



**BIOKONVERSI XILOSA AMPAS SINGKONG MENJADI XILITOL
MENGUNAKAN *Debaryomyces hansenii* PADA KONSENTRASI KO-
SUBSTRAT DAN KECEPATAN AGITASI YANG BERBEDA**

Skripsi

Oleh

**Laily Firdiyanti
NIM 1717101015**

**PROGAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2022



**BIOKONVERSI XILOSA AMPAS SINGKONG MENJADI XILITOL
MENGUNAKAN *Debaryomyces hansenii* PADA KONSENTRASI KO-
SUBSTRAT DAN KECEPATAN AGITASI YANG BERBEDA**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

Laily Firdiyanti
NIM 171710101015

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2022

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan sebagai rasa terima kasih yang tidak terkira kepada :

1. Allah SWT. yang selalu menyertai setiap proses yang saya jalani;
2. Orang tua saya, Bapak Ansori dan Ibu Linda Lasmiwati, saudara-saudari Andi Bilfahmi dan Fina Firdiyanti dan seluruh keluarga besar yang telah memberikan banyak kasih sayang dan semangat yang luar biasa;
3. Dr. Ir. Jayus selaku dosen pembimbing yang telah sabar dan meluangkan waktu untuk membimbing dan memberikan saran kritik dalam penyusunan skripsi ini;
4. Guru-guru saya sejak TK hingga Perguruan Tinggi yang telah memberikan dan mengajarkan ilmu yang tak terhingga manfaatnya;
5. Teman-teman THP khususnya THP A 2017, terima kasih atas kebersamaannya selama kuliah dan telah memberikan banyak cerita hidup;
6. Almamater Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

MOTTO

Boleh kamu membenci sesuatu padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi pula kamu menyukai sesuatu padahal ia amat buruk bagimu. Allah maha mengetahui apa yang hambanya tidak ketahui.

(Terjemahan Surah Al-Baqarah ayat 216)



Departemen Agama Republik Indonesia.1998. *Al-Qur'an dan Terjemahan*.
Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

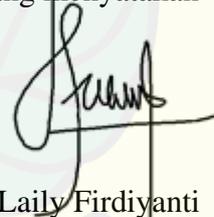
Nama : Laily Firdiyanti

NIM : 171710101015

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa, Skripsi dengan judul “Biokonversi Xilosa Ampas Singkong menjadi Xilitol menggunakan *Debaryomyces hansenii* dengan Konsentrasi Ko-Substrat dan Kecepatan Agitasi yang Berbeda” merupakan hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi skripsi ini, sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta akan mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 1 Juni 2022

Yang menyatakan



Laily Firdiyanti

NIM. 171710101015

SKRIPSI

**BIOKONVERSI XILOSA AMPAS SINGKONG MENJADI XILITOL
MENGUNAKAN *Debaryomyces hansenii* PADA KONSENTRASI
KO-SUBSTRAT DAN KECEPATAN AGITASI YANG BERBEDA**

Oleh

Laily Firdiyanti
NIM 171710101015

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama: Dr. Ir. Jayus

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Biokonversi Xilosa Ampas Singkong menjadi Xilitol menggunakan *Debaryomyces hansenii* dengan Konsentrasi Ko-Substrat dan Kecepatan Agitasi yang Berbeda” karya Laily Firdiyanti, NIM 171710101015 telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Rabu, 27 Juli 2022

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Pembimbing,
Dosen Pembimbing Utama

Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Tim Penguji

Utama

Anggota

Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P.
NIP. 196507081994032002

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si.
NIP.1979041020031220004

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Dr. Ir. Bambang Marhaento, M. Eng
NIP. 196312121990031002

RINGKASAN

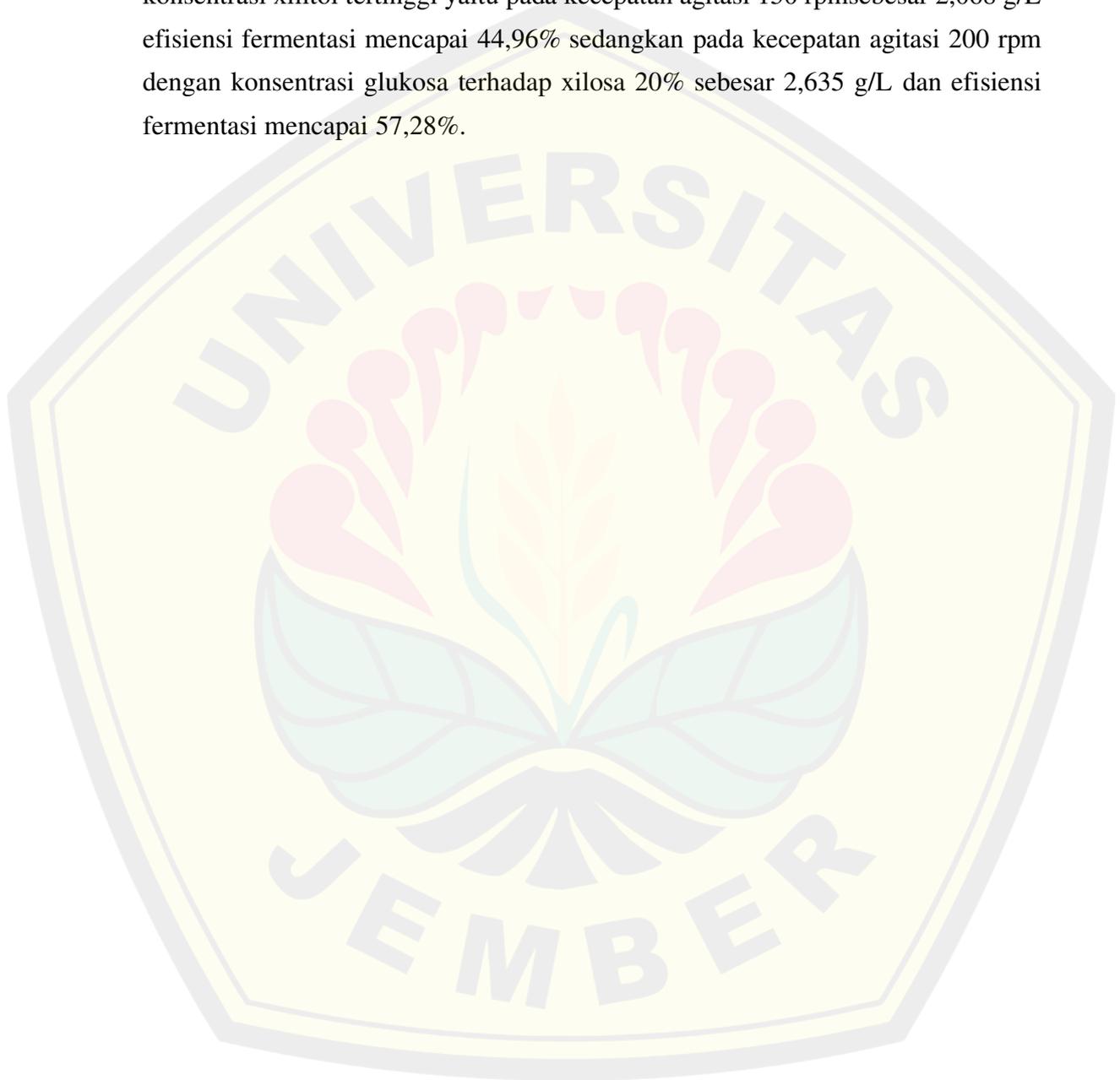
Biokonversi Xilosa Ampas Singkong menjadi Xilitol menggunakan *Debaryomyces hansenii* pada Konsentrasi Ko-Substrat dan Kecepatan Agitasi yang Berbeda; Laily Firdiyanti; 171710101015; 74 halaman; Program Studi Teknologi Hasil Pertanian; Universitas Jember.

Ampas singkong atau onggok adalah salah satu hasil samping dari pengolahan tepung singkong dan terdiri atas serat kasar yang mengandung hemiselulosa sebesar 21,3%. Hemiselulosa dapat dijadikan sebagai salah satu sumber xilan yang dapat di hidrolisis menjadi xilosa dan xilitol. Xilosa dimanfaatkan sebagai substrat dalam produksi xilitol. Pada produksi xilitol dapat dilakukan dengan metode kimiawi yakni hidrogenasi dan ekstraksi. Kedua metode tersebut memerlukan bahan baku, konsentrasi xilosa dan biaya produksi yang tinggi. Metode fermentasi dikembangkan dalam produksi xilitol dengan menggunakan mikroorganisme yang mampu memetabolisme xilosa dan menghasilkan enzim xilosa reduktase salah satunya *Debaryomyces hansenii*.

Metode fermentasi untuk produksi xilitol menggunakan khamir terdapat kelemahan rendemen atau *yield product* yang cenderung rendah, maka dari itu ditambahkan ko-substrat sebagai nutrient pendamping substrat yakni glukosa. Selain itu, kecepatan agitasi dapat mempengaruhi produksi enzim dalam fermentasi, agitasi terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat mengurangi produksi enzim dalam proses fermentasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi ko-substrat dan kecepatan agitasi menggunakan *D. hansenii* dalam produksi xilitol.

Penelitian ini dilakukan dengan 2 faktor perlakuan yaitu perbandingan glukosa terhadap xilosa 0%, 10%, 15%, dan 20% pada kecepatan agitasi 150 dan 200 rpm, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 2 kali. Penelitian dilaksanakan dalam 4 tahap yaitu proses produksi xilan dan produksi xilosa menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*. Tahap kedua peremajaan kultur khamir *D. hansenii* pada media MEA. Tahap ketiga pembuatan starter *D. hansenii* dan tahap keempat proses fermentasi xilitol dengan media xilosa ampas singkong yang dihasilkan sebelumnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa biokonversi xilosa menjadi xylitol menggunakan *D. hansenii* pertumbuhan sel dimulai jam ke 0 hingga jam ke 36 dan mulai populasi menurun setelah jam ke 36. Konsentrasi xilitol diuji dengan HPLC menggunakan sampel pada jam ke 36 dengan jumlah populasi khamir tertinggi. Penambahan konsentrasi glukosa 20% terhadap xilosa menghasilkan konsentrasi xilitol tertinggi yaitu pada kecepatan agitasi 150 rpm sebesar 2,068 g/L efisiensi fermentasi mencapai 44,96% sedangkan pada kecepatan agitasi 200 rpm dengan konsentrasi glukosa terhadap xilosa 20% sebesar 2,635 g/L dan efisiensi fermentasi mencapai 57,28%.



SUMMARY

Bioconversion of Xylose Cassava Dregs to Xylitol using *Debaryomyces hansenii* at Different Co-Substrat Concentration and Agitation Speed.; Laily Firdiyanti; 2022; 74 pages; Program Studi Teknologi Hasil Pertanian; Universitas Jember.

Cassava dregs or onggok is one of the by-products of processing cassava flour and consists of crude fiber containing 21.3% hemicellulose. Hemicellulose can be used as a source of xylan which can be hydrolyzed into xylose and xylitol. Xylose is used as a substrate in the production of xylitol. The production of xylitol can be conducted by chemical methods, hydrogenation, and extraction. Both methods require high raw materials, high xylose concentrations, and high production costs.

The fermentation method developed in the production of xylitol used microorganisms capable of metabolizing xylose and producing the enzyme xylose reductase, which is *Debaryomyces hansenii*. The fermentation method for xylitol production using yeast has the disadvantage of low product yield, therefore co-substrate is added as a complementary nutrient to the substrate, that is glucose. In addition, a difference agitation speed can affect the production of enzymes in the fermentation, higher or lower agitation can reduce the production of enzymes in the fermentation process. The purpose of this study was to determine the effect of co-substrate concentration and agitation speed on xylitol production.

This research was carried out two time with 2 treatment factors, the ratio of glucose to xylose 0%, 10%, 15%, and 20% at 2 levels of agitation speeds of 150 and 200 rpm. The research was carried out in 4 steps, the first step xylan production and xylose fermentation using *Aspergillus niger* and *Trichoderma reesei*. The second stage of rejuvenation of *D. hansenii* yeast culture on MEA. The third stage is a prepared starter of *D. hansenii* and the fourth stage is the xylitol fermentation process using the previous starter in cassava pulp xylose media.

The results showed that the bioconversion of xylose to xylitol using *D. hansenii* began to grow up to 0 to 36 hours and decrease after 36 hours fermentation. The concentration of xylitol was tested by HPLC using samples at 36 hours with the highest number of yeast populations. The addition of 20% glucose concentration to xylose resulted in the highest xylitol concentration, at an agitation speed of 150 rpm of 2,068 g/L, the efficiency of fermentation reached 44.96%, while at an agitation speed of 200 rpm with the ratio of glucose to xylose 20% of 2,635 g/L and the efficiency of fermentation reached 57.28%.



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Biokonversi Xilosa Ampas Singkong menjadi Xilitol menggunakan *Debaryomyces hansenii* pada Konsentrasi Ko-Substrat dan Kecepatan Agitasi yang Berbeda” dengan baik. Skripsi ini merupakan syarat untuk menyelesaikan studi program Strata-1 di Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penyusunan dan penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari beberapa pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ir. Bambang Marhaenanto, M. Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P. selaku Ketua Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Jember;
3. Ahmad Nafi, S.TP, M.P selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberikan saran kepada penulis selama masa perkuliahan,
4. Dr. Ir. Jayus selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dengan tulus dan sabar dalam penulisan skripsi ini hingga selesai;
5. Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P. dan Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si. selaku tim penguji yang telah memberikan saran dan evaluasi demi perbaikan dalam penulisan skripsi;
6. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc. yang telah memfasilitasi peralatan pengujian xilitol pada skripsi ini dan memberikan masukan dan saran selama pengujian xilitol skripsi ini;
7. Seluruh teknisi laboratorioum Fakultas Teknologi Pertanian yang telah memberikan masukan dan bantuan selama di laboratorium, sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar;
8. Seluruh staff dan karyawan di Lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih

atas waktunya dalam memberi informasi yang dibutuhkan dalam penelitian ini;

9. Kedua mama, ayah, adik dan kakak saya yang selalu mendoakan, mendukung dan menjadi sumber semangat bagi penulis dalam melakukan berbagai kebaikan;
10. Teman-teman seperjuangan THP A 2017 atas rasa persaudaraan, kenyamanan, dukungan, canda tawa, bersyukur bisa mengenal karakter pribadi yang berbeda-beda selama masa kuliah ini;
11. Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu sejak awal penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis berharap skripsi yang telah dibuat dapat memberikan manfaat bagi pembaca khususnya mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Terimakasih dan semoga skripsi ini bisa memberikan sumbangsih positif bagi kita semua.

Penulis

Laly Firdiyanti
NIM 171710101015

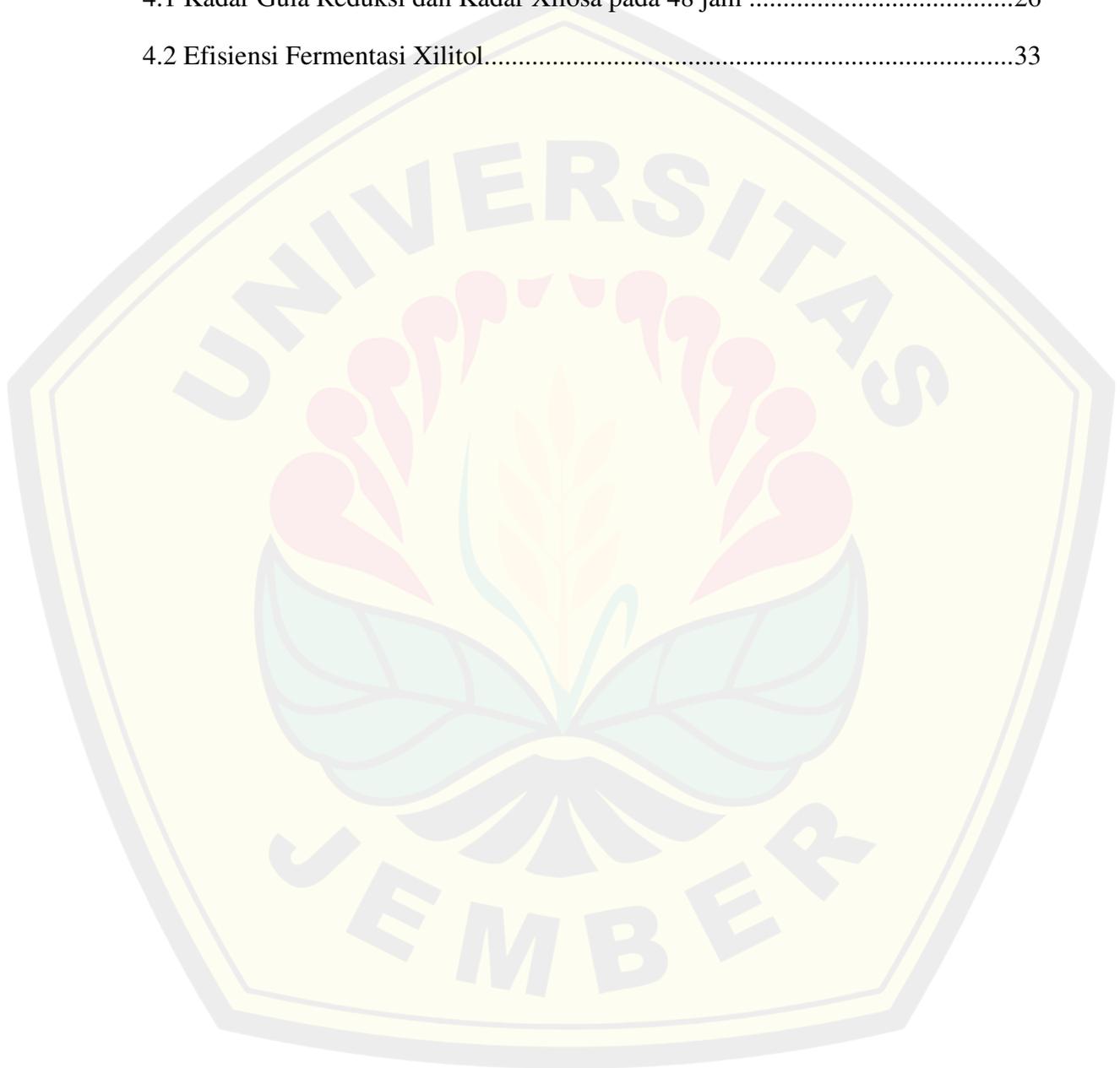
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Ampas Singkong	4
2.2 Komposisi Lignoselulosa	4
2.2.1 Selulosa	5
2.2.2 Hemiselulosa	5
2.2.3 Lignin	6
2.3 Karakteristik Xilan	7
2.4 Karakteristik Xilosa	8

2.5 Karakteristik Xilitol	9
2.6 Biokonversi Xilosa menjadi Xilitol	10
2.7 Pengaruh Ko-Substrat dalam Fermentasi Xilitol	11
2.8 Pengaruh Agitasi dalam Fermentasi Xilitol	13
2.9 Karakteristik <i>Debaryomyces hansenii</i>	14
BAB 3. METODE PELAKSANAAN	16
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	16
3.3 Pelaksanaan Penelitian	17
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	17
3.3.2 Tahapan Penelitian	17
3.4 Parameter Pengamatan	22
3.5 Prosedur Analisa	22
3.5.1 Penentuan Kadar Gula Reduksi Metode DNS	22
3.5.2 Penentuan Populasi Mikroba Metode <i>Counting Chamber</i>	23
3.5.3 Penentuan Kadar Xilosa dan Xilitol dengan HPLC	24
3.5.4 Efisiensi Fermentasi	24
3.6 Analisa Data	25
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.	26
4.1 Hidrolisis Xilan menjadi Xilosa menggunakan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reesei</i>	26
4.2 Fermentasi Xilosa Tepung Ampas Singkong menjadi Xilitol	27
4.2.1 Kurva Pertumbuhan <i>Debaryomyces hansenii</i> pada Starter	27
4.2.2 Kurva Pertumbuhan <i>Debaryomyces hansenii</i> dalam Fermentasi Xilitol	29
4.2.3 Konsentrasi Xilitol pada Fermentasi Xilosa Tepung Ampas Singkong...31	
4.2.4 Efisiensi Fermentasi Xilitol.....	32
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Kombinasi Perlakuan	17
4.1 Kadar Gula Reduksi dan Kadar Xilosa pada 48 jam	26
4.2 Efisiensi Fermentasi Xilitol.....	33

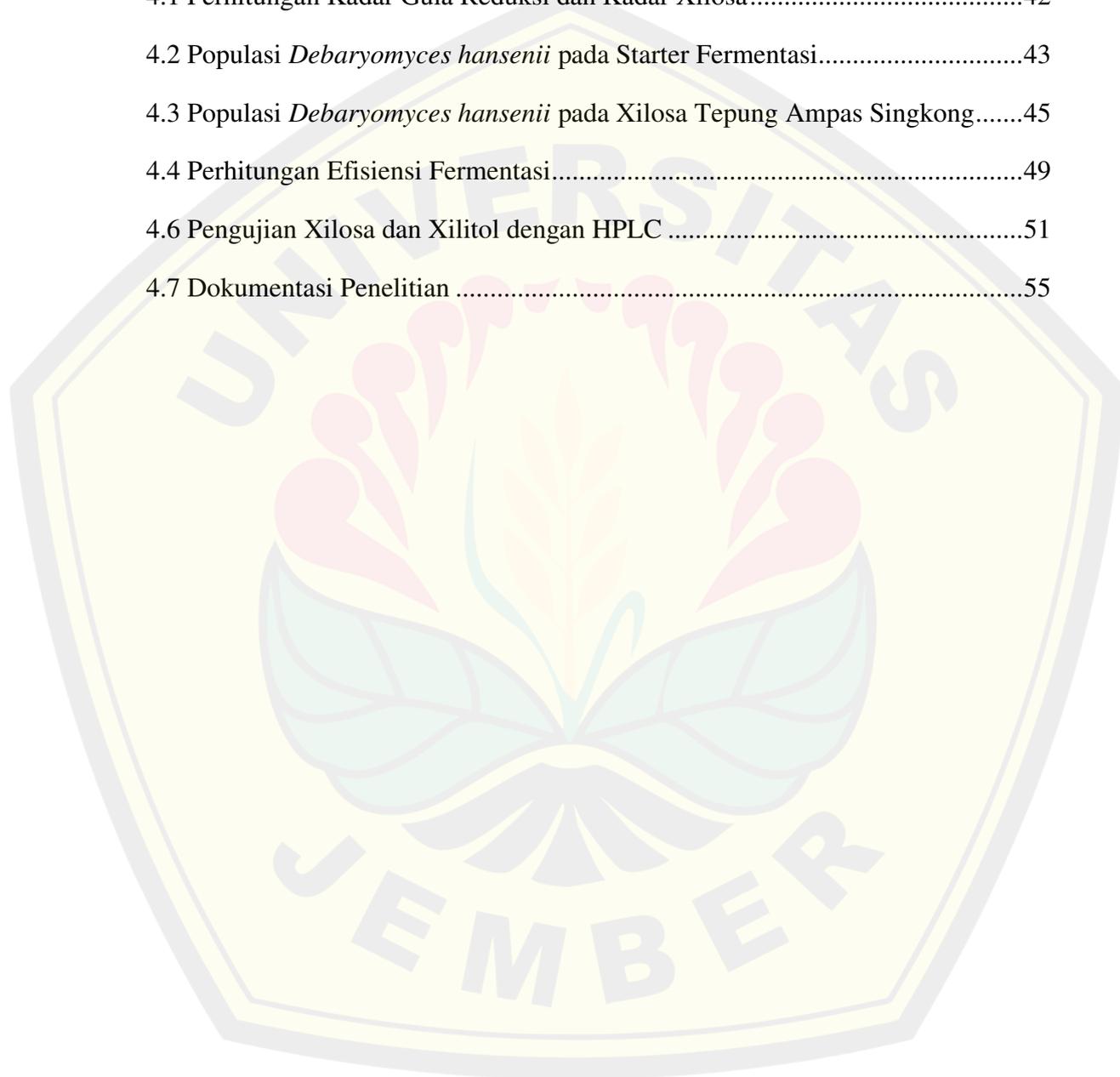


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Hemiselulosa.....	6
2.2 Struktur Xilan.....	7
2.3 Struktur Xilosa	8
2.4 Struktur Xilitol	9
2.5 Jalur Metabolisme Xilosa menjadi Xilitol pada <i>Yeast</i>	11
2.6 Asimilasi Ko-substrat pada <i>Debaryomyces hansenii</i>	13
3.1 Produksi dan Fermentasi Xilosa.....	19
3.2 Diagram Alir Peremajaan Kultur Khamir	20
3.3 Diagram Alir Pembuatan Starter Fermentasi	21
3.4 Diagram Alir Fermentasi Xilitol	21
4.1 Kurva Pertumbuhan Starter <i>Debaryomyces hansenii</i>	28
4.2 Kurva Pertumbuhan <i>Debaryomyces hansenii</i> selama 72 jam a) agitasi 150 dan b) agitasi 200 rpm.....	30
4.3 Konsentrasi Xilitol pada Agitasi 150 dan 200 rpm.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Kurva Standar Xilosa Metode DNS.....	41
4.1 Perhitungan Kadar Gula Reduksi dan Kadar Xilosa.....	42
4.2 Populasi <i>Debaryomyces hansenii</i> pada Starter Fermentasi.....	43
4.3 Populasi <i>Debaryomyces hansenii</i> pada Xilosa Tepung Ampas Singkong.....	45
4.4 Perhitungan Efisiensi Fermentasi.....	49
4.6 Pengujian Xilosa dan Xilitol dengan HPLC	51
4.7 Dokumentasi Penelitian	55



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ampas singkong atau yang sering disebut onggok adalah salah satu hasil samping dari pengolahan tapioka. Onggok mengandung berbagai komponen penting yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut salah satunya serat kasar. Serat kasar yang terdapat pada onggok mengandung lignoselulosa yang terdiri dari selulosa 36,6 %, hemiselulosa 21,3% dan lignin 17,3% (Amenaghawon, *et al.*, 2014). Kandungan hemiselulosa yang lebih dari 20% dapat dijadikan sebagai salah satu sumber xilan yang dapat di hidrolisis menjadi xilosa dan xilitol.

Xilan merupakan komponen utama pada hemiselulosa yang dapat dipisahkan dengan beberapa pelarut basa atau dihidrolisis asam dan enzimatis menjadi monomernya yakni xilosa (Saha, 2003). Xilosa merupakan unit penyusun xilan dan komponen dalam hemiselulosa yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat dalam produksi xilitol. Xilitol adalah salah satu jenis gula alkohol tipe pentitol berantai lima karbon yang secara alami terdapat pada tanaman dan dapat diproduksi oleh beberapa jenis bakteri dan khamir (Ortiz *et al.*, 2013).

Xilitol dapat diproduksi melalui proses hidrogenasi xilosa yang memerlukan xilosa murni, suhu dan tekanan yang tinggi dan menghasilkan rendemen sekitar 62,5% - 75% dari jumlah xilosa sebagai substrat utamanya (Yulianto *et al.*, 2012). Proses produksi xilitol juga dapat dilakukan dengan menggunakan metode fermentasi menggunakan mikroorganisme khususnya khamir yang dapat mengonversi xilosa menjadi xilitol. Beberapa mikroorganisme yang digunakan dalam produksi xilitol adalah *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida shehate*, *Debaryomyces hansenii* dan mikroba dari spesies lainnya (Granstrom, 2002; Dominguez *et al.*, 1997; Converti *et al.*, 2002).

D. hansenii merupakan salah satu mikroba potensial yang dapat digunakan dalam produksi xylitol yang dapat mengonversi xilosa menjadi xilitol dengan prosentase tertinggi mencapai 60-87% selama proses eksponensial dan hanya 10% di fase stasioner pada kondisi mikroaerobik dan menggunakan substrat yang

tinggi (Converti *et al.*, 2002). Penelitian oleh Mardawati *et al.* (2018) menunjukkan, pembentukan xilitol oleh khamir *D. hansenii* dari xilosa dapat dilakukan melalui fermentasi *batch* secara semi aerob selama 96 jam dengan konsentrasi sel 10^8 sel/mL dan menggunakan substrat xilosa yang dihasilkan dari TKKS dengan konsentrasi xilosa sebesar 1,472 g/L. Pada penelitian tersebut menggunakan volume kerja sebanyak 500 ml (hidrolisat TKKS sebanyak 130 ml) dan dihasilkan xilitol sebesar 0,138 g/L dengan perolehan xilitol terhadap xilosa yakni 0,094 g/g.

Pada proses fermentasi xilosa menjadi xilitol, khamir akan menghasilkan enzim xilosa reduktase (XR) dan xilitol dehidrogenase (XDH). Xilosa akan direduksi menjadi xilitol oleh xilosa reduktase (XR) menggunakan NADH atau NADPH sebagai ko-enzim (Ko *et al.*, 2006). Xilitol yang dihasilkan oleh khamir juga akan di metabolisme lebih lanjut menjadi biomassa sel, energi untuk pemeliharaan sel dan regenerasi ko-enzim NADPH saat sel masuk dalam fase stasioner. Xilitol yang di metabolisme lebih lanjut akan menyebabkan rendemen atau *yield product* yang cenderung rendah, oleh karena itu ditambahkan ko-substrat sebagai nutrient pendamping substrat untuk mencukupi kebutuhan regenerasi ko-enzim NADPH atau NADH (Yulianto *et al.*, 2006).

Ko-substrat adalah senyawa pendamping substrat yang jenis senyawanya berbeda dengan substrat (Hallborwn *et al.* 1994). Ko-substrat dapat digunakan oleh sel dalam penyediaan ko-enzim dan energi untuk sel dapat bertahan hidup sehingga dapat meningkatkan produksi xilitol (Yulianto *et al.* 2006). Glukosa sebagai salah satu sumber karbon yang lebih mudah di metabolisme oleh sel, sehingga keberadaan glukosa dapat berperan dalam regenerasi ko-enzim NADPH/NADH dan peningkatan biomassa sel melalui glukosa 6-fosfat (Glu-6P) dan konsumsi xilitol oleh sel berkurang (Tochampa *et al.* 2005). Oleh karena itu, penambahan glukosa untuk membantu regenerasi ko-enzim NADPH diperlukan dalam meningkatkan kadar xilitol. Perbandingan konsentrasi substrat dan ko-substrat dalam fermentasi akan menentukan pertumbuhan optimal dari khamir yang akan mengoptimasi jumlah produk yang dihasilkan (Parajo dkk., 1998).

Pada proses fermentasi xilitol perlu memperhatikan penentuan agitasi yang digunakan selama fermentasi. Kecepatan agitasi yang terlalu tinggi atau rendah akan mempengaruhi efisiensi pertumbuhan dan variasi laju pembentukan produk atau metabolit yang dihasilkan (Porcel *et al.*, 2006). Agitasi diperlukan untuk memberikan pengadukan pada kultur fermentasi agar kondisi kelarutan oksigen terjaga, mempercepat transfer nutrient dan oksigen ke dalam sel dan menjaga agar mikroorganisme tidak mengendap di dasar wadah fermentasi sehingga agitasi diperlukan untuk mengoptimalkan pembentukan xilitol menggunakan mikroba potensial *D. hansenii* dengan konsentrasi yang tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Kemampuan *D. hansenii* untuk mengkonversi xilosa menjadi xilitol dipengaruhi oleh konsentrasi substrat yang digunakan. Xilosa yang merupakan substrat untuk produksi xilitol perlu dilakukan proses fermentasi dengan komposisi substrat yang tepat sehingga akan mendapatkan konsentrasi xilitol yang tinggi. Selain itu, penambahan ko-substrat kecepatan agitasi selama proses fermentasi pada produksi xilitol oleh *D. hansenii* dapat meningkatkan produktivitas xilitol yang dihasilkan. Oleh karena itu diperlukan proses fermentasi dengan kondisi dan komposisi ko-substrat yang tepat untuk menghasilkan xilitol dengan konsentrasi yang tinggi.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi substrat dan ko-substrat terhadap produksi xilitol oleh *D. hansenii*.
2. Mengetahui pengaruh perbedaan agitasi dalam produksi xilitol.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah meningkatkan nilai ekonomis dan daya guna ampas singkong sebagai substrat produksi xilitol.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ampas Singkong

Ampas singkong atau onggok merupakan salah satu hasil samping dari pengolahan tapioka. Ampas singkong berasal dari ampas yang tertinggal pada proses ekstraksi suspensi pati pada pembuatan tapioka. Ketersediaan onggok terus meningkat sejalan dengan meningkatnya produksi tapioka. Ampas singkong memiliki kandungan pati dan serat kasar karena pada saat ekstraksi tidak semua kandungan pati tersaring bersama filtrat. Ampas singkong mengandung protein 1,57 gram, lemak 1,06 gram, serat 50,55 gram, karbohidrat 40,5 gram dan abu 1,10 gram dari 100 g berat kering ampas singkong (Soccol, 1995). Komposisi onggok bervariasi tergantung jenis ubi kayu, daerah asal serta cara yang digunakan dalam pembuatan tepung tapioca (Saha, 2003).

Komponen serat kasar yang terdapat pada ampas singkong mengandung hemiselulosa dan lignoselulosa yang merupakan bagian terbesar dari komponen polisakarida non pati. Serat yang terdapat pada ampas singkong berlignoselulosa mengandung selulosa 36,6 %, hemiselulosa 21,3% dan lignin 17,3% (Amenaghawon N.A *et al.*, 2014). Komponen lignin yang cukup rendah pada ampas singkong dapat meningkatkan kemudahan hidrolisis selulosa dan hemiselulosa yang dapat dilakukan dengan enzim atau asam.

2.2 Komposisi Lignoselulosa

Lignoselulosa adalah biomassa tanaman dengan komponen utamanya selulosa, hemiselulosa dan lignin. Ketersediaannya cukup melimpah sebagai limbah pertanian, perkebunan, dan kehutanan yang menjadikan bahan ini berpotensi sebagai salah satu sumber energi melalui proses konversi baik proses fisika, kimia maupun biologis. Lignoselulosa mengandung tiga komponen penyusun utama yaitu lignin (10-25%), hemiselulosa (20-35%), dan selulosa (35-50%) (Lynd *et al.*, 2002).

Pada kondisi alam, komponen utama penyusun lignoselulosa membentuk kerangka utama pada dinding sel tumbuhan (Holtzapple *et al.*, 2003). Komposisi

lignoselulosa pada tanaman bervariasi bergantung pada jenis, varietas, usia dan tingkat pertumbuhan tanaman (Perez *et al.*, 2002). Dari tiga komponen penyusun utamanya, selulosa dan hemiselulosa dapat diekstrak dan dipisahkan dari komponen lainnya dan dapat dihidrolisis menjadi monomer-monomernya.

2.2.1 Selulosa

Selulosa merupakan polimer dengan rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan n menunjukkan jumlah pengulangan unit gula atau derajat polimerisasi yang bervariasi berdasarkan sumber selulosa dan perlakuan yang dilakukan. Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman. Kandungan selulosa pada dinding sel tanaman tingkat tinggi sekitar 35-50% dari berat kering tanaman (Lynd *et al.*, 2002). Selulosa terdiri dari unit-unit β -D-glukopiranosida dengan ikatan β 1,4-glikosida, membentuk homopolisakarida yang tersusun linier dan memiliki kecenderungan untuk membentuk ikatan hidrogen intramolekuler dan intermolekuler yang menyebabkan polimer ini menjadi lebih kuat dan kaku (Fengel dan Wegener, 1995). Menurut Sun dan Cheng (2002) ikatan intramolekul terjadi antara monomer glukosa dalam satu rantai selulosa yang sama, sedangkan ikatan intermolekul terjadi antara monomer glukosa dari dua rantai selulosa yang berdekatan.

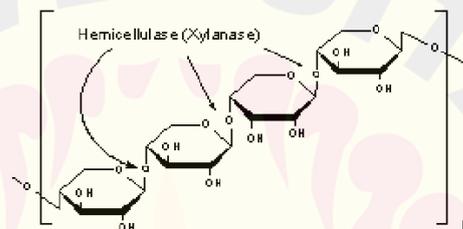
Sifat-sifat bahan yang mengandung selulosa berkesinambungan terhadap derajat polimerisasi molekul selulosa. Berkurangnya berat molekul di bawah tingkat tertentu akan menyebabkan berkurangnya daya tarik selulosa. Molekul selulosa seluruhnya berbentuk linier dan mempunyai kecenderungan kuat membentuk ikatan-ikatan hidrogen, baik dalam satu rantai polimer selulosa maupun antar rantai polimer yang berdampingan. Ikatan hidrogen ini menyebabkan selulosa bisa terdapat dalam ukuran besar dan memiliki sifat kekuatan tarik yang tinggi (Azhar dan Dodi, 2010).

2.2.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa adalah polimer yang terdiri atas tujuh residu gula yang berbeda. Hemiselulosa terletak di antara lignin dan kumpulan serat selulosa pada tumbuhan. Kandungan hemiselulosa pada tanaman berkisar antara 20-30% berat kering kayu. Hemiselulosa memiliki struktur amorf dan relative lebih mudah

dihidrolisis dengan asam menjadi monomer-monomernya yang mengandung glukosa, manosa, galaktosa, xilosa dan arabinosa (Lankinen, 2004).

Hemiselulosa mengikat lembaran serat selulosa yang membentuk mikrofibril untuk meningkatkan stabilitas dinding sel. Secara umum hemiselulosa digolongkan atas residu gula utama penyusun rangkanya seperti xilan, manan dan galaktan (Sjostrom, 1995). Hemiselulosa terdiri dari kayu lunak berupa glukomanan dan kayu keras berupa xilan. Xilan yang terdapat pada hemiselulosa terikat pada selulosa, pektin dan lignin. Hemiselulosa memiliki dua ciri struktur yang sama, yakni struktur induk dengan ikatan β 1-4 dan rantai samping yang pendek. Struktur hemiselulosa dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Struktur hemiselulosa (Lankinen, 2004)

2.2.3 Lignin

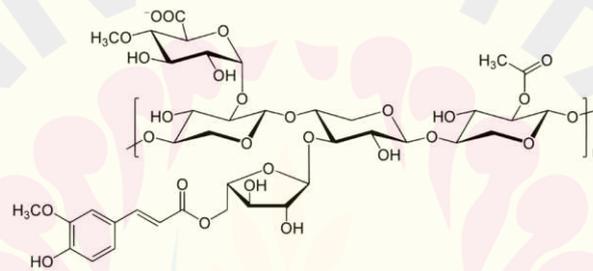
Lignin adalah polimer yang terdiri dari unit fenil propana yang diikat dengan ikatan eter (C-O-C) dan ikatan karbon (C-C). Lignin dapat bertahan terhadap hidrolisis karena adanya ikatan arilalkil dan ikatan dan tidak larut dalam air, larutan asam dan larutan hidrokarbonlanki. Sjostrom (1995) menyatakan reaktivitas lignin sangat dipengaruhi oleh gugus-gugus fungsi yang terdapat pada polimer lignin itu sendiri. Polimer lignin mengandung gugus metoksil, gugus hidroksil fenol dan beberapa gugus aldehid pada rantai sampingnya.

Stuktur molekul lignin sangat berbeda bila dibandingkan polisakarida karena terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit fenilpropana: unit guaiacyl (G) dari prekursor transkoniferil alkohol, unit syringyl (S) dari prekursor trans-sinapil alkohol, dan p-hidroksipenil (H) dari prekursor trans-p-koumaril alkohol (Palonen, 2004). Pemecahan lignin dapat dilakukan dengan proses delignifikasi. Proses delignifikasi dilakukan dengan pelarut natrium hipoklorit (NaOCL). Penggunaan NaOCL dalam delignifikasi mampu memecah ikatan

karbon dalam struktur lignin, sehingga lignin dapat terpisah dari selulosa dan hemiselulosa.

2.3 Xilan

Xilan adalah komponen utama pada hemiselulosa yang merupakan heteropolisakarida dengan rantai tulang punggung β -D-xilopiranosida yang terikat oleh ikatan 1,4. Xilan adalah polisakarida linear yang terdiri dari β -D-(1 \rightarrow 4) xilopiranosida sebagai tulang punggung, dan beberapa variasi gugus fungsional. Tipe dan jenis gugus fungsional yang terikat pada xilopiranosida sebagai tulang punggung tergantung pada sumber xilan (Saha, 2003). Struktur xilan dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Xilan (Motta *et al.*, 2013)

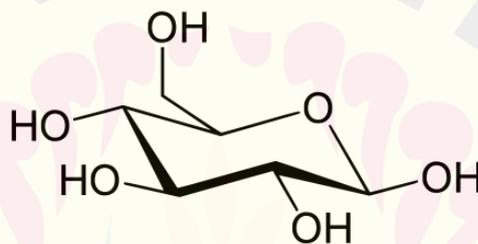
Kandungan xilan pada hemiselulosa tepung ampas singkong termasuk komponen terbesar kedua setelah selulosa pada serat tepung ampas singkong. Kadar hemiselulosa dari ampas singkong menurut penelitian Nurdjarah (2005) sebanyak 21,8% dan rendemen xilan yang dihasilkan sebanyak 32,14%. Hemiselulosa terletak diantara lignin dan kumpulan serat selulosa dibawahnya. Berdasarkan kepadatan struktur kimia dan substitusi gugus samping hemiselulosa, xilan tampak berselang-seling, berjalin, dan berikatan secara kovalen pada beberapa titik dengan cara melapisi lapisan lignin.

Xilan dapat diekstrak dengan menggunakan beberapa pelarut diantaranya natrium hidroksida (NaOH), ammonium hidroksida (NH_4OH) dan kalium hidroksida (KOH). Xilan dapat larut dalam alkali dengan konsentrasi antara 2% hingga 15% (Richana *et al.*, 2007). Penggunaan pelarut dalam ekstraksi xilan didasarkan atas sifat dan jumlah pelarut yang digunakan. Dari ketiga pelarut yang

dapat digunakan dalam ekstraksi xilan, NaOH merupakan pelarut yang paling baik karena dapat menghasilkan xilan yang relatif bersih dari pengotor.

2.4 Xilosa

Xilosa merupakan salah satu gula pentosa, monosakarida dengan lima atom karbon dan memiliki gugus aldehida. Xilosa merupakan unit penyusun xilan, komponen dalam hemiselulosa dengan jumlah yang tinggi dalam biomassa lignoselulosa (Hidayat dan Ika, 2018). Xilosa pada tumbuhan membentuk tulang punggung hemiselulosa berupa arabinoxylan bersama dengan arabinosa pada tumbuhan yang tersubstitusi dengan 2-OH atau 3-OH dan residu arabinosa (Huntley dan Patience, 2018) Struktur xilosa dapat dilihat pada Gambar 2.3.



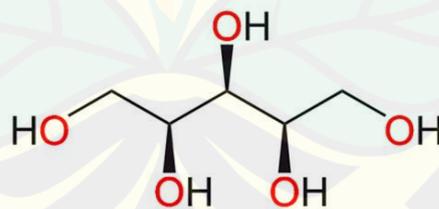
Gambar 2.3 Struktur Xilosa (Huntley, 2018)

Xilosa didapatkan dari hasil hidrolisis secara kimiawi dan enzimatis. Proses hidrolisis xilosa secara kimiawi dilakukan dengan menggunakan katalis asam sulfat (H_2SO_4) sedangkan secara enzimatis dapat menggunakan mikroorganisme penghasil enzim xilanase. Xilanase dapat dihasilkan oleh mikroba melalui proses fermentasi baik bakteri atau khamir. Struktur xilosa dapat dilihat pada Gambar 2.3 Hidrolisis xilosa secara kimiawi menggunakan asam kuat seperti H_2SO_4 dengan tekanan dan suhu yang tinggi sedangkan secara enzimatis menggunakan enzim xilanase. Enzim xylanase terdiri dari α -glukuronidase, asetil xilan esterase, endo1,4- β -xilanase, β -xilosidase, dan α -L-arabinofuranosidase (Kumar *et al.*, 2008). Enzim xilanase memiliki kemampuan untuk menghidrolisis xilan menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida. Xylanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis yaitu endo1,4- β -xilanase, β -xilosidase. Ekso-xilanase dapat memutus rantai polimer xilosa, sehingga xilosa sebagai produk utama dan xilo-oligosakarida rantai pendek (Richana, 2002). Endo-xilanase mampu memutus ikatan β -1,4 pada bagian rantai xilan, ikatan yang diputus ditentukan berdasarkan

panjang rantai substrat, derajat percabangan, dan pola pemutusan enzim hidrolase. Xilanase umumnya merupakan protein kecil dengan berat molekul antara 15.000-30.000 Dalton, aktif pada suhu 55°C dengan pH 9 (Yang *et al.*, 1988; Yu *et al.*, 1995). Xilosa yang diperoleh dari hidrolisis xilan dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai substrat utama sintesis xilitol.

2.5 Xilitol

Xilitol merupakan gula alkohol yang secara alami terdapat pada tanaman dan dapat diproduksi oleh beberapa jenis bakteri dan khamir (Ortiz *et al.*, 2013). Xilitol dapat diklasifikasikan sebagai gula alkohol atau poli-alkohol yang terdiri dari 5 rangka karbon $\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_3-\text{CH}_2\text{OH}$ (Granstrom *et al.*, 2007). Struktur xilitol dapat dilihat pada Gambar 2.4. Secara fisik xilitol berupa padatan putih berbetuk kristal atau struktur granular yang larut dalam air, tidak berbau, stabil pada suhu 393 K (tidak terkaramelisasi) dan pada kelembapan yang tinggi cenderung higroskopis dibanding sukrosa dan sorbitol (Makinen K *et al.*, 2013; Rowe *et al.*, 2009). Xilitol secara alami terdapat pada buah dan sayur akan tetapi dengan kadar yang rendah (Olennikov *et al.*, 2009). Secara komersil, xilitol banyak dihasilkan dari kayu birch atau tanaman lain sebagai bahan baku produksi xilitol yang digunakan sebagai bahan tambahan pangan atau produk obat (Riley *et al.*, 2015).



Gambar 2.4 Struktur Xilitol (Granstrom *et al.*, 2007)

Xilitol dapat diproduksi secara kimia atau bioteknologi (Rice *et al.*, 2019). Produksi xilitol secara kimiawi menggunakan mesin yang ekstensif dan bahan kimia yang mahal, sehingga meningkatkan biaya operasional produksi. Produksi xilitol dengan metode bioteknologi menggunakan limbah pertanian yang memungkinkan menurunkan biaya produksi xilitol. Prekursor xilosa dapat

dihasilkan dari limbah atau biomassa pertanian dengan metode hidrolisis yang dapat mengonversi xilosa menjadi xilitol oleh khamir atau strain bakteri (Carneiro *et al.*, 2019). Hidrolisat hemiselulosa adalah bahan baku utama dalam produksi xilitol. Konsumsi gula xilitol memiliki banyak manfaat dalam metabolisme tubuh. Xilitol berperan dalam pelepasan insulin dalam jumlah minimal dan dianggap dapat menjadi pengganti gula sukrosa untuk penderita diabetes karena xilitol tidak memerlukan hormon insulin untuk masuk ke dalam sel (Janket *et al.*, 2019). Manfaat xilitol dan senyawa poliol lainnya digunakan dalam berbagai makanan serta telah diterima sebagai pemanis buatan secara global (Peterson, 2013).

2.6 Biokonversi Xilosa menjadi Xilitol

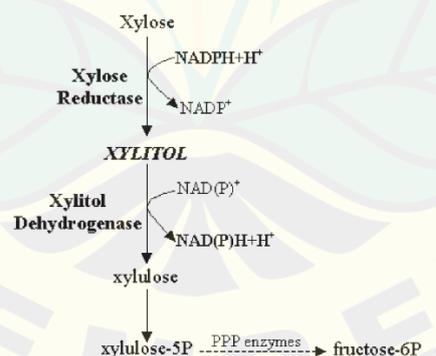
Biokonversi xilosa menjadi xilitol dapat dilakukan dengan berbagai metode yaitu ekstraksi, kimia dan bioteknologi. Metode ekstraksi dilakukan langsung melalui bahan yang mengandung xilitol seperti buah dan sayuran, namun kandungan xilitolnya rendah (Olennikov *et al.*, 2009). Metode kimia dilakukan dengan hidrogenasi xilosa pada suhu dan tekanan yang tinggi. Konversi xilitol dengan hidrogenasi memerlukan tingkat kemurnian xilosa yang tinggi dan penggunaan energi yang tinggi menyebabkan biaya produksi juga tinggi (Carneiro *et al.*, 2019).

Metode bioteknologi dalam konversi xilosa menjadi xilitol dapat dilakukan dengan proses fermentasi. Fermentasi dilakukan dengan menggunakan enzim yang diperoleh dari mikroba potensial. Beberapa penelitian menunjukkan dengan pemanfaatan mikroorganisme dalam mendegradasi xilosa dapat meningkatkan produktivitas xilitol. Beberapa khamir yang berpotensi dalam biokonversi xilitol yakni *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* (Granstrom, 2002; Dominguez *et al.*, 1997; Converti *et al.*, 2002). Ketiga khamir tersebut pada kondisi *batch fermentation* dapat meningkatkan produktivitas xilitol yang dihasilkan dalam 6 hari fermentasi (El-Batal, *et al.*, 2004).

Xilitol dihasilkan melalui proses dehidrogenasi xilosa yang berlangsung melalui proses fermentasi khamir yang dapat menghasilkan enzim xilosa reduktase dan xilitol dehidrogenase sehingga dapat mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Metabolisme xilosa pada khamir berjalan sesuai dengan sistem transpor ke

sitoplasma khamir. Metabolisme xilosa terbagi menjadi dua tahap; pertama, xilosa direduksi menjadi xilitol oleh xilosa reduktase (XR) menggunakan NADH atau NADPH sebagai ko-enzim. Kedua, xilitol yang dihasilkan dioksidasi kembali oleh xilitol dehidrogenase (XDH) menjadi xilulosa yang digunakan untuk regenerasi sel (Ko *et al.*, 2006). Skema metabolisme xilosa menjadi xilitol oleh khamir dapat dilihat pada Gambar 2.5.

Xilosa reduktase akan mengkatalis xilosa menjadi xilitol. Xilitol yang terbentuk kemudian dilepaskan dari sel atau dioksidasi menjadi xilulosa oleh xilitol dehidrogenase untuk pertumbuhan sel dengan adanya NAD^+ , bergantung pada kondisi. Xilulosa kemudian difosforilasi oleh xilulokinase dengan konsumsi ATP kemudian masuk ke dalam jalur fosfat pentosa (PPP) dan masuk jalur glikolisis (Granstrom, 2002). Xilitol yang dihasilkan sebagian diekstraksi keluar sel sebagai produk utama, dan sebagian yang lain akan di metabolisme lebih lanjut oleh xilitol dehidrogenase dengan ko-enzim NAD yang mengkatalis oksidasi xilitol menjadi xilulosa. Xilulosa diubah menjadi xilulosa-5-fosfat oleh enzim xilulosakinase dan kemudian masuk ke dalam siklus heksosa monofosfat yang kemudian digunakan untuk pertumbuhan sel dan regenerasi NADH/NADPH. Secara keseluruhan, terbentuknya xilitol dari substrat xilosa terjadi adanya aktivitas dari XR dan XDH (Ko *et al.* 2006).



Gambar 2.5 Jalur Metabolisme Xilosa Pada *Yeast* (Da Silva, *et al.* 2005)

2.7 Pengaruh Ko-Substrat dalam Proses Fermentasi Xilitol

Xilitol merupakan produk primer dihasilkan oleh khamir pada fase logaritmik. Xilitol yang dihasilkan oleh khamir juga akan di metabolisme lebih lanjut menjadi biomassa sel, energi untuk pemeliharaan sel dan regenerasi ko-

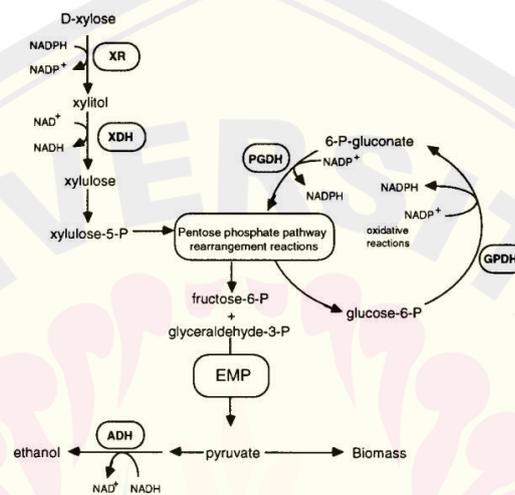
enzim NADPH saat sel masuk dalam fase stasioner. Dalam fase stasioner, sel mulai mengalami penurunan pertumbuhan karena sumber energi yang kurang dan menyebabkan jumlah xilitol yang di sekresikan keluar sel menjadi rendah (Windarti, 2010). Pada produksi xilitol menggunakan khamir memiliki kelemahan yakni rendemen *yield product* yang cenderung rendah, maka dari itu ditambahkan ko-substrat sebagai nutrient pendamping substrat diperlukan untuk mencukupi kebutuhan regenerasi ko-enzim NADPH atau NADH (Yulianto *et al* 2006).

Ko-substrat adalah senyawa pendamping substrat yang jenis senyawanya berbeda dengan substrat (Hallborwn *et al.* 1994). Ko-substrat dapat digunakan oleh sel dalam penyediaan ko-enzim dan energi untuk sel dapat bertahan hidup sehingga dapat meningkatkan produksi xilitol (Yulianto *et al.* 2006). Secara umum ko-substrat yang digunakan dalam produksi xilitol adalah glukosa. Glukosa yang ditambahkan dalam media fermentasi dapat meningkatkan produksi xilitol karena senyawa tersebut di duga dapat di metabolisme melalui jalur lingkaran fosfat dan akan menghasilkan ko-enzim NADPH yang dibutuhkan oleh xilosa reduktase untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol (Yulianto *et al.*, 2006). Metabolisme glukosa sebagai ko-substrat dapat dilihat pada Gambar 2.6.

Glukosa sebagai sumber karbon lain yang mudah di metabolisme oleh sel dapat menghasilkan energi dan biomassa dari pemecahan glukosa (glukosa-6-fosfat). Hal tersebut mengakibatkan jalur metabolisme hexsosa monofosfat (HMP) dalam memproduksi xilulosa dari xilulosa-5-fosfat berkurang. Berkurangnya konsumsi xilulosa akan mengurangi pula konsumsi xillitol dalam sel dan meningkatkan xilitol yang di sekresikan keluar sel (Tochampa *et al.*, 2005).

Glukosa yang digunakan sebagai ko-substrat tidak akan mengeliminasi xilulase yang dihasilkan oleh enzim xilitol dehydrogenase secara keseluruhan. Penghilangan xilulosa secara total dapat mematikan regenerasi NADPH sebagai ko-enzim dalam konversi xilosa menjadi xilitol (Tochampa *et al.*, 2005). Penggunaan glukosa yang ditambahkan dalam media fermentasi harus lebih kecil untuk meningkatkan biomassa dari xilosa pada fermentasi khamir. Konsentrasi glukosa yang tinggi akan menghambat transport xilosa ke dalam sel dan menekan

induksi enzim yang digunakan untuk konversi xilitol oleh xilosa (JM Tavares *et al.*, 2000). Penambahan glukosa dalam proses fermentasi xilitol dapat mengutilisasi sel sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan sel. Penambahan glukosa pada media fermentasi dapat meningkatkan *yield* xilitol dan produktivitasnya 1,2 hingga 1,3 kali lebih tinggi. Skema jalur metabolisme xilosa dan glukosa sebagai ko-substrat dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Jalur Metabolisme Xilosa pada *Debaryomyces hansenii* (Girio *et al.*, 1994)

2.8 Pengaruh Agitasi dalam Proses Fermentasi

Agitasi merupakan salah satu upaya penyeragaman distribusi oksigen bebas di dalam media cair yang dilakukan dengan pengadukan (Roni *et al.*, 2012). Agitasi adalah salah satu faktor yang dikendalikan selama proses fermentasi. Agitasi atau pengadukan dilakukan untuk menghasilkan campuran media yang homogen, menstabilkan konsumsi nutrisi, gas dan transfer oksigen pada media cair. Kecepatan agitasi dapat mempengaruhi produksi enzim dalam fermentasi, agitasi terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat mengurangi produksi enzim dalam proses fermentasi (Papagianni *et al.*, 2001).

Agitasi atau pengadukan penting dalam proses fermentasi untuk transfer oksigen dalam kondisi aerob karena mikroorganisme mendistribusi oksigen ke dalam sel hanya dari fase cair. Perpindahan oksigen yang terjadi dalam sistem fermentasi bawah permukaan melalui beberapa tahap yaitu fase gas ke fase cair

dan selanjutnya ke sel mikroorganisme yang terdapat dalam media cair fermentasi (Roni *et al.*, 2012). Selain memenuhi kebutuhan oksigen mikroba, agitasi diperlukan untuk menjaga mikroba tetap tersuspensi dan larutan media tetap homogen. Kecepatan agitasi pada media cair memiliki berbagai pengaruh terhadap pertumbuhan sel termasuk pecahnya dinding sel, perubahan morfologi mikroorganisme berfilamen, variasi efisiensi pertumbuhan dan variasi dalam laju pembentukan produk atau metabolit yang dihasilkan (Porcel *et al.*, 2006).

Pada produksi xilitol, beberapa penelitian menunjukkan dengan peningkatan kecepatan agitasi dapat meningkatkan konsentrasi xilitol yang dihasilkan. Pada mikroba *Candida tropicalis* pada kecepatan agitasi 150 rpm menghasilkan xilitol dengan konsentrasi 36,9 g/L dan mengalami peningkatan konsentrasi xilitol pada kecepatan agitasi 200 rpm sebesar 42,7g/L (Bhattacharya *et al.*, 2016). Peningkatan kecepatan agitasi akan meningkatkan aliran oksigen dalam kultur media yang akan mendukung jalur fermentasi dengan aliran piruvat yang cukup dalam mengonversi xilosa. Pada pH yang rendah, aliran oksigen dalam media akan terbatas dan akan meningkatkan kadar NADH intraseluler yang menyebabkan ketidakseimbangan ko-faktor sehingga menghasilkan konsentrasi xilitol yang rendah (Pal *et al.*, 2013). Agitasi akan meningkatkan pelarutan oksigen dan kondisi aerobik hingga tingkat tertentu yang diperlukan untuk pertumbuhan khamir karena pengaruh agitasi terhadap produksi xilitol bervariasi antar spesies khamir (Yun *et al.*, 2010).

2.9 Karakteristik *Debaryomyces hansenii*

D. hansenii merupakan khamir yang termasuk dalam kelas *Saccharomycetes* dan salah satu mikroba potensial dalam biokonversi xilosa menjadi xilitol. *D. hansenii* dapat hidup pada kondisi salinitas yang tinggi, umumnya terdapat dalam kondisi haploid dan bersifat non patogen dapat mengakumulasi lipid atau disebut juga ragi *oleaginous*. Khamir jenis ini mampu mengakumulasi lipid hingga 70% dari biomassa keringnya (Ratledge dan Tan, 1990). *D. hansenii* mempunyai toleransi tinggi terhadap kadar garam sampai 24%, memiliki bentuk koloni bulat, berwarna putih-krem dan memiliki bentuk sel bulat-oval (Kurtzman *et al.*, 2011).

D. hansenii dapat menfermentasi glukosa, sukrosa dan dapat tumbuh pada konsentrasi glukosa 50%.

Beberapa penelitian menunjukkan *D. hansenii* memiliki potensi dalam sintesis xilosa menjadi xilitol. Pada produksi xilitol oleh *D. hansenii* dapat mencapai jumlah tertinggi dengan prosentase produksi xilitol 60-87% selama fase eksponensial dalam kondisi aerobik (Coverti *et al.*, 2002). Pembentukan xilitol menggunakan substrat xilosa oleh *D. hansenii* yang dilakukan pada kondisi semi aerob selama 96 jam dengan konsentrasi sel 10^8 sel/mL menghasilkan xilitol sebesar 0,138g/L dengan substrat xilosa 1,472 g/L (Mardawati, dkk., 2018).

Pada produksi xilitol, *D. hansenii* memiliki kecenderungan untuk tidak menghasilkan etanol dalam proses fermentasi xilosa pada kondisi mikroaerobik. Kondisi mikroaerobik berhubungan dengan ketersediaan oksigen, *D. hansenii* memetabolisme xilosa oleh xilosa reduktase hanya bergantung pada NADPH dan tidak akan terbentuk xilitol dengan kondisi fermentasi secara anaerob karena tidak kemampuan mikroba untuk menggunakan $NADP^+$ dalam pertumbuhan mikroba. Pada kondisi aerobik NADH yang terbentuk akan di oksidasi oleh xilitol dehidrogenase dalam rantai pertumbuhan dan digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan (Coverti *et al.* 2002).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Pengolahan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Analisa Terpadu, dan Laboratorium Rekayasa Bioproses dan Biomaterial CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian di mulai pada bulan Maret 2021 hingga April 2022.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah ampas singkong yang diperoleh dari UD. Lumbung Samudera Banyuwangi. Bahan yang digunakan untuk produksi xilosa meliputi NaOCl 1%, HCL 6N, NaOH 12% etanol 95%, 0,1 g MgSO₄, 0,15 g KH₂PO₄, 0,015 g CaCl₂, 0,02 g FeSO₄, 0,02 g MnSO₄, 0,2 g yeast ekstrak, buffer sitrat yang mengandung Tween 80 0,1%, dan aquades. Media pemeliharaan yang digunakan yakni PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan MEA (*Malt Ekstrak Agar*). Media perkultur atau starter yang digunakan dalam fermentasi memiliki komposisi 200 mg xilosa, 0,2 gr yeast ekstrak, 0,05 g NH₄Cl, 0,5 g KH₂PO₄, dan 0,04 g MgSO₄. 7H₂O. Bahan yang digunakan untuk proses fermentasi xilitol yakni aquades, buffer sitrat yang mengandung Tween 80 0,1%, xilosa ampas singkong, 0,2 gr yeast ekstrak, 0,05 g NH₄Cl, 0,5 g KH₂PO₄, dan 0,04 g MgSO₄. 7H₂O. Bahan yang digunakan untuk pengujian yakni reagen DNS, K-Na Tartarat, NaOH, xilosa standar, xilitol standard dan glukosa. Kultur mikroorganisme yang digunakan yakni *Debaryomyces hansenii* Y415 yang diperoleh dari kultur koleksi *Indonesian Culture Collection* (InaCC) LIPI, kultur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reseei* dari Laboratorium FTP.

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan yang digunakan dalam produksi xilosa dan fermentasi xilitol meliputi alat gelas, *laminar air flow*, autoklaf, inkubator, pH meter, *shaker incubator*, timbangan analitik, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, pipet volume, kain

saring dan sentrifugasi. Peralatan yang digunakan dalam pengujian meliputi *haemocytometer*, mikroskop, *refrigerator*, filter membrane 0,2 μ m, kertas saring, vortex, spektrofotometer, HPLC kolom NH₂ dan kolom VertiSep™ Sugar LMP 8 μ m 7,8x300mm.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan pada penelitian ini adalah dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu perbandingan glukosa terhadap xilosa dan kecepatan agitasi. Rancangan tersebut berjumlah 8 taraf kombinasi perlakuan dan tertera pada Tabel 3.1. Masing-masing perlakuan yang dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan

Kecepatan agitasi	Perbandingan glukosa terhadap xilosa			
	0%	10%	15%	20%
150 rpm	A0	A1	A2	A3
200 rpm	B1	B1	B2	B3

Keterangan :

A0 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 0% dengan agitasi 150 rpm

A1 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 10% dengan agitasi 150 rpm

A2 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 15% dengan agitasi 150 rpm

A3 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 20% dengan agitasi 150 rpm

B0 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 0% dengan agitasi 200 rpm

B1 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 10% dengan agitasi 200 rpm

B2 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 15% dengan agitasi 200 rpm

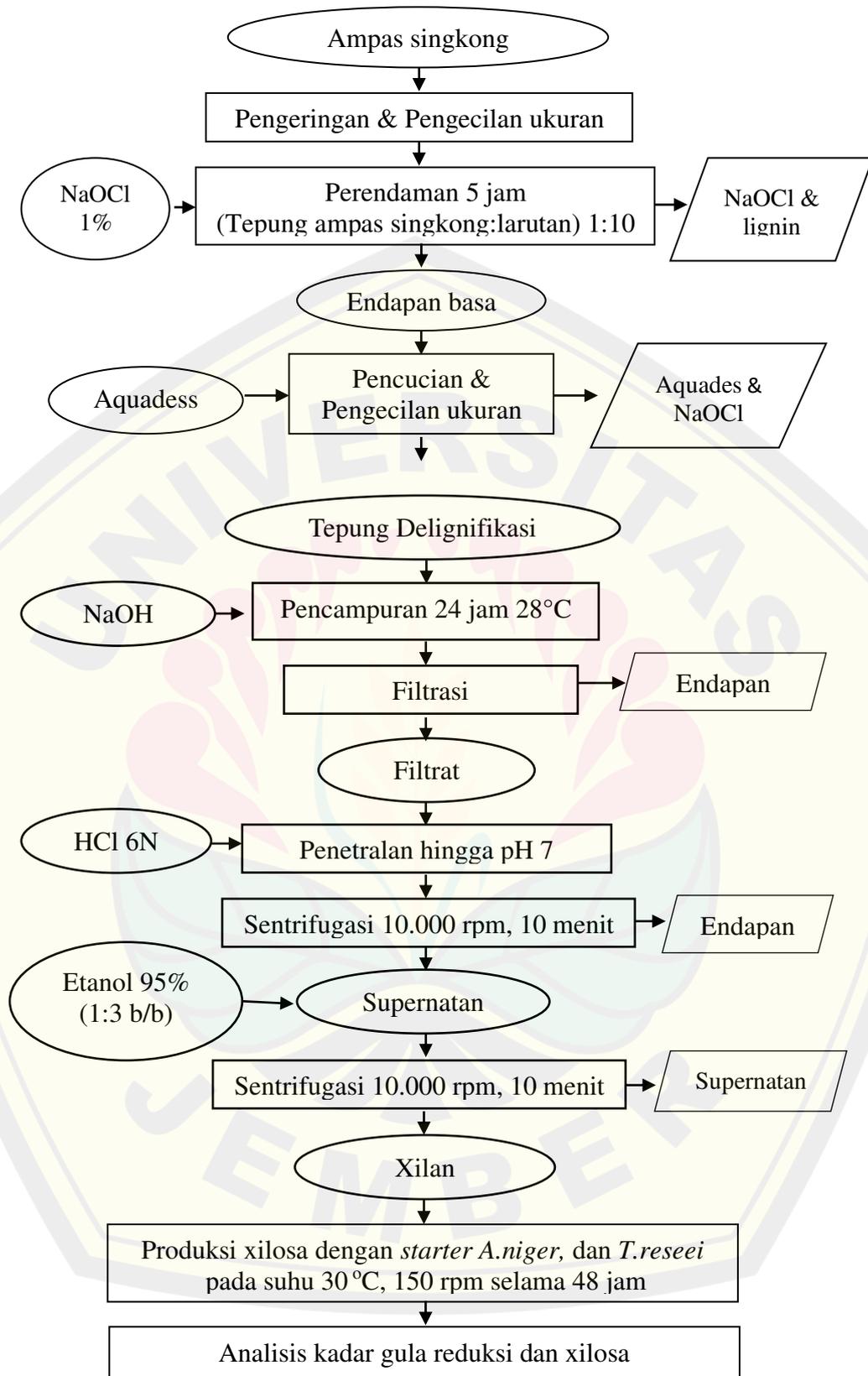
B3 : Perbandingan glukosa terhadap xilosa 20% dengan agitasi 200 rpm

3.3.2 Tahap Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahapan yaitu persiapan sampel ampas singkong dan produksi xilosa menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*, peremajaan kultur khamir, pembuatan starter *Debaryomyces hansenii* dan fermentasi xilitol dengan substrat xilosa tepung ampas singkong.

a. Produksi Xilosa Tepung Ampas Singkong

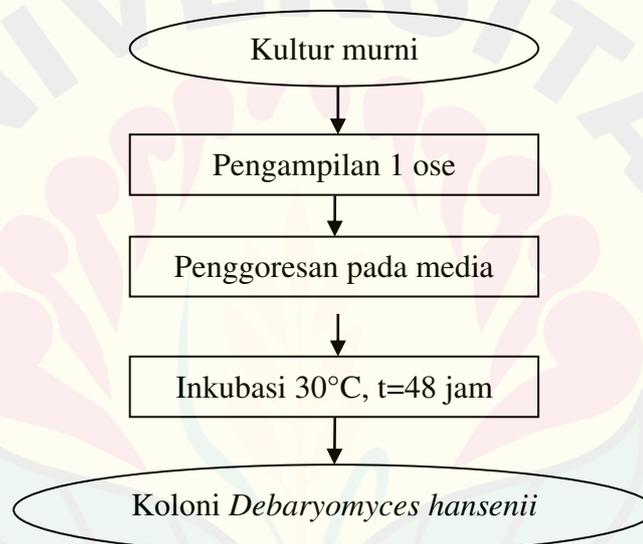
Persiapan sampel diawali dengan persiapan bahan baku berupa tepung ampas singkong yang diperoleh dari industri tepung tapioka. Ampas singkong dilakukan pengeringan dan dilakukan proses pengayakan ukuran 100 mesh untuk memperoleh serbuk yang lebih halus untuk selanjutnya dilakukan proses delignifikasi. Proses delignifikasi menggunakan NaOCl 1% selama 5 jam kemudian diambil endapannya untuk dicuci menggunakan aquadest hingga pH netral. Padatan yang dihasilkan direndam dalam larutan NaOH 12% selama 24 jam, kemudian disaring. Supernatan yang dihasilkan dinetralkan dengan menambahkan tetes demi tetes HCl 6 N sampai pH netral ($\text{pH} = 7$) dan di sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifugasi dipisahkan dengan cara dekantasi. Selanjutnya, supernatan ditambahkan etanol 95% dan di sentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 60°C sampai beratnya konstan. Setelah ekstraksi xilan, dilakukan produksi xilosa menggunakan substrat xilan dengan perlakuan starter *A. niger*, dan *T. reesei*. Xilan sebanyak 1,5 gram dilarutkan dalam 90 ml larutan mineral dengan komposisi 0,1 g MgSO_4 , 0,15 g KH_2PO_4 , 0,015 g CaCl_2 , 0,02 g FeSO_4 , 0,02 g MnSO_4 , 0,2 g yeast ekstrak dan 1 ml buffer sitrat pH 5 yang mengandung Tween 80 0,1%. Media yang mengandung xilan dan larutan mineral disterilisasi kemudian diinokulasikan starter *A. niger* dan *T. reesei* 10% (v/v). Fermentasi dilakukan pada suhu inkubasi 30°C , 150 rpm selama 48 jam. Analisis yang dilakukan meliputi kadar gula reduksi metode DNS dan kadar xilosa menggunakan HPLC. Diagram alir proses produksi dan hidrolisis xilosa disajikan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Proses Produksi Xilan dan Hidrolisis Xilosa (Firdausa *et al.*, 2017)

b. Peremajaan Kultur Mikroba

Peremajaan mikroba dilakukan dengan menumbuhkan kultur murni *D. hansenii* pada media agar MEA. Media kemudian dilakukan penimbangan dan pencampuran dalam aquades, setelah larut media dituang dalam tabung reaksi. Media MEA dalam tabung reaksi disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian tabung reaksi dimiringkan selama 24 jam untuk membentuk media agar miring. Sebanyak satu ose biakan murni sel khamir digoreskan diatas agar yang telah padat dan dingin kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C sehingga diperoleh koloni tunggal sel. Diagram alir peremajaan kultur khamir dapat dilihat pada Gambar 3.2

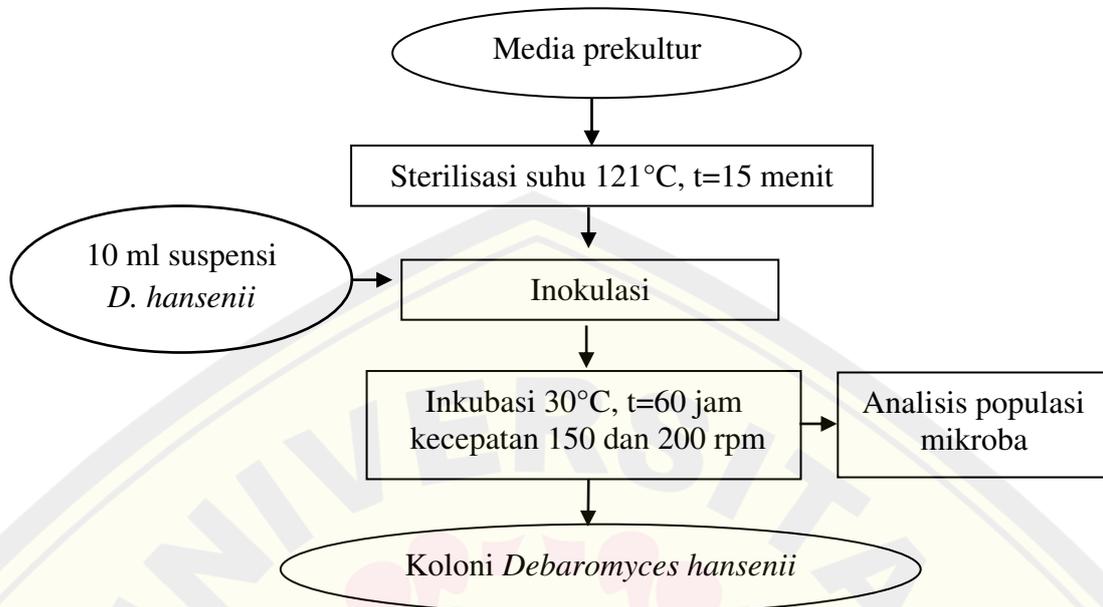


Gambar 3.2 Diagram Alir Peremajaan Kultur (Maya *et al.*, 2019)

c. Pembuatan Starter *Debaryomyces hansenii*

Preparasi media starter dilakukan dengan menggunakan media yang mengandung 200 mg xilosa yang dilarutkan dalam 50 ml aquades dan 0,2 gr yeast ekstrak, 0,2 g KH₂PO₄, 0,05 gr NH₄Cl dan 0,05 g MgSO₄ dan 1 ml buffer sitrat pH 5 yang mengandung 0,1% Tween 80 yang dilarutkan dengan aquades sampai volumenya 40 ml. Kedua media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Media starter fermentasi yang terbentuk kemudian dilakukan penambahan inokulum 10 ml suspensi *D. hansenii* dan ditumbuhkan dengan kondisi 150 dan 200 rpm selama 48 jam pada suhu 30°C di dalam *shaker inkubator*. Media starter yang sudah dibuat kemudian digunakan sebagai sumber

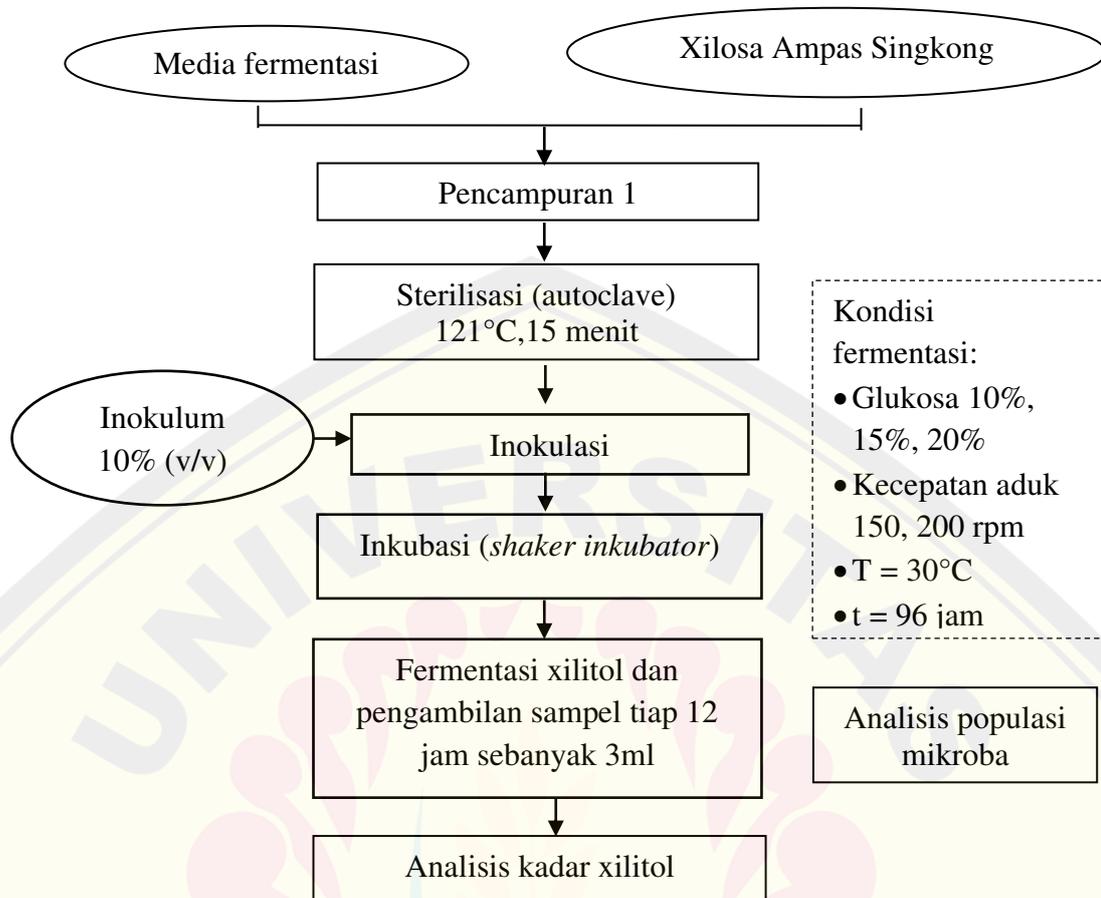
khamir pada proses fermentasi. Diagram pembuatan starter dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Diagram Alir Pembuatan Starter Fermentasi (Pfeifer *et al*, 1996)

d. Proses Fermentasi Xilitol

Proses fermentasi dilakukan dengan menggunakan inkubator *shaker* selama 3 hari pada setiap perbedaan kecepatan agitasinya. Media yang digunakan untuk fermentasi yaitu volume kerja sebanyak 100 ml yang mengandung xilosa tepung ampas singkong sebanyak 80 ml dan glukosa dengan perbandingan sesuai dengan perlakuan. Nutrient dalam media fermentasi terdiri atas 0,2 g yeast ekstrak, 0,2 g KH_2PO_4 , 0,05 g MgSO_4 , dan 0,05 gr NH_4Cl , 9 ml aquades dan 1 ml buffer sitrat pH 5 yang mengandung Tween 80 0,1%. Substrat xilosa ampas singkong dicampurkan dengan nutrient lain dan di sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Media fermentasi yang terbentuk kemudian ditambahkan 10 ml suspensi *D. hansenii* dari starter sebelumnya dan dilakukan fermentasi selama 72 jam. Selama fermentasi dilakukan pengamatan secara periodik setiap 12 jam meliputi populasi mikroba dan kadar xilitol. Diagram fermentasi xilitol dapat dilihat pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Diagram Alir Produksi Xilitol (Mardawati *et al.*, 2015)

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan pada penelitian ini meliputi penentuan analisa kadar gula reduksi metode DNS (Miller, 1959), populasi *Debaryomyces hansenii* pada starter dan fermentasi xilitol menggunakan metode *counting chamber* (Wahyuni *et al.*, 2004), analisa kadar xilosa dan xilitol (Yulianto, 2002) dan efisiensi fermentasi (Thagala *et al.*, 2019).

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Penentuan Kadar Gula Reduksi Metode DNS

Penentuan kadar gula reduksi dilakukan mengacu kepada metode yang dikembangkan oleh Miller (1959), adapun metode yang dilakukan yaitu sebagai berikut.

a. Pembuatan reagen *dinitrosalisilic acid* (DNS)

Sebanyak 1,76 g NaOH (PA), 2 g DNS, dan 60 g K-Na Tartarat ditambahkan 100 ml aquades dan distirer hingga larut. Setelah itu larutan ditera hingga 200 ml dan disimpan dalam botol gelap.

b. Pembuatan kurva standar

Kurva standar diperoleh dengan cara membuat seri konsentrasi xilosa 0 hingga 500 ppm. Kemudian 1 ml larutan standart dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml larutan DNS dan divortex. Setelah itu larutan dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit dan didinginkan sekitar 5 menit. Setelah dingin larutan ditambahkan dengan 8 ml aquades dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Kadar gula pereduksi diperoleh dari persamaan kurva standar dengan sumbu y sebagai nilai absorbansi dan sumbu x sebagai kadar gula reduksi (mg/mL). Kurva standar diperoleh dari pengukuran absorbansi xilosa standar. Data absorbansi seri kosentrasi xilosa yang telah dibuat kemudian disajikan dalam bentuk grafik dan diperoleh persamaan garis y. Nilai absorbansi seri konsentrasi xilosa standar dan grafik seri xilosa standar dapat dilihat pada Lampiran 3.1.

c. Penentuan kadar gula reduksi

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml larutan DNS dan divortex. Setelah itu larutan dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit dan didinginkan sekitar 5 menit. Setelah dingin larutan ditambah 8 ml aquades dan divortex. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Absorbansi xilosa ampas singkong yang telah diperoleh dihitung menggunakan persamaan linear yang diperoleh dari kurva standar. Persamaan linear yang diperoleh yakni $y = 0,7085x - 0,0027$ dengan jumlah xilosa = x dan absorbansi = y.

3.5.2 Penentuan Populasi *Debaryomyces hansenii* Metode *Counting Chamber*

Penentuan jumlah populasi khamir selama proses fermentasi dilakukan dengan menggunakan *counting chamber* mengacu pada metode Wahyuni *et al.*, (2004) Sampel hasil fermentasi yang akan dianalisa dilakukan pengenceran

menggunakan larutan fisiologis 0,85%. Pengenceran dilakukan sampai 10^{-2} kemudian pengenceran terakhir diambil 0,1 ml kemudian ditambahkan metil biru 0,1 ml dan di homogenisasi didapatkan FP 2. Setelah itu diambil 0,02 ml larutan sampel kedalam *haemocytometer* kemudian diamati pada perbesar 10x10 dan dilanjutkan pada perbesaran 40x10. Perhitungan dilakukan secara representative dengan menghitung sel hidup dengan keterangan sel hidup tidak berwarna sedangkan sel yang mati akan berwarna biru.

3.5.3 Penentuan Kadar Xilosa dan Xilitol Metode HPLC

Penentuan kadar xilosa dan xilitol berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Yulianto *et al.*, (2002) menggunakan metode HPLC. Pada uji HPLC ini, sebanyak 1 ml sampel yang telah di sentrifuse dari masing masing perlakuan dilakukan preparasi dengan memfilter menggunakan membran yang terdapat pada vial dengan ukuran 1 ml. Sampel xilosa yang telah dipreparasi dipisahkan dengan HPLC menggunakan kolom NH₂ dengan detektor Refraktif Indeks (RID10A), laju alir 0,5 mL/menit, dan suhu kolom 50°C selama 13 menit sedangkan sampel xilitol dipisahkan dengan kolom VertiSep™ Sugar LMP 8µm 7,8x300 mm, laju alir 0,7 mL/menit dan suhu kolom 60°C selama 45 menit.

3.5.4 Efisiensi Fermentasi

Efisiensi fermentasi dihitung dengan membagi nilai kadar xilitol yang dihasilkan dengan kadar substrat yang digunakan dalam proses fermentasi. Penentuan nilai efisiensi fermentasi menggunakan metode yang dikembangkan oleh Thalagala *et al.*, (2009). Nilai efisiensi fermentasi digunakan untuk mengetahui berapa banyak bahan yang dapat dikonversi menjadi produk dalam suatu proses fermentasi. Apabila nilai efisiensi fermentasi semakin tinggi, maka akan lebih banyak produk yang bisa digunakan. Efisiensi fermentasi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Efisiensi Fementasi (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi xilitol (mg)}}{\text{Substrat xilosa (mg)}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian diolah dengan perhitungan rata rata dan standar deviasi pada Microsoft Excel. Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan histogram untuk mengetahui hubungan antar-variabel yang diamati.



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hidrolisis Xilan menjadi Xilosa Menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*

Kadar xilosa yang dihasilkan dengan substrat xilan tepung ampas singkong pada starter *A. niger* dan *T. reesei* diidentifikasi dengan menggunakan HPLC kolom NH₂. Penggunaan *A. niger* dan *T. reesei* digunakan sebagai starter karena merupakan perlakuan yang paling optimal pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fadila (2021). Berdasarkan penelitian Fadila (2021), dengan perlakuan kombinasi *A. niger* dan *T. reesei* menghasilkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain dengan substrat xilan sebanyak 30 g/L dan kadar xilosa yang dihasilkan yakni 8,509 g/L dengan waktu hidrolisis optimum selama 48 jam.

Tabel 4.1 Kadar Gula Reduksi dan Xilosa Pada Waktu Hidrolisis 48 jam

Perlakuan	Kadar Gula Reduksi (g/L)*	Kadar Xilosa (g/L)**
<i>A. Niger</i> dan <i>T. reesei</i>	4,68	4,60

* Pengujian dengan DNS

** Pengujian dengan HPLC

Berdasarkan Tabel 4.1 diperoleh kadar gula reduksi dengan pengujian metode DNS sebesar 4,68 g/L sedangkan kadar xilosa yang dihasilkan pada pengujian HPLC sebesar 4,6 g/L. Pada penelitian ini substrat xilan yang digunakan yakni 15 g/L. Penentuan kadar gula reduksi dilakukan untuk mendeteksi dalam proses hidrolisis enzimatis menggunakan starter *A. niger* dan *T. reesei* mampu menghasilkan gula reduksi. Proses hidrolisis xilan tepung ampas singkong mejadi xilosa mengalami peningkatan pada penelitian ini. Pada penelitian ini kombinasi *A. niger* dan *T. reesei* mampu menghidrolisis xilan tepung ampas singkong menjadi gula reduksi mencapai 30,6% dari substrat yang digunakan dan menunjukkan adanya peningkatan efisiensi hidrolisis xilan tepung ampas singkong dengan starter dengan waktu optimal fermentasi yang sama oleh Fadila (2021) dimana efisiensi hidrolisisnya 28,5%.

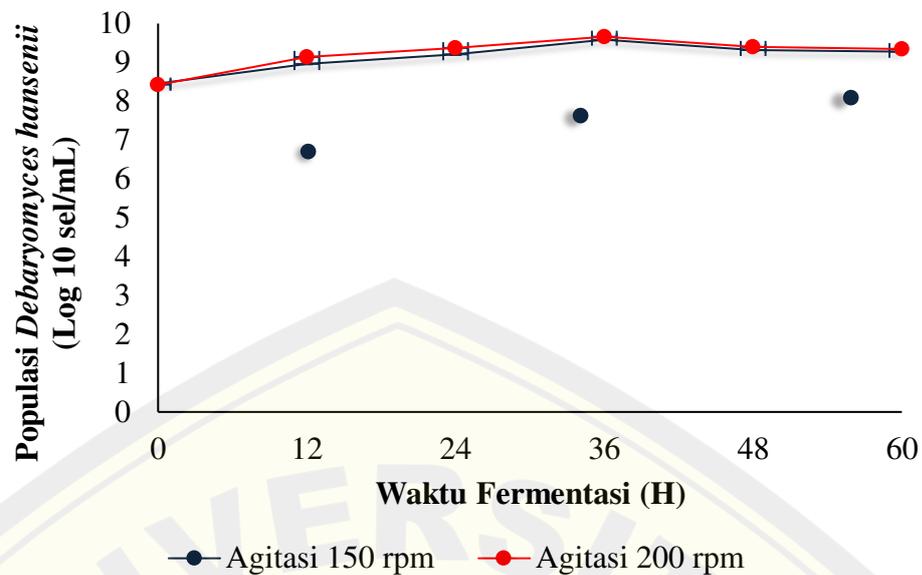
Peningkatan kemampuan *A. niger* dan *T. reesei* dalam mendegradasi xilan menjadi xilosa terjadi karena adanya interaksi enzim xilanase yang terbentuk dengan substrat xilan dan kebutuhan nutrisi yang terpenuhi. Kebutuhan substrat yang cukup dalam proses fermentasi akan menghasilkan kebutuhan enzim yang baik sehingga interaksi kompleks antar substrat-enzim berjalan optimal dan kadar gula reduksi yang optimal (Safaria *et al.*, 2013). Kapang mampu bertahan dengan kondisi nutrisi fermentasi telah berkurang. Semakin tinggi konsentrasi enzim xilanase yang dihasilkan oleh kapang maka gula reduksi akan semakin tinggi (Larasati *et al.*, 2015).

A. niger mampu menghasilkan enzim xilanase yang mampu mendegradasi xilan (Villena *et al.*, 2007). Enzim xilanase yang dihasilkan berupa endoxilanase dan β -xylosidase sedangkan *T. reesei* menghasilkan enzim endo- β -1,4-xilanase dan endoxilanase yang mampu mendegradasi xilan. Endo-xilanase mampu memutus ikatan β -1,4 pada bagian rantai xilan, ikatan yang diputus ditentukan berdasarkan panjang rantai substrat, derajat percabangan, dan pola pemutusan enzim hidrolase. Ekso-xilanase dapat memutus rantai polimer xilosa, sehingga xilosa sebagai produk utama dan xilo-oligosakarida rantai pendek (Richana, 2002). Campuran enzim xilanase yang terbentuk dari beberapa kapang dalam proses fermentasi mampu memperbaiki dan memaksimalkan kerja enzim xilanase dalam mendegradasi xilan. Penggunaan kultur campuran dalam proses hidrolisis enzimatik mampu menghasilkan enzim yang lebih kompleks dibanding dengan hidrolisis kultur tunggal (Jayus *et al.*, 2019).

4.2 Fermentasi Xilosa Tepung Ampas Singkong menjadi Xilitol

4.2.1 Kurva Pertumbuhan *Debaryomyces hansenii* Pada Starter Fermentasi

Pertumbuhan *D. hansenii* pada starter dilakukan untuk mengaktifkan sel dan merangsang khamir untuk memetabolisme sumber karbon xilosa serta menghasilkan enzim xilosa reduktase. Pengukuran populasi *D. hansenii* pada starter fermentasi menggunakan metode *counting chamber* dengan *haemocytometer* yang dilakukan selama 60 jam dan dapat di lihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Kurva Pertumbuhan Starter *Debaryomyces hansenii* pada kecepatan Agitasi 150 dan 200 rpm.

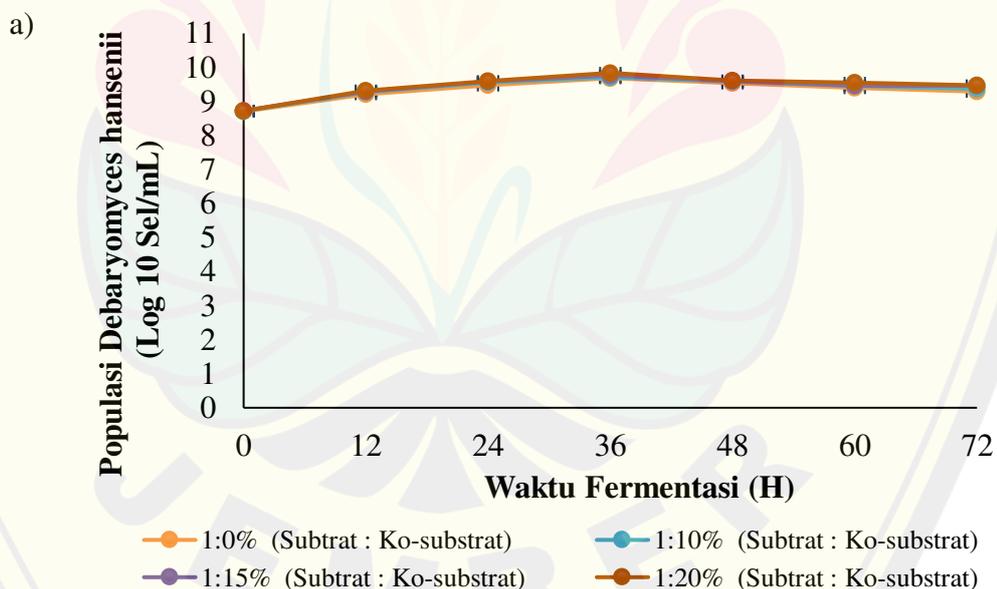
Gambar 4.1 menunjukkan populasi pertumbuhan *D. hansenii* memasuki fase pertumbuhan dimulai pada jam ke 0 hingga jam ke 36, sedangkan diatas jam ke 36 sudah populasi cenderung turun dan memasuki fase stasioner. Mikroba sudah tidak aktif dalam melakukan metabolisme dan memasuki fase kematian. Puncak pertumbuhan *D. hansenii* pada starter terletak pada jam ke 36. Pada agitasi 150 rpm menunjukkan populasi mikroba mencapai $9,535 \log \text{ sel/cm}^3$ dengan rata-rata jumlah sel $3,4 \times 10^8 \text{ sel/cm}^3$. Pada starter pada agitasi 200 rpm rata-rata populasi mikroba mencapai $9,628 \log \text{ sel/cm}^3$ dengan rata-rata jumlah sel $4,1 \times 10^8 \text{ sel/cm}^3$. Pengamatan pertumbuhan sel pada media starter dilakukan tiap 12 jam sekali hingga jam ke 60.

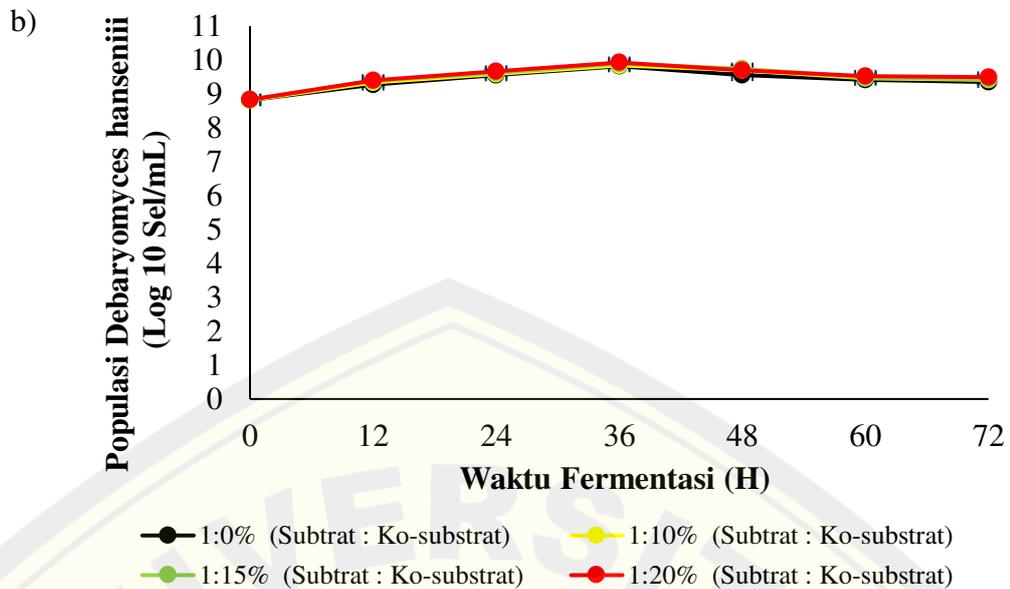
Pada perbedaan agitasi 150 dan 200 rpm terhadap populasi *D. hansenii* tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Pada jam fermentasi ke 24 hingga jam ke 60 populasi khamir tidak mengalami perubahan jumlah yang signifikan. Populasi *D. hansenii* pada starter agitasi 200 rpm cenderung rendah karena nutrisi dalam media telah habis dan kemampuan sel dalam transfer oksigen berkurang karena agitasi yang tinggi sehingga sebagian sel akan mengalami kematian. Populasi *D. hansenii* cenderung tidak memiliki perubahan yang nyata terhadap agitasi yang

berbeda dikaitkan dengan terjadinya proses autolisis yang terjadi pada pertumbuhan kapang dan khamir (Znidarsic ,2001). Autolisis menyebabkan sel dapat memetabolisme komponen sel lain yang terdispersi dalam media karena mitokondria mengeluarkan enzim yang dapat menghancurkan membran sel sehingga sel mengalami kerusakan dan komponen sel akan hilang serta terdispersi dalam media (Choiron *et al.*, 2013).

4.2.2 Kurva Pertumbuhan *Debaryomyces hansenii* Pada Media Xilosa Tepung Ampas Singkong

Pertumbuhan sel khamir *D. hansenii* meliputi beberapa fase yaitu fase lag (adaptasi), fase eksponensial (pertumbuhan), fase stasioner dan fase kematian. *D. hansenii* yang ditumbuhkan dalam media xilosa ampas singkong dapat beradaptasi dimana sel mulai tumbuh dan aktif membelah dari jam ke 12 hingga jam ke 36. Hasil pengukuran populasi *D. hansenii* pada sampel fermentasi xilosa tepung ampas singkong menggunakan metode *counting chamber* dengan *haemocytometer* yang dilakukan selama 72 jam dapat dilihat pada Gambar 4.2.





Gambar 4.2 Kurva Pertumbuhan *Debaryomyces hansenii* selama 72 jam a) agitasi 150 dan b) agitasi 200 rpm

Populasi *D. hansenii* pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa fase pertumbuhan berada pada jam ke 36 dan setelah itu mengalami penurunan di seluruh perlakuan perbedaan ko-substrat dan kecepatan agitasi. Pada perlakuan kecepatan agitasi 150 rpm dengan perbandingan glukosa 0% terhadap xilosa menghasilkan populasi mikroba $9,638 \log \text{ sel/cm}^3$, perbandingan glukosa 10% menghasilkan mikroba sebesar $9,708 \log \text{ sel/cm}^3$, perlakuan perbandingan glukosa 15% terhadap xilosa menghasilkan mikroba sebesar $9,761 \log \text{ sel/cm}^3$, dan perlakuan perbandingan glukosa 20% terhadap xilosa menghasilkan mikroba sebesar $9,840 \log \text{ sel/cm}^3$. Sedangkan pada perlakuan agitasi 200 rpm dengan perbandingan glukosa 0% terhadap xilosa menghasilkan populasi mikroba sebesar $9,711 \log \text{ sel/cm}^3$, perbandingan glukosa 10% menghasilkan mikroba sebesar $9,733 \log \text{ sel/cm}^3$, perlakuan perbandingan glukosa 15% terhadap xilosa menghasilkan mikroba sebesar $9,898 \log \text{ sel/cm}^3$, dan perlakuan perbandingan glukosa 20% terhadap xilosa menghasilkan mikroba sebesar $9,922 \log \text{ sel/cm}^3$.

Pada Gambar 4.2 pertumbuhan *Debaryomyces hansenii* pada agitasi 150 rpm dan 200 rpm mengalami pertumbuhan dimulai jam ke 0 hingga jam ke 36 dan mulai mengalami penurunan setelah jam ke 36 fermentasi. Pertumbuhan *D.*

hansenii baik pada agitasi 150 dan 200 rpm menandakan bahwa khamir dapat beradaptasi dengan media xilosa ampas singkong. *D. hansenii* mulai mengalami fase kematian karena berkurangnya nutrisi dalam media fermentasi secara kontinu. Ukuran sel akan menjadi lebih kecil karena sel membelah meskipun nutrisi pada media sudah habis (Mangunwidjaja dan Suryani, 1994). Sel akan mengalami perubahan komposisi kimia dan ukuran sel (Moentamarian *et al.*, 2016).

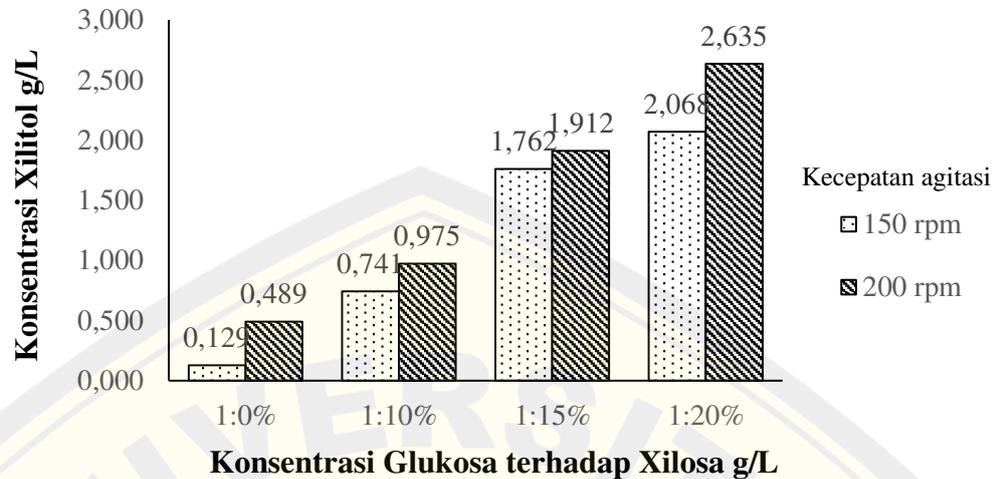
Perlakuan penambahan glukosa pada konsentrasi 10%, 15% dan 20% dibandingkan dengan tanpa penambahan glukosa terhadap populasi sel *D. hansenii* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Perbedaan yang tidak cukup nyata antar penambahan glukosa sebagai ko-substrat dapat terjadi karena pada penambahan glukosa pada konsentrasi 10% dan 15% terhadap xilosa belum cukup mampu dalam regenerasi sel sehingga sel akan tetap memetabolisme xilitol. Pada sampel tanpa penambahan glukosa jumlah populasi menunjukkan populasi yang cenderung mirip dengan sampel penambahan glukosa 10% dan 15%, hal tersebut dikaitkan karena terjadinya proses autolisis yang menyebabkan sel dapat memetabolisme komponen sel lain yang terdispersi dalam media sehingga jumlah populasi meningkat akan tetapi konsentrasi xilitol yang dihasilkan rendah.

Semakin tinggi agitasi yang digunakan maka populasi mikroba yang terbentuk semakin tinggi walaupun perbedaan yang terjadi tidak signifikan. Pada kecepatan agitasi yang lebih rendah sebagian kultur terkocok, sel yang mengendap mengakibatkan ruang gerak antar sel yang kecil sehingga kontak nutrisi maupun oksigen menjadi tidak merata. Sel akan mengalami kematian, kemudian komponen selnya terdegradasi dan dimanfaatkan sebagai suplai nutrisi untuk sel-sel yang masih hidup (Cempaka, 2015).

4.2.3 Konsentrasi Xilitol pada Fermentasi Xilosa Tepung Ampas Singkong

Konsentrasi xilitol diidentifikasi menggunakan HPLC dengan kolom VertiSep™ Sugar LMP 8µm. Sampel yang diuji adalah sampel dengan jumlah populasi mikroba paling tinggi yaitu jam ke-36 di masing-masing perlakuan

perbedaan konsentrasi ko-substrat dan kecepatan agitasi. Data hasil identifikasi HPLC disajikan dalam grafik Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Konsentrasi Xilitol Masing-Masing Perlakuan pada Jam ke-36

Gambar 4.3 menunjukkan konsentrasi xilitol yang dihasilkan memiliki perbedaan yang cukup signifikan antar masing-masing perlakuan. Sampel dengan konsentrasi xilitol tertinggi pada hasil fermentasi xilosa tepung ampas singkong selama 36 jam terdapat pada perbandingan 20% glukosa terhadap xilosa sebesar 2,635 g/L dengan kecepatan agitasi 200 rpm. Pembentukan xilitol berjalan lurus dengan meningkatnya populasi mikroba dalam media. Semakin tinggi populasi mikroba akan meningkatkan ekskresi enzim xilosa reduktase sehingga kadar xilitol yang terbentuk semakin tinggi pula. Pada penelitian ini dengan menggunakan substrat xilosa ampas singkong memiliki konsentrasi xilitol lebih tinggi dibanding dengan penelitian sebelumnya. Pada pembentukan xilitol menggunakan substrat xilosa TKKS oleh *D. hansenii* yang dilakukan pada kondisi semi aerob selama 96 jam dengan konsentrasi sel 10^8 sel/mL menghasilkan xilitol sebesar 0,138g/L dengan substrat xilosa 1,472 g/L (Mardawati, dkk., 2018).

Kecepatan agitasi memiliki peranan yang cukup penting dalam produksi xilitol dibuktikan bahwa pada penelitian ini konsentrasi xilitol meningkat seiring meningkatnya agitasi dalam proses fermentasi. Pada Gambar 4.3 menunjukkan pada konsentrasi glukosa 20% terhadap xilosa memiliki konsentrasi menghasilkan xilitol sebesar 2,683 g/L pada 200 rpm sedangkan pada 150 rpm menghasilkan xilitol sebesar 2,063 g/L. Perbedaan produksi metabolit yang dihasilkan terjadi

akibat perbedaan biomassa yang terbentuk karena biomassa yang terbentuk pada kecepatan agitasi yang bervariasi juga berbeda. Pengaruh agitasi juga memiliki pengaruh pada mikroba *D. hansenii* dalam penelitian yang dilakukan oleh Bhattacharya *et al.*, (2016) bahwa *D. hansenii* menghasilkan xilitol dengan konsentrasi 31,6 g/L dan mengalami peningkatan konsentrasi xilitol pada kecepatan agitasi 200 rpm sebesar 33,8 g/L dengan substrat utama xilosa dari tanaman hyacinth dengan konsentrasi 65,8 g/L. Kecepatan agitasi dapat mempengaruhi produksi enzim dalam fermentasi, agitasi terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat mengurangi produksi enzim dalam proses fermentasi (Papagianni *et al.*, 2001).

4.2.4 Efisiensi Fermentasi Xilosa Menjadi Xilitol

Penentuan nilai efisiensi fermentasi dilakukan dengan membagi nilai konsentrasi xilitol dengan konsentrasi substrat yang digunakan. Masing-masing sampel dihitung nilai efisiensinya untuk mengetahui perlakuan terbaik berdasarkan perbedaan konsentrasi ko-substrat dan kecepatan agitasi. Nilai hasil efisiensi fermentasi tertuang pada Tabel 4.2 dan Lampiran 4.6.

Tabel 4.2 Efisiensi Fermentasi Xilitol pada Jam ke-36

Konsentrasi glukosa terhadap xilosa	Konsentrasi Xilitol (g/L)		Konsentrasi Xilosa (g/L)	Efisiensi Fermentasi	
	150 rpm	200 rpm		150 rpm	200 rpm
0%	0,129	0,489	4,6	2,80%	10,63%
10%	0,741	0,975	4,6	16,11%	21,20%
15%	1,762	1,912	4,6	38,30%	41,57%
20%	2,068	2,635	4,6	44,96%	57,28%

Efisiensi fermentasi didapatkan dari pembagian antara konsentrasi xilitol dengan konsentrasi substrat yang digunakan. Berdasarkan Tabel 4.2 didapatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi glukosa terhadap xilosa dan kecepatan agitasinya, efisiensinya semakin tinggi. Pada konsentrasi glukosa terhadap xilosa 1:20% pada kecepatan agitasi 150 rpm efisiensi fermentasinya sebesar 44,96% sedangkan pada kecepatan agitasi 200 rpm efisiensi fermentasinya sebesar 57,28%. Nilai efisiensi fermentasi tertinggi berada pada sampel konsentrasi glukosa 20% terhadap xilosa pada kecepatan agitasi 200 rpm.

Nilai efisiensi fermentasi akan semakin tinggi akibat meningkatnya kadar produk yang dihasilkan dalam proses fermentasi (Jayus *et al.*, 2019). Adanya peningkatan jumlah populasi mikroba akan menghasilkan jumlah enzim yang semakin tinggi pula, sehingga xilosa yang dikonversi menjadi xilitol juga meningkat. Kadar substrat dan ko-substrat pada awal fermentasi juga sangat mempengaruhi nilai efisiensi fermentasi xilitol. Kadar xilosa awal yang terlalu tinggi akan menghambat aktivitas xilosa reduktase dan menghambat konsumsi xilosa untuk pertumbuhan. Hal tersebut akan berdampak pada produksi xilitol yang menurun akibat keterbatasan transfer oksigen dalam pertumbuhan mikroba (Converti *et al.*, 2002). Sedangkan, konsentrasi glukosa yang tinggi akan menghambat transport xilosa ke dalam sel dan menekan induksi enzim yang digunakan untuk konversi xilitol oleh xilosa (Tavares *et al.*, 2000). Konsentrasi glukosa yang tepat akan mampu menyokong kebutuhan khamir untuk memenuhi kebutuhan sumber karbon guna menghasilkan ATP dari proses glikolisis (Oh dan Kim, 1998).

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Penambahan glukosa sebagai ko-substrat pada produksi xilitol oleh *Debaryomyces hansenii* berpengaruh terhadap konsentrasi xilitol yang dihasilkan. Konsentrasi xilitol tertinggi terdapat pada perlakuan penambahan 20% glukosa terhadap xilosa mencapai 2,683 g/L pada agitasi 200 rpm sedangkan pada kecepatan agitasi 150 rpm sebesar 2,068 g/L.
2. Perbedaan agitasi tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan *Debaryomyces hansenii* akan tetapi memiliki pengaruh terhadap xilitol yang dihasilkan. Xilitol yang dihasilkan pada kecepatan agitasi 200 rpm lebih tinggi dibandingkan agitasi 150 rpm.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yakni perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait kondisi lingkungan fermentasi yang mendukung pertumbuhan khamir dalam fermentasi xilitol. Selain itu juga dapat dilakukan penambahan ko-substrat lain yang dapat mendukung fermentasi xilitol lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Amenaghawon, N. A., Samuel, E.O., dan Charity, O.O. 2014. “*Application of Statistical Experimental Design for the Optimisation of Dilute Sulphuric Acid Hydrolysis of Cassava Bagasse*”. *Acta Polytechnica Hungarica*. 11: 242-243.
- Azhary dan Dodi, S. 2010. Pembuatan Pulp dari Batang Rosella dengan Proses Soda. *Jurnal Teknik Kimia* No. 2-3 Volume 17 (3) 10-12.
- Butnariu, M., Rodino, S., Petrache, P., Negoescu, C., Butu, M. 2014. Determination and Quantification of Maize Zeaxanthin Stability. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 9 (2): 745–755.
- Carneiro, C. V. G., Silva, F. C. D. P. E., dan Almeida, J. R. 2019. Xylitol production: Identification and Comparison of New Producing Yeasts. *Microorganisms Journal*. 7(11), 484.
- Choiron, M., Jayus, J., dan Suwasono, S. 2013. Pengaruh ketersediaan oksigen pada produksi epiglukan oleh *Epicoccum nigrum* menggunakan media molases. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 7(1), 11-20.
- Converti, A., Perego, P., Sordi, A., dan Torre, P. 2002. Effect of Starting Xylose Concentration on The Microaerobic Metabolism of *Debaryomyces hansenii*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 101(1), 15-29.
- Dominguez, J.M., N.J. Cao, C.S. Gong, and G.T. Tsao. 1997. Dilute Acid Hemicellulose Hydrolysates from Corncobs for Xilitol Production of Yeast. *Bioresource Technology* 6: (1) 85-90
- El-Batal, Ahmed, Salwa A., Khalaf. 2004. Xilitol Production from Corn Cobs Hemicellulosic Hydrolysate by *Candida tropicalis* Immobilized Cells in Hydrogel Copolymer Carrier. *International Journal of Agriculture dan Biology* Vol. 6 No. 6.
- Fadila, S. C. 2021. Hidrolisis Ampas Singkong Menjadi Xilosa Menggunakan *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Streptomyces olivaceus*. *Skripsi*. Hal 24-27. Jember: FTP Universitas Jember.
- Fengel, D. dan G. Wegener. 1995. *Kimia Kayu, Reaksi Ultrastruktur*: Terjemahan Hardjono, S. Yogyakarta: UGM Press.
- Firdausa, F. K., Agung B. S., Wuryanti H. 2017. Ekstrasi Xylan dari Limbah Ampas Singkong dan Pemanfaatannya sebagai Substrat Endo- β -1,4-D-Xilanase. *Jurnal Berkala Saintek* Vol 1 halaman 50-54.
- Fushinobu, S., Hidaka, M., Honda, Y., Wakagi, T., Shoun, H., dan Kitaoka, M. 2005. Structural Basis for The Specificity of The Reducing End Xylose-

- Releasing Exo-Oligoxylanase from *Bacillus halodurans* C-125. *Journal of Biological Chemistry*. 280(17), 17180-17186.
- Gasmi B. A., Gasmi, A., Arshad, M., Shanaida, M., Lysiuk, R., Peana, M., dan Björklund, G. 2020. Health Benefits of Xylitol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104:17, hal 7225-7237.
- Girio, F. M., Roseiro, J. C., Sá-Machado, P., Duarte-Reis, A. R., & Amaral-Collaco, M. T. 1994. Effect of Oxygen Transfer Rate on Levels of Key Enzymes of Xylose Metabolism in *Debaryomyces hansenii*. *Enzyme and Microbial Technology*. 16(12), hal 1074-1078.
- Granstrom, T. 2002. Biotechnological Production of Xilitol with Candida Yeast. *Abstract: Helsinki University of Technology*.
- Granstrom TB, Izumori K, Leisola M. 2007. A Rare Sugar Xylitol. Part I: The Biochemistry and Biosynthesis of Xylitol. *Appl Microbiol Biotechnol* 74(2):277–281
- Hallborn, J., N. Q. Meinander, B. Hahn-Hägerdal, F. Gorwa, M. Pentilla, dan S. Keränen. 1994. The Influence of Cosubstrate and Aeration on Xylitol Formation on Recombinant *Saccharomyces Cereviceae* Expressing the XYL1 Gene. *Appl Microbiol Biotechnol*. 42: 326-333
- Huntley, N. F., dan Patience, J. F. 2018. Xylose: Absorption, Fermentation, and Post-Absorptive Metabolism in the Pig. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9(1), 1-9
- Holtzapple, M.T. 2003. Hemicelluloses. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Elsevier Science Ltd. p 3060–3071.
- Janket S.J., Benwait J., Isaac P., Ackerson L.K., Meurman J.H. 2019. *Oral and Systemic Effects of Xylitol Consumption*. *Caries Res* 53(5):491– 501
- Jayus, J., dan Hanifa, A. S. 2019. Degradasi Komponen Selulosa, Hemiselulosa, dan Pati Tepung Kulit Ubi Kayu Menjadi Gula Reduksi oleh *Aspergillus Niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp.* IMI 383068. *Jurnal Agroteknologi*, 13:(01), 34-41.
- Jayus, J., Noorvita, I. V., dan Nurhayati, N. 2017. Produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3210 pada media molases dengan kecepatan agitasi dan aerasi yang berbeda. *Jurnal Agroteknologi*, 10(02), 184-192
- Ko B. S, Kim J., Kim J. H. 2006. Production of Xilitol From D-Xylose by A Xilitol Dehydrogenase Gene-Disrupted Mutant of *Candida Tropicalis*. *Applied Environmental and Microbiology* 72: 4207–4213
- Kumar, R., Wyman C. E. 2008. Effect of Enzyme Supplementation at Moderate Cellulase Loadings on Initial Glucose and Xylose Release from Corn

- Stover Solids Pretreated by Leading Technologies. *Biotechnology and Bioengineering*. 102(2): 457-467.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., dan Boekhout, T. 2011. *The yeasts: A Taxonomic Study*. Elsevier.
- Lankinen, Paulina. 2004. Ligninolytic Enzymes of The Basidiomycetous Fungi *Agaricus Bisporus* and *Phlebia Radiata* on Lignocellulose-Containing Media. *Disertasi* hal 28-39. Department of Applied Chemistry and Microbiology.
- Larasati, T. R. D., N. Mulyana, M. Anggriawan, dan Y. Effendi. 2015. Produksi Enzim Selulase Oleh Fungi Selulolitik Yang Diradiasi Sinar Gamma Dalam Fermentasi Jerami Padi. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 16(3): 139-147
- Lee, H., C. R. Sopher, K. Y. F. Yau. 1996. Induction of Xylose Reductase and Xylitol Dehydrogenase Activities on Mixed and Sugars in *Candida guilliermondii*. *J. Chern Tech Biotechnol*. 66: 315-319.
- Lidya, B. dan N. S. Djenar. 2000. *Dasar Bioproses*. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta
- Lynd L. R., P. J. Weiner, Van Z. W. H., dan Pretorius, I. S. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol*. 66(3): 506-577.
- Mäkinen. 2011. Sugar Alcohol Sweeteners as Alternatives to Sugar with Special Consideration of Xylitol. *Med Princ Pract* 20 (4): 303– 320
- Mangunwidjaja dan A. Suryani. 1994. *Teknologi Bioproses*. Jakarta: Swadaya
- Mardawati, E., Wira, D. W., Kresnowati, M. T. A. P., Purwadi, R., dan Setiadi, T. 2015. Microbial Production of Xylitol from Oil Palm Empty Fruit Bunches Hydrolysate: The Effect of Glucose Concentration. *Journal of the Japan Institute of Energy*, 94(8), 769-774.
- Mardawati, E. Dara N. D., Dwi W. W., Een S. 2018. Pengaruh Konsentrasi Sel Awal dan pH Medium pada Fermentasi Xilitol dari Hidrolisat Tandan Kosong Sawit. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri* Volume 7 Nomor 1: 23-30
- Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem*. 31(3): 426-428
- Moentamaria, D. G. 2016. Hidrolisis Minyak Kelapa dengan Lipase Terimobilisasi Zeolit Pada Pembuatan Perisa Alami. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 84-91.
- Motta, F. L., Andrade, C. C. P., dan Santana, M. H. A. 2013. A Review of Xylanase Production by The Fermentation of Xylan: Classification, Characterization and Applications. *Sustainable degradation of*

lignocellulosic biomass-techniques, applications and commercialization, 1, 251-276.

- Oh, D. K., dan S. Y. Kim. 1998. Increase of Xylitol Yield by Feeding Xylose and Glucose in *Candida Tropicalis*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 50: 419-425.
- Olennikov D. N., Rokhin A.V., Tankhaeva L. M. 2009. Lamiaceae Carbohydrates. VI. Water-Soluble Polysaccharides from *Lophanthus Chinensis*. *Chem Nat Compd* 45(3):300–303.
- Ortiz M. E., Bleckwedel J., Raya R. R., Mozzi F. 2013. Biotechnological and In Situ Food Production of Polyols by Lactic Acid Bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 97(11):4713–4726.
- Pal, S., Choudhary, V., Kumar, A., Biswas, D., Mondal, A. K. Sahoo, D. K. 2013. Studies on Xylitol Production by Metabolic Pathway Engineered *Debaryomyces hansenii*. *Bioresource Technology*. 147: 449–55.
- Palonen, H. 2004. *Role Of Lignin in The Enzymatic Hydrolysis Lignocellulose VVT Biotechnology*. Finland: Helsinki University of Technology
- Papagianni, M., Nokes S. E. dan Filer. 2001. Submerged and Solid-State Phytase Fermentation by *Aspergillus niger*: Effects of Agitation and Medium Viscosity on Phytase Production, Fungal Morphology and Inoculum Performance. *Food Technology and Biotechnology*, 39: 39-326
- Parajo, J. C., H. Dominguez dan J. M. Dominguez. 1999. *Biotechnological production of xilitol. Part 1: Interest of Xilitol and Fundamentals of Its Biosynthesis*. *Bioresource Technology*, 65:(3)191-201
- Perez, J., J. Munoz-Dorado, T. de la Rubia, dan J. Martinez. 2002. Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: *An Overview. Int. Microbiol*. 5: 53-63
- Peterson ME. 2013. Xylitol. *Top Companion Anim Med* 28(1):18–20
- Pfeifer, M. J., S. S. Silva, M. G. A. Felipe, I. C. Roberto, dan I. M. Mancilha. 1996. Effect of Culture Conditions on Xilitol Production by *Candida guilliermondii* FTI 20037. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 57/58: 423.
- Porcel, E. M. R., Lopez J. L. C., Perez J. A. S., Sevilla J. M. F., dan Y. Chisti, 2006. Effects of the Sporulation Conditions on The Lovastatin Production by *Aspergillus terreus*. *Biochemistry and Engineering*, 26: 139-144
- Rahayu, A. dan N. D. Kuswytasari. 2013. Pengaruh Masa Inkubasi dan Konsentrasi Inokulum *Penicillium Sp.* Terhadap Aktivitas Enzim Selulase pada Medium Tongkol Jagung. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1): 2337-3539
- Ratledge, C. 1994. Biodegradation of Oils, Fats and Fatty Acids. In *Biochemistry of Microbial Degradation* (pp. 89-141). Springer, Dordrecht.

- Richana, N., dan Lestina, P. 2002. Produksi Xilanase untuk Biokonversi Limbah Biji Kedelai. *Bulletin AgroBio, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor, Edisi*, 5(4), 55-62.
- Richana, N., Irawadi, T. T., Nur, M. A., Sailah, I., Syamsu, K., dan Arkenan, Y. 2007. Ekstraksi Xilan dari Tongkol Jagung. *Jurnal Pascapanen*, 4(1), 38-43.
- Rice T., Zannini E., Coffey A. 2019. A Review of Polyols - Biotechnological Production, Food Applications, Regulation, Labeling and Health Effects. *Crit Rev Food Sci Nutr*.
- Riley P., Moore D., Ahmed, F., Sharif M. O., Worthington H. V. 2015. Xylitol-Containing Products for Preventing Dental Caries in Children and Adults. *Cochrane Database Syst Rev* 3:CD010743
- Roni, K. A., dan Herawati, N. 2012. Uji Kandungan Asam Laktat Di Dalam Limbah Kubis Dengan Menggunakan NaCl Dan CaCl₂. *Berkala Teknik*, 2(4), 320-333.
- Safaria, S., N. Idiawati, dan T. A. Zaharah. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*. 2(1): 46-51.
- Saha. 2003. Hemicelluloses Bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 30: 279–291.
- Soccol, C. R., Stertz, Raimbault M., Pinheiro L. I., 1995. Biotransformation of Solid Waste Cassava Starch Production by *Rhizopus* in Solid State Fermentation, 1. Screening of Strains. *Arch. Biol. Techno*. 38(4), 1303-1310.
- Sun, Y. dan J. Cheng. 2002. *Hydrolysis of Lignocellulosic Material for Ethanol Production: A Review*. *Biores Technol*. 83:1-11.
- Tavares, J. M., Duarte, L. C., Amaral-Collaço, M. T., dan Gírio, F. M. 2000. The Influence of Hexoses Addition on The Fermentation Of D-Xylose in *Debaryomyces hansenii* Under Continuous Cultivation. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(9-10), 743-747.
- Thalagala, T. A. T. P., S. Kodama, T. Mishima, N. Isono, A. Furujo, Y. Kawasaki, dan M. Hisamatsu. 2009. Study on a New Preparation of D-Glucose Rich Fractions from Various Lignocelluloses Through a Two-Step Extraction with Sulphuric Acid. *J. Appl. Glycosci*. 56: 1-6.
- Tochampa W., Sarote, S., Wirat V., Penjit S., Bakker H. H. B., Chisti Y. 2005. A Model of Xilitol Production by The Yeast *Candida mogii*. *Bioprocess Biosyst Eng* 28: 175-183.
- Virgínio da Silva, D. D., Almeida Felipe, M. D. G. D., Mancilha, I. M. D., dan Silva, S. S. D. 2005. Evaluation of Inoculum of *Candida guilliermondii*

- Grown in Presence of Glucose on Xylose Reductase and Xylitol Dehydrogenase Activities and Xylitol Production During Batch Fermentation of Sugarcane Bagasse Hydrolysate. In *Twenty-Sixth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals* (pp. 427-437). Humana Press.
- Volk, W. A. dan M. F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid 1*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Wahyuni, A. S. dan Setyaningsih, R. 2004. Optimasi Produksi Xilitol dengan Variasi Konsentrasi Hidrolisat Hemiselulosa Bagase oleh *Candida tropicalis*. *Biofarmasi*, 2(1), 29-34.
- Windarti, Wiwin. 2010. Optimasi Konsentrasi Arabinosa Sebagai Ko-substrat Untuk Produksi Xilitol Oleh Sel Amobil *Candida tropicalis*. *Jurnal Repository IPB* Hal 23-16.
- Yang, R. C., McKenzi, C. R., Bilous, D., Seligy, V. I., Narang, S. S. 1988. *Applied Enviromental Microbiology*. 54: 1023-1029
- Yu, J., Y. Park, D. Yum, J. Kim, I. Kong, and D. Bai. 1995. Nucleotide Sequence and Analysis of a Xylanase Ge (Xyns) From Alkali-Tolerant Bacillus Sp. YA-14 And Comparison with Other Xylanase. *Apll. Environ. Microbiol.* 3:139-145.
- Yulianto, W. A., Rahayu, Naruki, dan Indrati. 2002. *Preparasi Hidrolisat Tandan Kosong Kelapa Sawit Sebagai Media Fermentasi Untuk Produksi Xilitol Oleh Candida shehatae WAY 08*. Malang: Prosiding Seminar Nasional PATPI.
- Yulianto, W. A., K. R. Kuswanto, Tranggono, I. Retno. 2006. Kinetika Fermentasi Pada Produksi Xilitol Dengan Penambahan Arabinosa dan Glukosa Sebagai Kosubstrat oleh *Candida shehatae* WAY 08. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 16: 215-221.
- Yun, Z., Kaiqi, X. Xiao, L. Jian' J. 2010. Favorable Effect of Very Low Initial Kla Value on Xylitol Production from Xylose by A Self-Isolated Strain of *Pichia guilliermondii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 109: 149- 52.
- Yulianto, W. A., & Panji, D. M. K. 2012. The Effect of Temperature and Time on Hydrolisis of Palm Oil Empty Fruit Bunch and Its Enzymatically Biodegradation for Xylose Production. *Agroindustrial Journal*, 1(1), 15.
- Znidarsic, P. 2001. The Morphology Of Filamentous Fungi in Submerged Cultivations As A Bioprocess Parameter. *Food Technol. Biotechnol.*, 39, 237-252

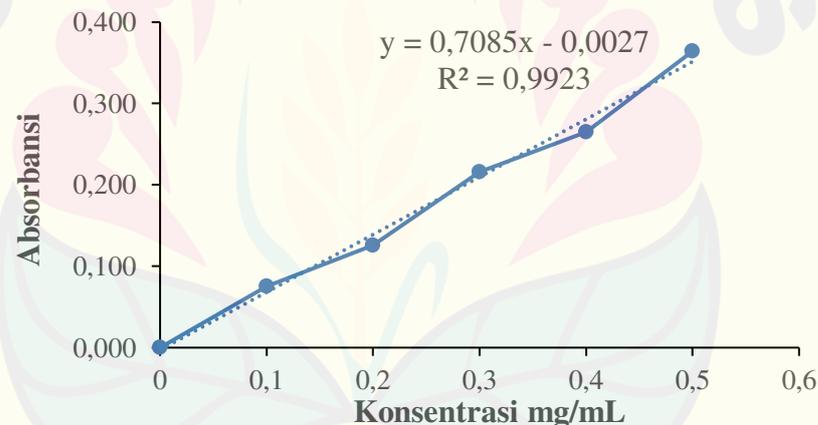
LAMPIRAN

Lampiran 3.1. Kurva Standar Xilosa Metode DNS

Tabel Absorbansi Seri Xilosa Standar

Konsentrasi mg/mL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Absorbansi
0	0,000	0,000	0,000	0,000
0,1	0,081	0,072	0,074	0,076
0,2	0,145	0,106	0,126	0,126
0,3	0,232	0,201	0,214	0,216
0,4	0,276	0,258	0,261	0,265
0,5	0,381	0,342	0,370	0,364

Grafik Kurva Standar Xilosa



Contoh perhitungan:

0,1 ml sampel diencerkan dengan aquades 1,9 ml hingga diperoleh faktor pengenceran 20. Kemudian dipipet 1 ml untuk dilakukan pengukuran kadar gula reduksi. Nilai absorbansi gula reduksi 48 jam dengan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* ulangan 1 = 0,162

Kadar gula reduksi = x

$$y = 0,7085x - 0,0027$$

$$0,162 = 0,7085x - 0,0027$$

$$x = \frac{0,162}{0,7085} + 0,0027$$

$$x = 0,2313 \text{ g/L}$$

Faktor Pengenceran 20

$$\begin{aligned} \text{Sehingga kadar xilosa (g/L)} &= 2,313 \text{ mg/mL} \times 20 \\ &= 0,4627 \text{ mg/mL} \\ &= 4,627 \text{ g/L} \end{aligned}$$

Lampiran 4.1 Perhitungan Kadar Gula Reduksi dan Kadar Xilosa

Sampel xilosa	Ulangan	Absorbansi	Kadar Gula Reduksi g/L
<i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reseei</i>	1	0,162	4,627
	2	0,161	4,599
	3	0,159	4,542
	4	0,161	4,599
	5	0,158	4,514
	6	0,159	4,486
	7	0,163	4,655
	8	0,159	4,542
	9	0,164	4,683
	10	0,165	4,712
	11	0,162	4,627
	12	0,166	4,740
	13	0,161	4,599
	14	0,162	4,627
	15	0,163	4,655
	16	0,160	4,571
	Rata-rata		4,615

Lampiran 4.2 Populasi *Debaryomyces hansenii* pada Starter

a. Populasi *D. hansenii* pada starter 150 rpm

Waktu Inkubasi	Kotak 1	Kotak 2	Kotak 3	Kotak 4	Kotak 5	Rata-rata
0 h	10	14	16	18	12	14
12 h	44	42	32	32	33	36,6
24 h	68	70	69	58	68	66,6
36 h	88	100	98	90	106	96,4
48 h	78	78	80	84	82	80,4
60 h	70	68	72	76	70	71,2

Contoh perhitungan jumlah populasi sel

$$\Sigma \text{ sel} = \text{jumlah sel} \frac{\text{kotak 1} + \text{kotak 2} + \dots + \text{kotak 5}}{5} \times \frac{25}{0,1\text{mm}^3} \times FP$$

$$\text{Jumlah sel jam ke 12} = \frac{44+42+32+32+33}{5} \times \frac{25}{0,1\text{mm}^3} \times 100$$

$$= 36,6 \times 250 \text{ sel/mm}^3 \times 100$$

$$= (9150 \text{ sel/mm}^3 \times 1000\text{mm}^3/1 \text{ cm}^3) \times 100$$

$$= 915.000.000 \text{ sel/cm}^3$$

Hasil perhitungan populasi *D. hansenii* pada starter 150 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	350.000.000	8,54	8,56	0,017
	2	370.000.000	8,57		
12 h	1	915.000.000	8,96	8,96	0,007
	2	895.000.000	8,95		
24 h	1	1.665.000.000	9,22	9,21	0,018
	2	1.570.000.000	9,20		
36 h	1	2.410.000.000	9,38	9,39	0,004
	2	2.440.000.000	9,39		
48 h	1	2.010.000.000	9,30	9,32	0,022
	2	2.160.000.000	9,33		
60 h	1	1.780.000.000	9,25	9,27	0,033
	2	1.980.000.000	9,30		

d. Populasi *D. hansenii* pada starter 200 rpm

Waktu Inkubasi	Kotak 1	Kotak 2	Kotak 3	Kotak 4	Kotak 5	Rata-rata
0 h	10	16	18	22	14	16
12 h	44	62	56	74	40	55,2
24 h	86	98	89	94	98	93
36 h	112	128	110	113	120	116,6
48 h	98	102	100	98	102	100
60 h	82	80	92	90	84	85,6

Contoh perhitungan jumlah populasi sel

$$\Sigma \text{ sel} = \text{jumlah sel} \frac{\text{kotak 1} + \text{kotak 2} + \dots + \text{kotak 5}}{5} \times \frac{25}{0,1\text{mm}^3} \times FP$$

$$\text{Jumlah sel jam ke 12} = \frac{44+62+56+74+40}{5} \times \frac{25}{0,1\text{mm}^3} \times 100$$

$$= 55,2 \times 250 \text{ sel/mm}^3 \times 100$$

$$= (13800 \text{ sel/mm}^3 \times 1000\text{mm}^3/1 \text{ cm}^3) \times 100$$

$$= 1.380.000.000 \text{ sel/cm}^3$$

Hasil perhitungan populasi *D.hansenii* starter 200 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	400.000.000	8,60	8,62	0,029
	2	440.000.000	8,64		
12 h	1	1.380.000.000	9,14	9,14	0,004
	2	1.400.000.000	9,15		
24 h	1	2.325.000.000	9,37	9,37	0,010
	2	2.420.000.000	9,36		
36 h	1	2.915.000.000	9,46	9,46	0,004
	2	2.880.000.000	9,46		
48 h	1	2.500.000.000	9,40	9,40	0,005
	2	2.540.000.000	9,40		
60 h	1	2.140.000.000	9,33	9,34	0,015
	2	2.250.000.000	9,35		

Lampiran 4.3 Populasi *Debaryomyces hansenii* pada Fermentasi Xilitol

a. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 0% glukosa terhadap xilosa Agitasi 150 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	510.000.000	8,71	8,71	0,006
	2	500.000.000	8,70		
12 h	1	1.650.000.000	9,22	9,21	0,006
	2	1.620.000.000	9,21		
24 h	1	2.950.000.000	9,47	9,47	0,001
	2	2.940.000.000	9,47		
36 h	1	4.790.000.000	9,68	9,68	0,005
	2	4.850.000.000	9,69		
48 h	1	3.300.000.000	9,52	9,53	0,016
	2	3.480.000.000	9,54		
60 h	1	2.470.000.000	9,39	9,39	0,018
	2	2.450.000.000	9,39		
72 h	1	1.930.000.000	9,29	9,28	0,006
	2	1.930.000.000	9,29		

b. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 10% glukosa terhadap xilosa Agitasi 150 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	530.000.000	8,73	8,72	0,012
	2	510.000.000	8,71		
12 h	1	2.380.000.000	9,38	9,37	0,009
	2	2.310.000.000	9,36		
24 h	1	3.560.000.000	9,55	9,55	0,004
	2	3.510.000.000	9,55		
36 h	1	5.080.000.000	9,71	9,71	0,003
	2	5.120.000.000	9,71		
48 h	1	3.750.000.000	9,57	9,58	0,005
	2	3.810.000.000	9,58		
60 h	1	2.910.000.000	9,46	9,47	0,021
	2	2.940.000.000	9,47		
72 h	1	2.240.000.000	9,35	9,36	0,015
	2	2.350.000.000	9,37		

c. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 15% glukosa terhadap xilosa agitasi 150 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	510.000.000	8,71	8,71	0,009
	2	520.000.000	8,72		
12 h	1	2.610.000.000	9,42	9,42	0,010
	2	2.700.000.000	9,43		
24 h	1	3.940.000.000	9,60	9,58	0,020
	2	3.695.000.000	9,57		
36 h	1	5.790.000.000	9,76	9,76	0,004
	2	5.740.000.000	9,76		
48 h	1	4.060.000.000	9,61	9,61	0,003
	2	4.020.000.000	9,60		
60 h	1	3.590.000.000	9,55	9,56	0,003
	2	3.620.000.000	9,56		
72 h	1	2.910.000.000	9,46	9,46	0,016
	2	2.880.000.000	9,56		

e. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 20% glukosa terhadap xilosa Agitasi 150 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	520.000.000	8,71	8,71	0,006
	2	510.000.000	8,71		
12 h	1	2.765.000.000	9,44	9,42	0,028
	2	2.520.000.000	9,40		
24 h	1	3.990.000.000	9,60	9,59	0,010
	2	3.860.000.000	9,59		
36 h	1	6.870.000.000	9,84	9,84	0,006
	2	6.980.000.000	9,84		
48 h	1	4.190.000.000	9,62	9,62	0,008
	2	4.080.000.000	9,61		
60 h	1	3.790.000.000	9,58	9,57	0,012
	2	3.650.000.000	9,56		
72 h	1	2.940.000.000	9,47	9,47	0,014
	2	2.980.000.000	9,47		

f. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 0% glukosa terhadap xilosa agitasi 200 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	670.000.000	8,83	8,82	0,009
	2	650.000.000	8,81		
12 h	1	2.350.000.000	9,37	9,38	0,006
	2	2.400.000.000	9,38		
24 h	1	3.590.000.000	9,55	9,55	0,004
	2	3.540.000.000	9,55		
36 h	1	5.100.000.000	9,71	9,71	0,009
	2	5.250.000.000	9,71		
48 h	1	3.670.000.000	9,56	9,56	0,010
	2	3.550.000.000	9,55		
60 h	1	2.710.000.000	9,43	9,43	0,018
	2	2.720.000.000	9,44		
72 h	1	1.690.000.000	9,23	9,22	0,019
	2	1.590.000.000	9,20		

g. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 10% glukosa terhadap xilosa agitasi 200 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	650.000.000	8,81	8,82	0,009
	2	670.000.000	8,83		
12 h	1	2.700.000.000	9,43	9,45	0,019
	2	2.870.000.000	9,46		
24 h	1	3.800.000.000	9,58	9,60	0,021
	2	4.075.000.000	9,61		
36 h	1	5.440.000.000	9,74	9,73	0,004
	2	5.380.000.000	9,73		
48 h	1	3.950.000.000	9,60	9,60	0,006
	2	4.030.000.000	9,60		
60 h	1	2.760.000.000	9,44	9,43	0,016
	2	2.570.000.000	9,41		
72 h	1	1.980.000.000	9,318	9,307	0,015
	2	1.980.000.000	9,297		

h. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 15% glukosa terhadap xilosa agitasi 200 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	690.000.000	8,84	8,84	0,004
	2	680.000.000	8,83		
12 h	1	3.080.000.000	9,49	9,48	0,006
	2	3.020.000.000	9,48		
24 h	1	5.310.000.000	9,73	9,72	0,012
	2	5.140.000.000	9,71		
36 h	1	7.890.000.000	9,89	9,90	0,002
	2	7.940.000.000	9,90		
48 h	1	4.510.000.000	9,65	9,65	0,007
	2	4.410.000.000	9,64		
60 h	1	3.950.000.000	9,60	9,59	0,014
	2	3.780.000.000	9,58		
72 h	1	2.950.000.000	9,47	9,47	0,004
	2	2.910.000.000	9,46		

i. Populasi *D. hansenii* sampel konsentrasi 20% glukosa terhadap xilosa agitasi 200 rpm

Waktu Fermentasi	Ulangan	Jumlah sel	Log 10 sel/mL	Rata-rata	STDEV
0 h	1	690.000.000	8,84	8,83	0,009
	2	670.000.000	8,83		
12 h	1	3.180.000.000	9,50	9,51	0,005
	2	3.230.000.000	9,53		
24 h	1	6.655.000.000	9,82	9,82	0,002
	2	6.685.000.000	9,82		
36 h	1	8.340.000.000	9,92	9,92	0,001
	2	8.360.000.000	9,92		
48 h	1	5.050.000.000	9,70	9,71	0,004
	2	5.110.000.000	9,71		
60 h	1	4.330.000.000	9,64	9,63	0,004
	2	4.280.000.000	9,63		
72 h	1	3.860.000.000	9,59	9,59	0,008
	2	3.960.000.000	9,60		

Lampiran 4.4 Perhitungan Efisiensi Fermentasi

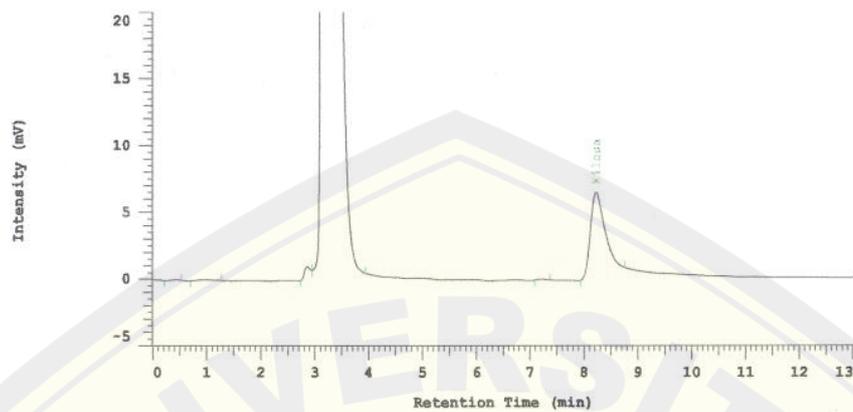
Konsentrasi glukosa terhadap xilosa	Konsentrasi Xilitol (g/L)		Konsentrasi Substrat (g/L)	Efisiensi Fermentasi	
	150 rpm	200 rpm		150 rpm	200 rpm
1:0%	0,129	0,489	4,6	2,80%	10,63%
1:10%	0,741	0,975	4,6	16,11%	21,20%
1:15%	1,762	1,912	4,6	38,30%	41,57%
1:20%	2,068	2,635	4,6	44,96%	57,28%

Contoh perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Efisiensi fermentasi (\%)} &= \frac{\text{kadar xilitol}}{\text{substrat xilosa}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,489 \text{ g/L}}{4,6 \text{ g/L}} \times 100\% \\
 &= 10,63\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 4.5 Pengujian Xilosa dan Xilitol dengan HPLC

HPLC Xilosa



Name	RT	Area	Height	Conc 1 mg/L
Xilosa	8.223	116421	6245	2300.36
		116421	6245	2300.36

Peak rejection level: 0
Sample Name: U2

HPLC Xilitol

Sampel konsentrasi 0% glukosa terhadap xilosa Agitasi 150 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 06/03/2022 12:15:59 PM Reported Date and Time: 06/10/2022 01:28:51 PM



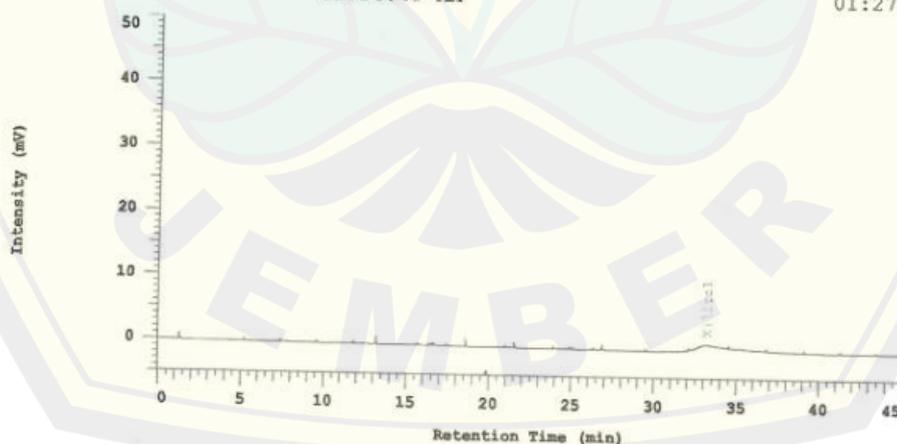
Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	32.977	772	129.773
		.772	129.773

Peak rejection level: 0
Sample Name: A1

Sampel konsentrasi 10% glukosa terhadap xilosa Agitasi 150 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 06/03/2022 09:56:49 AM Reported Date and Time: 06/10/2022 01:27:50 PM

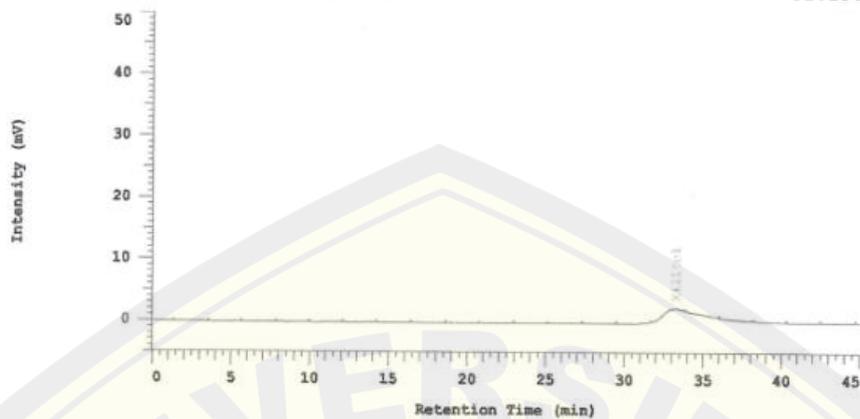


Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	33.177	6630	740.974
		6630	740.974

Sampel konsentrasi 15% glukosa terhadap xilosa Agitasi 150 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 06/03/2022 01:48:46 PM Reported Date and Time: 06/10/2022 01:29:22 PM



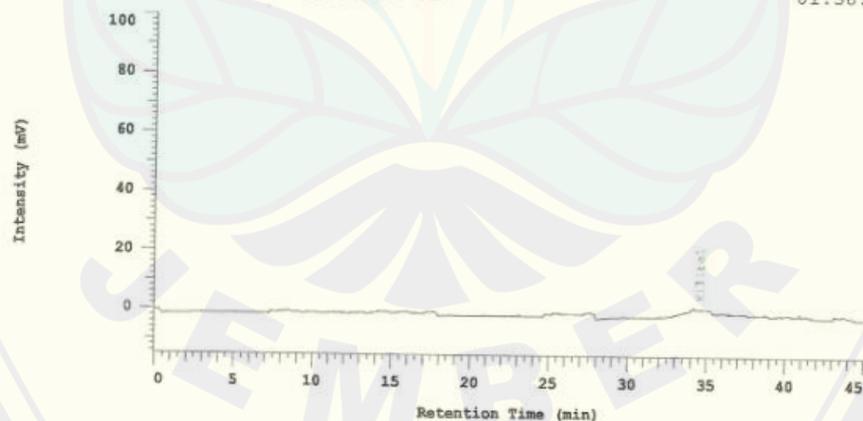
Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	33.233	14663	1762.37
		14663	1762.37

Peak rejection level: 0
Sample Name: A3

Sampel konsentrasi 20% glukosa terhadap xilosa Agitasi 150 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 05/20/2022 01:30:18 PM Reported Date and Time: 06/10/2022 01:38:45 PM



Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	34.597	25380	2068.65
		25380	2068.65

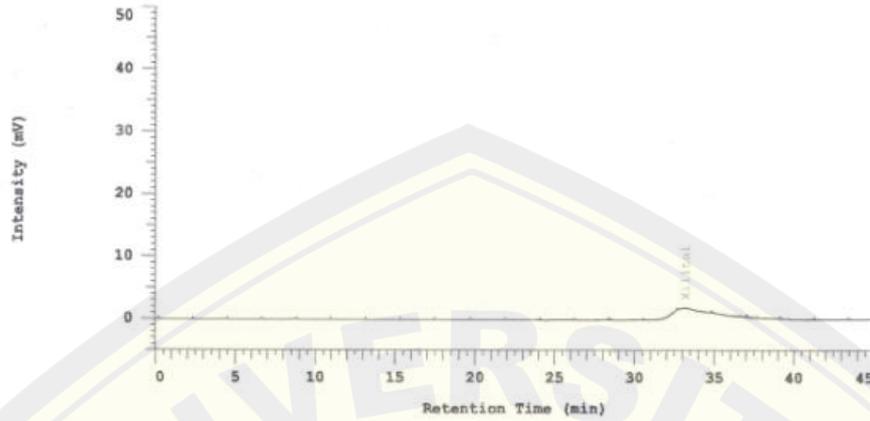
Peak rejection level: 0
Sample Name: A4

Sampel konsentrasi 0% glukosa terhadap xilosa Agitasi 200 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 06/03/2022
01:02:23 PM

Reported Date and Time: 06/10/2022
01:29:09 PM



Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	33.163	4663	489.143
		4663	489.143

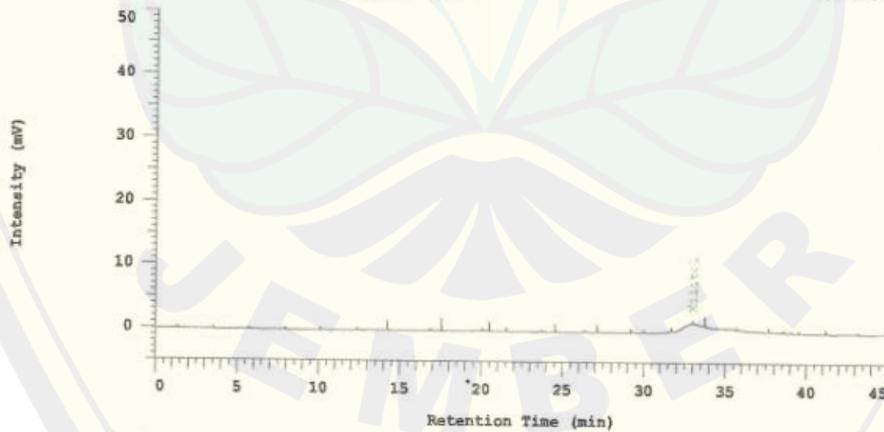
Peak rejection level: 0
Sample Name: B1

Sampel konsentrasi 10% glukosa terhadap xilosa Agitasi 200 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 06/03/2022
10:43:12 AM

Reported Date and Time: 06/10/2022
01:28:05 PM



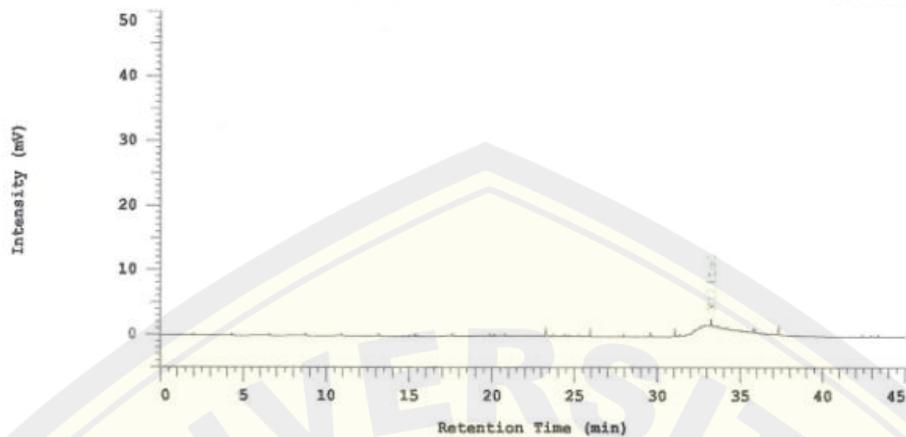
Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	32.977	10025	975.563
		10025	975.563

Peak rejection level: 0
Sample Name: r2

Sampel konsentrasi 15% glukosa terhadap xilosa Agitasi 200 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 06/03/2022 11:29:36 AM Reported Date and Time: 06/10/2022 01:28:23 PM



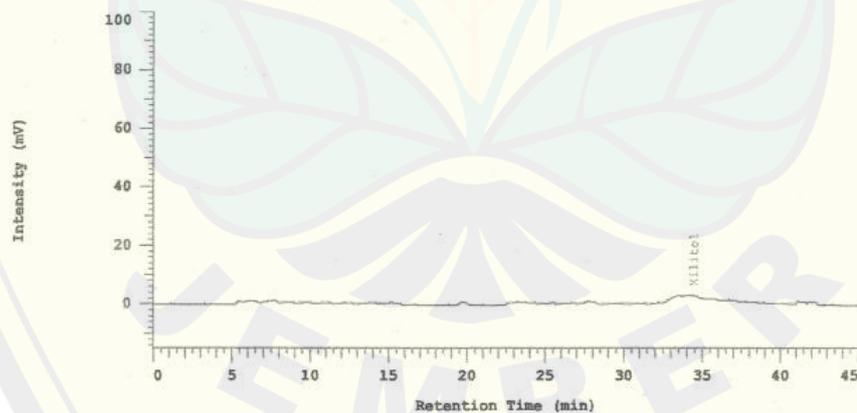
Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	33.237	15801	1912.10
		15801	1912.10

Peak rejection level: 0
Sample Name: B3

Sampel konsentrasi 20% glukosa terhadap xilosa Agitasi 200 rpm

Chromaster System Manager Report

Analyzed Date and Time: 05/20/2022 02:16:41 PM Reported Date and Time: 06/10/2022 01:39:01 PM



Name	RT	Area	Conc 1 mg/L
Xilitol	34.450	72913	2635.83
		72913	2635.83

Peak rejection level: 0
Sample Name: B4

Lampiran 4.6 Dokumentasi Penelitian



Pengayakan tepung ampas singkong



Pencampuran ampas dengan NaOH



Sentrifugasi ampas+NaOH



Pemisahan xilan dengan etanol 95%



Filtrasi xilan



Xilan kering



Pembuatan media fermentasi xilosa



Fermentasi xilosa



Pemanasan xilosa



Seri kurva standar xilosa



Uji DNS sampel xilosa fermentasi



Starter fermentasi xilitol



Sampel xilitol



Sampel xilitol



Sampel xilitol



Pengenceran sampel xilitol



Injeksi sampel xilitol hemacytometer



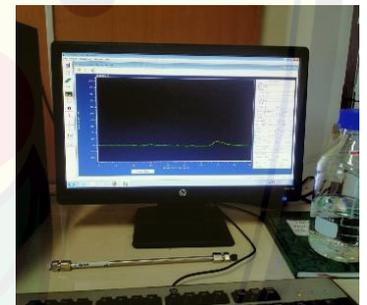
Perhitungan populasi dengan mikroskop



Ultrasonifikasi eluent HPLC



Sampel xilitol uji HPLC



Uji hplc xilitol



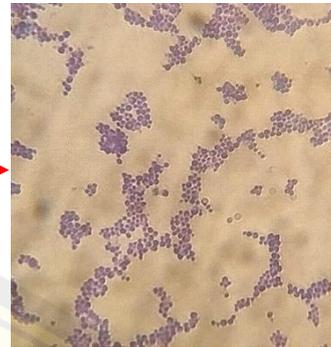
Kultur *Debaryomyces hansenii*



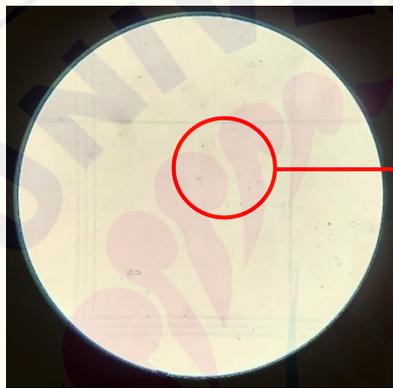
Kultur *Aspergillus niger*



Kultur *Trichoderma reesei*



Kenampakan kultur murni
Debaryomyces hansenii



Kenampakan *Debaryomyces hansenii*
1:20% pada jam ke 36 agitasi 150
rpm



Kenampakan *Debaryomyces hansenii*
1:20% pada jam ke 36 agitasi 200
rpm