = luas area dan x = konsentrasi xilitol (ppm)

Misal pada sampel C. fukuyamaensis => Luas area (y) = 24862, maka konsentrasi xilitol (x) = $(24862+5634,8)/1134,75 = 226,39$ ppm = 0,23 g/L = 0,00023 g/mL

Karena volume larutan 30 mL, maka dalam 30 mL larutan terdapat:

$$0,00023 \text{ g/mL} \times 30 \text{ mL} = 0,00679 \text{ g}$$

Sehingga % yield xilitol dari 1 g tongkol jagung = $(0,00679 / 1 \text{ g}) \times 100 \% = 0,67916 \%$ (w/w)

Konsentrasi awal xilosa dalam hidrolisat = 6,30 g/L

Konsentrasi xilosa sisa = 0 g/L

Konsentrasi xilosa yang dikonsumsi = 6,30 g/L

Persen konversi xilosa menjadi xilitol = $(0,23 \text{ g/L}/6,30 \text{ g/L}) \times 100 \% = 3,59 \%$.