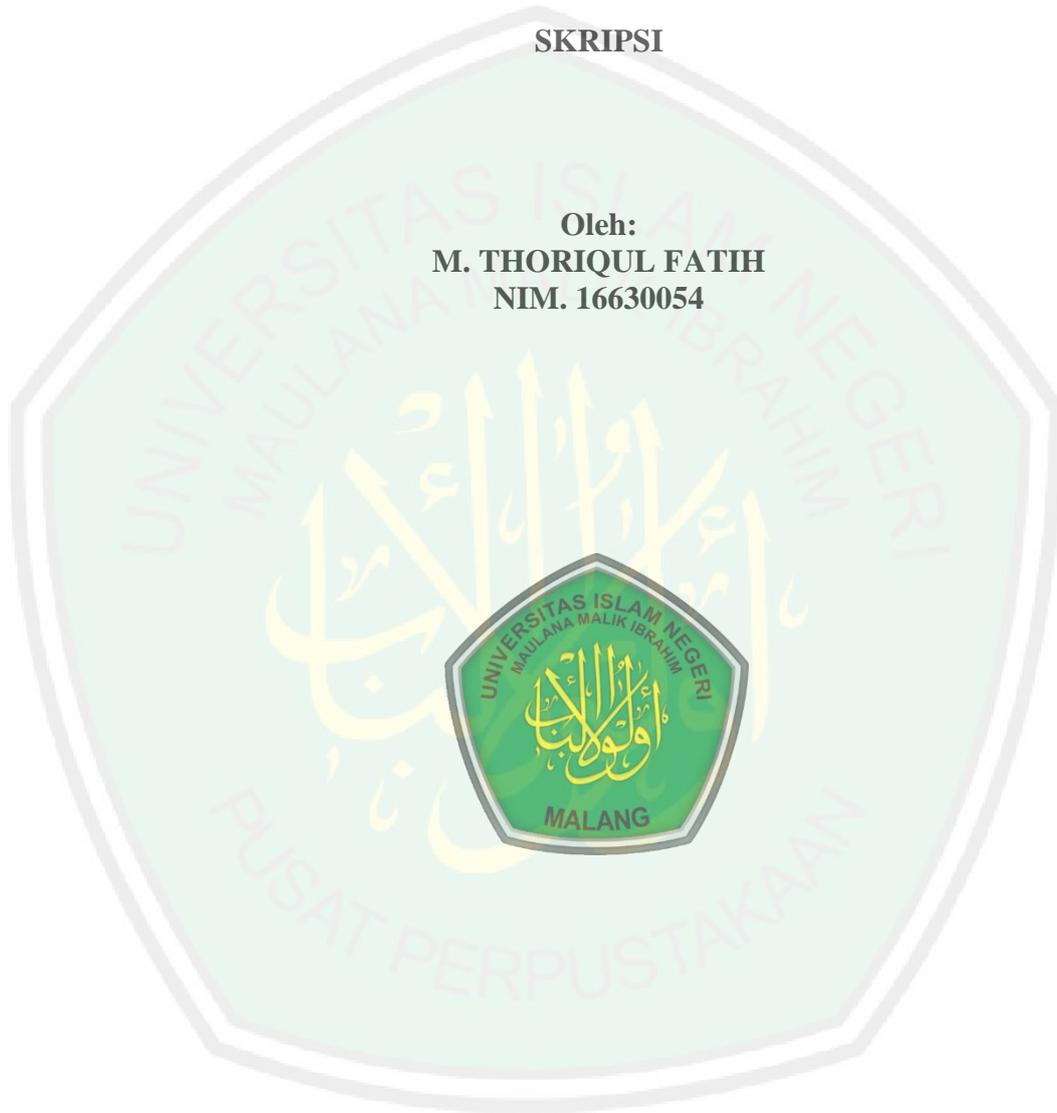


**PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH BAKTERI ASAM LAKTAT
ASAL SUSU KACANG TANAH TERFERMENTASI**

SKRIPSI

Oleh:
M. THORIQUL FATIH
NIM. 16630054



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH BAKTERI ASAM LAKTAT
ASAL SUSU KACANG TANAH TERFERMENTASI**

SKRIPSI

Oleh:
M. THORIQUL FATIH
NIM. 16630054

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH BAKTERI ASAM LAKTAT
ASAL SUSU KACANG TANAH TERFERMENTASI**

SKRIPSI

Oleh:
M. Thoriqul Fatih
NIM. 16630054

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Pada tanggal 23 Desember 2020

Pembimbing I



Anik Maunatin, S.T., M.P
NIDT. 19760105 20180201 2 248

Pembimbing II



Kivah Aha Putra, M.Pd.I
NIDT. 19900425 20180201 1 234

Mengetahui,
Ketua Jurusan



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH BAKTERI ASAM LAKTAT
ASAL SUSU KACANG TANAH TERFERMENTASI**

SKRIPSI

Oleh:
M. THORIQUL FATIH
NIM. 16630054

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 23 Desember 2020

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
Ketua Penguji	: Fadilah Nor Laili L., M.Biotech NIDT. 63033	(.....)
Sekretaris Penguji	: Anik Maunatin, S.T., M.P NIDT. 19760105 20180201 2 248	(.....)
Anggota Penguji	: Kivah Aha Putra, M.Pd.I NIDT. 19900425 20180201 1 234	(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**


Elok Kasmah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : M. Thoriqul Fatih
NIM : 16630054
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Produksi Eksopolisakarida Oleh Bakteri Asam Laktat
Asal Susu Kacang Tanah Terfermentasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan maka saya bersedia menerima konsekuensi atau perbuatan tersebut.

Malang, 23 Desember 2020
Yang membuat pernyataan



M. Thoriqul Fatih
NIM. 16630054

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Kedua orang tua yaitu Almarhum Bapak H. M. Abd. Muchid yang memberikan cerita betapa besarnya perjuangannya selama hidup untuk keluarganya dan Ibu Hj. Maria Qodarsih saya yang telah melahirkan dan membesarkan dengan makanan yang bergizi dan halal setiap harinya, yang berperan sebagai abi dan umi selama 8 tahun ini, dan yang selalu mendoakan setiap anaknya untuk mendapatkan takdir yang terbaik.

Tidak lupa untuk kedua kakak saya (Eko Cahyo Sofidina dan Binti Sehafu Fitria) yang telah menjadikan saya adik yang baik dan memberikan ponakan yang memotivasi saya menjadi Om yang dapat memberikan contoh yang baik. Terakhir untuk diri saya sendiri yang bukan siapa-siapa dan yang tidak ada dititik ini atau lahir didunia ini tanpa adanya mereka yang telah saya sebutkan diatas.

Motto

“Hidup dimulai dengan kenikmatan yang luar biasa dan setiap kelulusan adalah kehidupan baru, sehingga jadikan setiap proses dalam mencapai setiap kelulusan dengan cara halal sehingga produknya akan fitrah”

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakaatuh

Alhamdulillah, dengan mengucapkan syukur kepada Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang yang telah memberikan berokah, nikmat, serta rahmatnya sehingga penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul **“Produksi Eksopolisakarida Oleh Bakteri Asam Laktat Asal Susu Kacang Tanah Terfermentasi”** semaksimal mungkin. Tidak lupa sholawat serta salam selalu senantiasa dihaturkan kepada junjungan terbaik baginda Rosul Muhammad Shallallahu ‘Alaihu Wasasallam yang telah membawa kita dari zaman yang gelap menuju zaman yang terang. Semoga Allah melimpahkan rahmat kepada Rosulullah SAW, serta kepada keluarga, sahabat, tabi’in dan orang-orang yang selalu mengikuti sunnahnya.

Tersusunnya skripsi ini tidak terlepas dari dukungan semua pihak yang berada disekitar saya. Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati dan penuh rasa hormat penulis menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah mendukung, membantu, dan memfasilitasi penyusunan skripsi ini sehingga berjalan dengan lancar, diantaranya kepada:

1. Alm. Bapak H. M. Abdul Muchid dan Ibu Hj. Maria Qodarsih yang tercinta. Terimakasih atas segala do’a, kepercayaan, cinta kasih sayang yang tiada henti diberikan kepada penulis, dan senantiasa memberikan motivasi yang luar biasa sehingga mampu memberikan pencerahan dan penguatan yang sangat berarti bagi penulis.
2. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Anik Maunatin, S.T. M.P selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, motivasi serta arahan kepada penulis dalam penyelesaian penulisan skripsi.
6. Bapak Kivah Aha Putra. M.Pd.I selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, motivasi serta arahan kepada penulis dalam penyelesaian penulisan skripsi
7. Seluruh dosen jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
8. Seluruh mahasiswa jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang khususnya Angkatan 2016 yang telah menemani dan membantu dalam mencari motivasi, ilmu, pengalaman, wacana dan wawasan, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
9. Seluruh teman dekat saya yang telah memotivasi dan memberi dorongan dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

Penyusun menyadari banyaknya kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, penyusun dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penulisan selanjutnya. Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan penulis

berharap semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua, Aamiin.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakaatuh

Malang, 10 Desember 2020

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Eksopolisakarida	6
2.2 Bakteri Asam Laktat	9
2.3 Kacang tanah.....	11
2.4 Produksi Eksopolisakarida.....	13
2.4.1 Media Produksi Eksopolisakarida	14
2.4.2 Konsentrasi Substrat	15
2.4.3 Penambahan Sukrosa	15
2.4.4 Konsentrasi Inokulum.....	15
2.4.5 pH Media	16
2.4.6 Suhu	16
2.5 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat-Fenol	16
2.6 Biosintesis Eksopolisakarida	17
2.7 UV-Vis	20
2.8 Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	22
2.8.1 Prinsip Kerja FTIR.....	22
2.8.2 Penggunaan FTIR untuk Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida	24
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	26
3.2.1 Alat.....	26
3.2.2 Bahan	26
3.3 Rancangan Penelitian.....	26

3.4	Tahapan Penelitian.....	27
3.5	Cara Kerja	27
3.5.1	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	27
3.5.2	Pembuatan Media	28
3.5.3	Peremajaan Bakteri	29
3.5.4	Skrining Bakteri Penghasil Eksopolisakarida.....	29
3.5.5	Pembuatan Inokulum	30
3.5.6	Produksi Eksopolisakarida.....	30
3.5.7	Ekstraksi Eksopolisakarida	30
3.5.8	Pengukuran Viabilitas Bakteri Asam Laktat Menggunakan Metode <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	31
3.5.9	Uji Kadar Total Gula Metode Asam Sulfat-Fenol.....	31
3.5.10	Identifikasi Gugus Fungsi pada Eksopolisakarida menggunakan FTIR	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Pembuatan Media.....	33
4.2	Peremajaan Bakteri	34
4.3	Skrining Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Secara Kualitatif	35
4.4	Pembuatan Inokulum	37
4.5	Produksi Eksopolisakarida.....	39
4.6	Analisis Kadar Gula Total EPS.....	42
4.7	Viabilitas Bakteri Asam Laktat Setelah Fermentasi Eksopolisakarida... 43	
4.8	Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida menggunakan Spektrofotometer FTIR.....	45
4.9	Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Memproduksi Eksopolisakarida dalam Perspektif Islam.....	46
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	52
5.2	Saran	52
DAFTAR PUSTAKA		53
LAMPIRAN.....		62

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Skrining BAL penghasil EPS.....	35
Tabel 4.2 Rendemen Rata-rata Eksopolisakarida	40
Tabel 4.3 Kadar Gula Total Rata-rata Eksopolisakarida	43
Tabel 4.4 Total Sel Bakteri	44
Tabel 4.5 Gugus Fungsi dari Spektra FTIR isolat C.....	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kacang Tanah.....	12
Gambar 2.2 Reaksi dehidrasi karbohidrat.....	17
Gambar 2.3 Skematis Jalur Pembentukan Heteropolisakarida	19
Gambar 2.4 Spektrofotometer UV-Vis	21
Gambar 2.5 Spektroskopi FTIR Varian 1000 FT.....	23
Gambar 2.6 Spektrum FTIR Eksopolisakarida dari <i>Weissella cibaria</i> GA44.....	25
Gambar 4.1 Media MRS agar	33
Gambar 4.2 Hasil Skrining BAL.....	36
Gambar 4.3 Inokulum Bakteri.....	37
Gambar 4.4 Inokulum Kerja	38
Gambar 4.5 Pengendapan Protein dan Sel Bakteri	39
Gambar 4.6 Eksopolisakarida	42
Gambar 4.7 Spektra FTIR EPS isolat C.....	45



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	62
Lampiran 2. Diagram Alir.....	63
Lampiran 3. Pembuatan Larutan	71
Lampiran 4. Penghitungan Jumlah Bakteri Menggunakan Metode <i>Total Place Count</i> (TPC)	77
Lampiran 5. Dokumentasi.....	79



ABSTRAK

Fatih, M. Thoriqul. 2020. **Produksi Eksopolisakarida Oleh Bakteri Asam Laktat Asal Susu Kacang Tanah Terfermentasi**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Anik Maunatin, S.T., M.P ; Pembimbing II: Kivah Aha Putra, M.Pd.I

Kata kunci: *eksopolisakarida, bakteri asam laktat, sulfat-fenol, FTIR.*

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polisakarida yang didapatkan dari hasil ekskresi mikroba. EPS diproduksi oleh bakteri asam laktat (BAL) pada keadaan yang kurang menguntungkan yang disebut dengan metabolit sekunder. EPS banyak dimanfaatkan dibidang kesehatan dan pangan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis BAL asal susu kacang tanah terhadap hasil produksi EPS dan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada EPS.

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratorik. Jenis isolat yang digunakan pada penelitian ini terdapat 4 jenis isolat. Hasil EPS yang didapatkan dianalisa kadar gula menggunakan metode sulfat-fenol. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. EPS terpilih diidentifikasi gugus fungsi menggunakan FTIR.

Hasil penelitian ini didapatkan EPS dengan rendemen rata-rata tertinggi oleh isolat C sebesar 11303,33 mg/L dengan kadar gula sebesar 81,23%, sedangkan hasil rendemen rata-rata terendah dihasilkan oleh isolat B sebesar 9550,00 mg/L dengan kadar gula sebesar 93,26%. Hasil FTIR pada EPS yang dihasilkan oleh isolat C menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, -C-H/-C-H₂, dan C-O-C secara berurutan pada bilangan gelombang $3444,987\text{ cm}^{-1}$, $1670,995\text{ cm}^{-1}$, $1341,291\text{ cm}^{-1}$, dan $1013,25\text{ cm}^{-1}$.

ABSTRACT

Fatih, M. Thoriqul. 2020. **Production of Exopolysaccharides by Lactic Acid Bacteria from Fermented Peanut Milk.** Thesis. Chemistry Department, Faculty Sains and Technology. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Anik Maunatin, S.T., M.P ; Supervisor II: Kivah Aha Putra, M.Pd.I

Keywords: exopolysaccharides, lactic acid bacteria, phenol-sulfate, FTIR.

Exopolysaccharide (EPS) is a polysaccharide obtained from microbial excretion. EPS is produced by lactic acid bacteria (LAB) in unfavorable conditions called secondary metabolites. EPS is widely used in the health and food sector. The purpose of this study was to determine the effect of lactic acid bacteria from peanut milk on exopolysaccharide production and to determine the functional groups found in exopolysaccharides.

This research is a laboratory exploratory study. The types of isolates used in this study were 4 types of isolates. The EPS results obtained will be analyzed for sugar content using the phenol-sulfate method. Each treatment is repeated three times. The EPS results were identified for functional groups using FTIR.

The results of this study showed that the exopolysaccharide with the highest average yield was isolate C of 11303,33 mg / L with a sugar content of 81,23%, while the lowest average yield was isolate B of 9550,00 mg / L sugar amounted to 93,26%. FTIR results on EPS produced by isolate C showed a functional group OH, C = O, -CH / -C-H₂, and COC respectively at wave numbers 3444,987 cm⁻¹, 1670,995 cm⁻¹, 1341,291 cm⁻¹, and 1013,25 cm⁻¹.

مستخلص البحث

الفاتح، محمد طارق. 2020. إنتاج عديدات السكاريد الخارجية عن البكتيريا الحمض اللاكتيك من الحليب الفستق الإختمار. البحث العلمي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة 1: أنيق مونة الماجستير، المشرف 2: كفاف أحا فوترا الماجستير.

الكلمات المفتاح : عديدات السكاريد الخارجية، البكتيريا الحمض اللاكتيك، كبريتات الفينول، (FTIR).
 عديدات السكاريد الخارجية (EPS) هي السكريات التي تنال من حصيلة الإفراز الميكروبات. (EPS)، ينتج البكتيريا الحمض اللاكتيك (BAL) للحال خلو من المربح الذي يسمى بالمستقلبات الثانوية. ينتفع (EPS) كثيرا للصحة والأطعمة. الهدف من هذا البحث هو لمعرفة أثر جنس البكتيريا الحمض اللاكتيك من الحليب الفستق لخصيلة إنتاج عديدات السكاريد الخارجية ولتحديد المجموعات الوظيفية الموجودة في عديد السكاريد الخارجي.

هذا البحث هو البحث الإستطلاع المختبر. أجناس العزل التي تستخدم في هذا البحث هي 4 أجناس العزل. حصيلة (EPS) التي تنال، تحلل قدر سكرها يستخدم طريقة كبريتات الفينول. تفعل كل الأعمال تكريرا 3 مرات. تتعرف حصيلة (EPS) عن المجموعات الوظيفية تستخدم (FTIR).

تنال هذه حصيلة البحث، عديدات السكاريد الخارجية بالإستسلام متوسط الأعلى عن العزل ج 11303،33 ملي غرام/ ليتر بقدر السكر 81,23%، أما حصيلة الإستسلام متوسط الأدنى تحصل العزل ب 9550،00 ملي غرام/ ليتر بقدر السكر 93,26%. وجود مجموعة وظيفية (C) المنتجة بواسطة العزلة (EPS) على (FTIR) أظهرت نتائج (O-H, C=O, C-O-C) و ترتيبا في العدد النوى 3444،987 سنطي متر⁽⁻¹⁾، 1670،995 سنطي متر⁽⁻¹⁾، 1341،291 سنطي متر⁽⁻¹⁾، و 1013،25 سنطي متر⁽⁻¹⁾.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polisakarida yang didapatkan dari hasil ekskresi mikroba (Malik *et al.*, 2010). EPS adalah penamaan secara umum untuk berbagai bentuk polisakarida yang dihasilkan oleh mikroba yang ditemukan di luar dinding sel jamur atau bakteri (Malaka, 2010). Penggunaan EPS yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) terus berkembang seiring perkembangan teknologi karena aman untuk dikonsumsi oleh manusia serta memiliki banyak manfaat penting bagi kesehatan. EPS yang diproduksi oleh BAL dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen yang terdapat pada mukosa usus halus dalam saluran pencernaan manusia (Ruas-Madiedo and Reyes-Gavilán, 2005). Beberapa jenis EPS yang telah digunakan diantaranya adalah *glucan*, *mannan*, *xanthan*, *curdlan*, *gellan*, *dextran* (Malik *et al.*, 2010) *kefiran*, dan *alginat* (Raymond, 2009).

Penelitian yang telah dilakukan terhadap EPS menunjukkan hasil bahwa EPS memiliki kemampuan yang dapat diterapkan pada bidang farmasi, kesehatan, kosmetik serta pangan. EPS yang dimanfaatkan dalam bidang kesehatan diantaranya adalah β -*glucan*, β -*mannan*, *xanthan*, *curdlan*, *gellan* dan *dextran* (Malik *et al.*, 2010). Sebelumnya EPS ditambahkan ke dalam makanan hanya untuk agen pengental dan stabilisator tanpa mengetahui pengaruh terhadap proses pencernaan, metabolisme, dan kesehatan dalam tubuh setelah mengkonsumsinya (Farnworth, 2007). EPS dalam bidang pangan dapat digunakan sebagai stabilisator, pengental, emulgator, pembentuk gel, dan memiliki kemampuan mengikat air yang baik (Malik *et al.*, 2010). Manfaat yang diberikan oleh EPS pada kesehatan tubuh

setelah mengkonsumsinya adalah meningkatkan imunitas. Selain itu, EPS juga memiliki manfaat pada proses pencernaan kolesterol dengan cara melapisi lapisan dari mukosa usus sehingga mampu menghalangi terserapnya kolesterol pada tubuh (Farnworth, 2007).

BAL merupakan merupakan bakteri yang dapat menghasilkan asam laktat, selain itu dalam proses fermentasi BAL dapat menghasilkan senyawa antibakteri diantaranya adalah asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Widodo, *et al.*, 2017). Sedangkan EPS dapat diproduksi oleh BAL disebabkan keadaan yang kurang menguntungkan atau produk yang dihasilkan merupakan metabolit sekunder. Menurut Amalia (2012) bahwa produksi EPS tersebut dilakukan sebagai bentuk perlindungan atau cara bertahan hidup BAL dari sel lain serta bakteriofag. Kapsul atau lendir EPS dapat dikeluarkan secara fisik ataupun enzimatik tanpa mempengaruhi pertumbuhan bakteri, sehingga tidak menyebabkan sel mikroba mati (Malaka, 2010). Sumber karbon yang spesifik memberikan hasil yang berbeda-beda pada setiap spesies. Sukrosa merupakan sumber karbon yang terbaik untuk fermentasi berbagai jenis *Lactobacilli* (Tallun *et al.*, 2003).

Produksi EPS yang telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah suhu, konsentrasi penambahan sukrosa, konsentrasi substrat, konsentrasi inokulum lama fermentasi (Azizah, 2019) dan jenis bakteri (Nurhasanah *et al.*, 2020). Perbedaan jenis bakteri dapat mempengaruhi hasil produksi EPS karena proses setiap bakteri memiliki kemampuan metabolisme yang berbeda, sehingga jumlah metabolit yang diproduksi berbeda (Zahro, 2014). Beberapa penelitian melakukan produksi EPS diproduksi pada media spesifik *de Man Rogosa and Sharpe broth* (MRS broth)

dengan penambahan sukrosa. Penelitian pada *L. rhamnosus* LOCK 0943 dengan penambahan sukrosa 10% didapatkan rendemen sebesar 0,802 g/L (Oleksy-Sobczak dan Klewicka, 2019), *Leuconostoc mesenteroides* N7 yang diisolasi dari nira siwalan dengan penambahan sukrosa 10% didapatkan rendemen sebesar 10,999 g/L (Ma'unatin *et al.*,2020), *Weisella confusa* XG-3 dengan penambahan sukrosa 8% didapatkan rendemen sebesar 97,5 g/L (Zhao *et al.*,2020), dan *Weisella confusa* VP30 yang diisolasi dari feses anak kecil dengan penambahan sukrosa 10% didapatkan rendemen sebesar 59,99 g/L (Jin *et al.*,2019).

Allah SWT menciptakan semua alam dan seisinya sebagai rahmat bagi seluruh umat. Sebagaimana yang sudah dijelaskan dalam Al-Qur'an bahwa seluruh kekayaan alam berhak untuk dipelihara dan dimanfaatkan guna meningkatkan kesejahteraan, serta sebagai wujud rasa syukur kepada Allah SWT atas nikmat yang telah diberikan. Untuk memahami keagungan dan kekuasaan Allah atas yang Ia ciptakan di langit dan bumi yang tiada sia-sia seperti yang disebutkan dalam Al-Qur'an surat Shad (38) ayat 27:

Allah SWT berfirman dalam Q.S Shad ayat 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ۚ ذَلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

Artinya:

“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.” (Q.S Shad (38):27).

Allah SWT menceritakan kepada hambanya bahwa semua ciptaan yang dihadirkan baik di bumi dan langit selalu dengan manfaat agar mereka senantiasa

menyembah dan mengesakan-Nya. Allah SWT menciptakan langit, bumi, dan seisinya berupa berbagai makhluk yang menakjubkan, beraneka ragam, dan penuh ketelitian. Manusia selalu dapat mengambil manfaat atas setiap ciptaan-Nya dengan mempelajarinya berdasarkan keimanan dan celakalah bagi manusia yang menganggap bahwa hal-hal yang diciptakan-Nya tanpa tujuan. Agar manusia dapat lebih memahami keagungan-Nya dan beriman kepada-Nya atas semua ciptaan-Nya, Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-Imran (3) ayat 191:

Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Imran ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَفُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ
هٰذَا بَطْلًا سُبْحٰنَكَ فَعِنَّا عَذَابُ النَّارِ

Artinya:

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.” (Q.S Al-Imron (3):191).

Semua makhluk dan segala hal yang diciptakan-Nya ditujukan agar manusia selalu dapat meningkatkan taqwa kepada Allah SWT, sehingga segala ciptaan-Nya akan membawa kemashlahatan untuk makhluk-makhluk-Nya, dan sebagai sarana beribadah kepada Allah SWT, sekaligus membuktikan tentang keesaan-Nya. Dengan merenungi segala manfaat atas ciptaan-Nya akan membawa manusia untuk lebih yakin bahwa Allah lah satu-satunya dzat yang menciptakan semua itu. Salah satu ciptaan-Nya yang memiliki berbagai manfaat bagi manusia adalah BAL. BAL merupakan salah satu mikroba yang dapat menghasilkan EPS yang memiliki banyak manfaat bagi manusia diberbagai bidang. Hal tersebut menunjukkan

kekuasaan Allah yang Maha Agung dalam segala yang dikehendaki-Nya bagi orang-orang yang berakal, serta memahami firman-Nya.

Berbagai penelitian tentang produksi EPS yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa jenis BAL yang digunakan mempengaruhi hasil produksi EPS. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui BAL penghasil EPS asal susu kacang tanah terfermentasi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh jenis BAL asal susu kacang tanah terhadap hasil produksi EPS?
2. Apakah jenis gugus fungsi yang terdapat pada EPS terpilih?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh jenis BAL asal susu kacang tanah terhadap hasil produksi EPS.
2. Untuk mengetahui jenis gugus fungsi yang terdapat pada EPS terpilih.

1.4 Batasan Masalah

1. BAL yang digunakan merupakan hasil isolasi dari penelitian sebelumnya.
2. Jumlah jenis isolat BAL yang digunakan sebanyak 4 jenis yaitu B, C, K, dan L.

1.5 Manfaat penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan terhadap aktivis akademika tentang bagaimana pengaruh jenis BAL asal susu kacang tanah terfermentasi dalam menghasilkan EPS.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eksopolisakarida

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polisakarida yang didapatkan dari hasil ekskresi mikroba (Malik *et al.*, 2010). EPS merupakan produk metabolit sekunder yang dikeluarkan saat lingkungan pertumbuhannya kurang menguntungkan (Mesomo *et al.*, 2009). Strain bakteri yang bersifat non-mukoid yaitu yang tidak mampu membentuk EPS secara spontan dapat menjadi bersifat mukoid dalam kondisi tertentu. Kapsul atau lendir EPS ini dapat dikeluarkan secara fisik ataupun enzimatik tanpa mempengaruhi pertumbuhan bakteri, sehingga tidak menyebabkan sel mikroba mati. Eksopolisakarida biasa dihasilkan oleh mikroba ke luar sel biasa ditemukan pada bagian luar dari struktur bakteri. EPS terhubung dengan sel dalam bentuk kapsul atau lendir yang terdapat pada permukaan sel. EPS memiliki varietas yang luas serta struktur kimia yang kompleks, dan mempunyai sifat antimikrobia. EPS mencakup beberapa klasifikasi polisakarida diantaranya menyerupai bentuk polisakarida tanaman seperti amilosa, amilopektin, selulosa dan algin. Polisakarida lainnya yang dihasilkan oleh hewan adalah glikogen dan asam hialuronat. Sebagian besar polisakarida bakteri bersifat unik. Berat molekul EPS adalah sekitar 10^6 Da yang merupakan polimerisasi beberapa ratus sampai beberapa ribu tetra-heptasakarida (Malaka, 2010). EPS umumnya tersusun atas monosakarida dan beberapa substituen non-karbohidrat diantaranya seperti asetat, piruvat, suksinat, fosfat dan biomolekul seperti protein, asam nukleat, lipid dan zat humat (Surono, 2004).

Sutherland (1977) membagi EPS menjadi dua kelompok besar berdasarkan komposisi kimianya dan mekanisme sintesisnya yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Homopolisakarida adalah polimer yang terdiri dari satu macam monosakarida misalnya glukosa atau fruktosa saja. Tipe polimer EPS ini dapat mempunyai rantai lurus atau cabang. Contoh EPS homopolisakarida adalah *dextran*, *levans*, *curdlan*, dan *pullulans*. Heteropolisakarida adalah polisakarida yang biasanya mengandung 2-4 macam monosakarida seperti glukosa, galaktosa, mannososa, fruktosa dan rhamnosa. Sintesis heteropolisakarida berbeda dengan homopolisakarida, yaitu polimer ini diproduksi pada membran sitoplasma dengan memanfaatkan prekursor yang dibentuk dalam sel. Gula nukleotida berperan penting dalam sintesis heteropolisakarida yang kemudian dikonversi sebagaimana halnya dalam polimerisasi monosakarida. EPS bakteri asam laktat (BAL) merupakan heteropolisakarida dengan rantai lurus dan bercabang yang merupakan unit berulang dari tetra-heptasakarida (Malaka, 2010).

EPS yang dihasilkan sebagian besar mikroba tergolong heteropolisakarida. Heteropolisakarida sendiri memiliki sifat yang berbeda, sifat dari heteropolisakarida tergantung dari monosakarida penyusun dan ikatan antar monosakarida tersebut. Heteropolisakarida disintesa dengan prekursor polimerisasi yang dibentuk dalam sel sitoplasma. Untuk mengetahui golongan EPS biasanya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komponen gula penyusun EPS tersebut (Nudyanto dan Zubaidah, 2015).

Perbedaan produksi jumlah EPS secara umum dipengaruhi oleh sifat genetik dan fenotif. Sifat genetik merupakan sifat turunan bawaan dari masing-masing spesies yang dipengaruhi oleh susunan gen, sedangkan sifat fenotif cenderung

dipengaruhi oleh faktor lingkungan. EPS yang diproduksi oleh BAL dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kondisi fermentasi, efek media pertumbuhan (suplementasi mineral), interaksi antar strain (*co-culture fermentation*), dan teknologi fermentasi (*fed-batch fermentation*). Regulasi pertumbuhan sel pada pH konstan menghasilkan rendemen EPS yang lebih baik. Proses asidifikasi terjadi karena produksi laktat mengakibatkan enzim *glycohydrolase* menjadi aktif (kisaran pH 5). Hal ini mengakibatkan rendemen EPS menurun karena proses enzimatik. Sumber karbon yang spesifik memberikan hasil yang berbeda-beda pada setiap spesies. Sukrosa merupakan sumber karbon yang terbaik untuk fermentasi berbagai jenis *Lactobacilli*. Jumlah EPS yang dihasilkan tergantung dari sumber karbon dan nitrogen, serta kondisi fisiko-kimia pertumbuhan bakteri seperti suhu, pH, tingkat keberadaan oksigen, dan lain-lain (Halim dan Zubaidah, 2013). Suhu juga merupakan faktor utama dalam produksi EPS, dan suhu yang terbaik bagi *Lactobacillus casei* adalah 30°C (Nudyanto dan Zubaidah, 2015).

EPS memiliki banyak manfaat yang dapat diaplikasikan pada berbagai bidang terutama dibidang pangan dan kesehatan atau obat-obatan. EPS digunakan pada bidang industri karena memiliki sifat fisiko-kimia yang serupa dengan polisakarida dari tanaman dan rumput laut. EPS pada bidang pangan digunakan untuk memberi rasa, tekstur, dan persepsi rasa dari hasil fermentasi (Zubaidah *et al.*, 2008). EPS pada bidang kesehatan memiliki manfaat sebagai *immunostimulatory*, *antitumor*, *microfage activation* dan *lymphocytes* sebagai ketahanan tubuh (Tallon *et al.*, 2006). EPS dapat digunakan sebagai bahan pengantar obat (*drug delivery system*) yang penting dalam pembuatan insulin oral (Sabetsky, 2004).

2.2 Bakteri Asam Laktat

BAL adalah bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi kesehatan (Nurhasanah *et al.*, 2020). BAL merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora, hampir semua strain tidak menghasilkan enzim katalase, tahan terhadap kondisi asam, dan bersifat fakultatif anaerob. BAL termasuk dalam kelompok bakteri yang memenuhi standar GRAS (*Generally Recognized as Safe*), yaitu bakteri baik yang aman bagi manusia (Nasution, 2012). Sebagian besar dari BAL merupakan bakteri nonpatogen, kecuali beberapa spesies tertentu. BAL merupakan bakteri mesofilik dengan beberapa jenis strain memiliki sifat termofilik yang mampu tumbuh pada rentang suhu 5-45°C serta mampu tumbuh pada pH 3,8. Selain itu BAL memiliki sifat proteolitik dengan kebutuhan asam amino yang spesifik (Widodo *et al.*, 2017). Mekanisme kerja BAL tidak merusak protein, melainkan bekerja dengan cara memetabolisme berbagai jenis karbohidrat secara fermentatif menjadi asam-asam organik (Nasution, 2012).

BAL diklasifikasikan berdasarkan produk akhir metabolisme menjadi dua, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. BAL golongan heterofermentatif tidak hanya menghasilkan asam laktat akan tetapi juga menghasilkan asam asetat, etanol, karbondioksida, dan lainnya, sedangkan homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat. Genus BAL yang bersifat homofermentatif diantaranya adalah *Pediococcus*, *Streptococcus*, beberapa strain pada genus *Lactococcus* dan *Lactobacillus*. Sedangkan genus BAL yang bersifat heterofermentatif diantaranya adalah *Weisella*, *Leuconostoc*, dan beberapa strain dari genus *Lactobacillus* (Widodo *et al.*, 2017).

BAL banyak dimanfaatkan untuk kultur starter dalam industri bidang pangan, terutama dalam proses fermentasi. BAL memiliki kemampuan untuk memproduksi asam laktat dari berbagai sumber karbon sehingga dapat mempercepat pengasaman dalam makanan yang dapat memperpanjang daya simpan atau sebagai metode pengawetan. Selain menghasilkan asam laktat, BAL yang digunakan pada produk fermentasi dapat menghasilkan senyawa antibakteri diantaranya adalah asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Widodo *et al.*, 2017). Peranan BAL pada bidang pangan adalah memperbaiki cita rasa dan pengawetan produk dari hasil fermentasi (Fitria, 2017).

Al-Qur'an menjelaskan bahwa bakteri sebagai organisme uniseluler merupakan bukti adanya materi fungsional di bawah sel yang dapat ditemukan dalam istilah zarah. Istilah zarah merupakan sebagai wujud zat atau substansi materi yang memiliki ukuran paling kecil yang dapat digunakan sebagai petunjuk untuk mempelajari bakteri dan materi mikroskopik lainnya. Dengan kemajuan teknologi dan perkembangan keilmuan konsep sel sebagai materi fungsional terkecil ternyata dapat dipatahkan (Subandi, 2010).

Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Baqarah: 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا

Artinya:

Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu..... (QS. Al-Baqarah: 26).

Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa lafadz *فَمَا فَوْقَهَا* “atau yang lebih dari itu” pada ayat tersebut menjelaskan sesuatu yang memiliki fisik atau makna

lebih kecil dibandingkan dengan nyamuk. Adapun makhluk yang lebih kecil dari nyamuk salah satunya yaitu bakteri. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat, di perairan, di udara dan diberbagai tempat ekstrem. Allah menjelaskan tentang berbagai macam makhluk-Nya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Dengan hal tersebut akan terasa pada manusia dan seluruh makhluk-Nya tentang kekuasaan sang Maha Pencipta.

EPS merupakan salah satu produk yang dihasilkan oleh BAL dengan cara dikultivasi pada suhu antara 30-37°C pada media *de Man, Rogosa, and Sharpe* (MRS), susu atau senyawa derivatifnya (Badel *et al.*, 2011). Senyawa derivatif MRS (berbasis glukosa) dan susu (berbasis laktosa) merupakan media utama yang disarankan dalam memproduksi EPS pada beberapa jenis BAL (Cernin *et al.*, 1992), contohnya *Lactobacillus plantarum* (Wang *et al.*, 2014), *Lactobacillus rhamonus* (Polak-Berecka *et al.*, 2013), *Nostoc carneum* (Hussein *et al.*, 2015), *Micrococcus luteus* (Asker *et al.*, 2014), *Pleurotus eryngii* (Sun *et al.*, 2013), dan *Weisella confusa* (Jin *et al.*, 2019).

2.3 Kacang tanah

Kacang tanah merupakan sejenis tanaman tropika. Tumbuh secara perdu setinggi 30 hingga 50 cm (1 hingga 1,5 kaki) dan mengeluarkan daun-daun kecil. Daun kacang tanah berbentuk majemuk bersirip genap, terdiri atas empat anak daun dengan tangkai daun agak panjang. Setiap bunga bertangkai panjang berwarna putih. Mahkota bunganya (*corolla*) berwarna kuning. Buah kacang tanah berbuah polong. Polongnya terbentuk setelah terjadi pembuahan, bakal buah tumbuh memanjang. Inilah yang disebut ginofora yang nantinya akan menjadi tangkai polong. Warna biji kacang tanah bermacam-macam ada yang putih, merah, ungu

dan kesumba. Kacang tanah berakar tunggang dengan akar cabang yang tumbuh tegak lurus pada akar tunggang tersebut. Akar cabang ini mempunyai akar-akar yang bersifat sementara dan berfungsi sebagai alat penyerap makanan. Klasifikasi dari kacang tanah yaitu (Mutia dan Saleh, 2016):



Gambar 2.1 Kacang Tanah

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Sub-divisi : *Angiosperma*
Class : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Rosales*
Famili : *Papilionaceae*
Genus : *Arachis*
Species : *Arachis hypogaea*

Kacang tanah mempunyai senyawa-senyawa tertentu yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia. Susu kacang memiliki manfaat gizi karena

mengandung protein yang tinggi, mineral dan asam lemak esensial seperti asam linoleat dan asam oleat yang dianggap sangat penting dalam nutrisi manusia. Umumnya kacang tanah mengandung 20,0 – 30,0% protein, kandungan lemak antara 40,0 – 50,0%. Kacang tanah juga merupakan sumber serat dan mineral yang baik, kandungan mineral antara 2,0 – 5,0% bervariasi menurut tipe dan varietas kacang tanah. Kacang tanah kaya akan asam lemak tidak jenuh yang dapat menurunkan kolesterol darah (Stella, 2019). Manfaat kacang tanah bagi tubuh yaitu sebagai lemak baik yang menurunkan resiko penyakit jantung dengan cara menurunkan kolesterol jahat dalam tubuh. Kandungan resveratrol bermanfaat bagi kelancaran fungsi tubuh. Kandungan folat niasin, mangan, protein, serta vitamin E yang melimpah membuat kacang tanah sangat baik untuk kelancaran fungsi usus. Kandungan serat dapat membantu menurunkan resiko kanker usus besar dan pembentukan batu empedu. Kandungan limpaan kalsium dan vitamin D dapat membantu menjaga kesehatan tulang dan gigi. dan dalam jangka panjang mencegah serangan osteoporosis (Sondakh *et al.*, 2012).

2.4 Produksi Eksopolisakarida

Fermentasi adalah proses redoks anaerobik, di mana terjadi oksidasi substrat digabungkan dengan pengurangan yang lain substrat atau zat antara yang berasal dari oksidasi, dengan perbedaan potensial redoks substrat dan produk akhir yang menyediakan energi untuk sintesis ATP. Kebanyakan fermentasi, substrat yang sama digunakan sebagai reduktor dan oksidan. Polimer seperti polisakarida, protein, DNA dan lipid diserang oleh enzim ekstraseluler dan rusak menjadi unit yang lebih kecil yang diambil oleh degrader awal atau fermentor lainnya (Muller, 2001). Karbohidrat seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa merupakan bahan dasar

yang digunakan dalam fermentasi untuk menghasilkan etanol, asam laktat, asam butirat, aseton dan hidrogen. Proses fermentasi dapat menyebabkan penurunan pH (Sari *et al.*, 2013). Pemanfaatan fermentasi telah lama digunakan sejak nenek moyang kita yang dilakukan secara tradisional dengan proses yang relatif murah dan mudah menghasilkan produk-produk seperti tape, tempe, oncom dan lainnya (Nurhayani, 2000).

BAL merupakan bakteri yang terklasifikasikan dalam bakteri heterofermentatif. BAL dalam proses fermentasi dapat menghasilkan asam laktat, asam asetat, etanol, mannitol, dekstran, ester, dan CO₂. Produk fermentasi BAL dapat meningkatkan kestabilan dalam rasa dan memiliki aroma yang khas (Carl, 1971). EPS diproduksi oleh BAL dalam kondisi yang kurang menguntungkan. Berbagai hal yang dapat mempengaruhi produksi EPS diantaranya adalah media, konsentrasi substrat, penambahan sukrosa, konsentrasi inokulum, pH, dan suhu.

2.4.1 Media Produksi Eksopolisakarida

Media yang dapat digunakan untuk mengoptimalkan proses fermentasi BAL dalam memproduksi EPS sangat beragam, karena EPS memiliki rantai utama berupa glukosa. Berbagai karbohidrat dapat ditambahkan pada media biakan. Menurut Malaka (2010) BAL dapat memproduksi EPS pada media whey untuk starter bakteri *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* dan media susu skim rekonstitusi 10% untuk starter bakteri yang sama. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Azizah (2019) pada fermentasi *Leuconostoc mesenteroides* dalam memproduksi EPS menggunakan air kelapa dengan penambahan sukrosa untuk memperkaya nutrisi didapatkan rendemen terbaik sebesar 3569,33 mg/L. Menurut Badel *et al.*, (2011) media MRS dengan penambahan karbohidrat seperti glukosa,

sukrosa, laktosa dan lainnya adalah media yang paling umum digunakan untuk memproduksi EPS.

2.4.2 Konsentrasi Substrat

Kecepatan suatu reaksi enzimatik pada umumnya dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi akan semakin meningkat dengan penambahan konsentrasi substrat yang semakin besar. Peningkatan kecepatan reaksi akan semakin kecil ketika akan mencapai titik kecepatan reaksi maksimum sehingga penambahan konsentrasi substrat tidak berpengaruh lagi (Lehninger, 1997). Kecepatan reaksi maksimum terjadi karena seluruh enzim telah membentuk ikatan kompleks dengan substrat (Trenggono dan Sutardi, 1990).

2.4.3 Penambahan Sukrosa

Karbohidrat merupakan faktor penting dalam proses pembentuk EPS. Salah satu jenis karbohidrat diantaranya adalah sukrosa. Sukrosa menjadi sumber karbon dalam media fermentasi. Menurut Anindita (2002) sukrosa dapat difermentasi oleh bakteri menjadi senyawa asam laktat. Semakin besar jumlah sukrosa yang ditambahkan dalam media fermentasi maka rendemen EPS akan meningkat.

2.4.4 Konsentrasi Inokulum

Inokulum merupakan bakteri yang ditumbuhkan pada media cair yang akan digunakan untuk fermentasi (Pelczar, 2008). Kadar inokulum pada fermentasi memberikan pengaruh terhadap hasil fermentasi. Bertambahnya konsentrasi inokulum akan mempercepat dan memperbanyak pembentukan EPS. Akan tetapi, jika konsentrasi inokulum yang terlalu besar akan menyebabkan fermentasi tidak efisien (Franca, 2009).

2.4.5 pH Media

pH merupakan salah satu parameter yang penting dalam mempengaruhi kondisi fermentasi BAL dalam produksi EPS. Setiap bakteri memiliki pH optimum yang spesifik. Penelitian yang dilakukan oleh Kimmell *et al.*, (1998) isolat *Leconostoc mesenteroides* bekerja optimum untuk memproduksi EPS pada pH 5,0 dengan hasil rendemen terbaik 30 gr/L. sedangkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Zisu dan Shah (2003) *Streptococcus thremophilus* 1275 bekerja optimum pada pH 5,5 dengan hasil rendemen terbaik sebesar 458 mg/L.

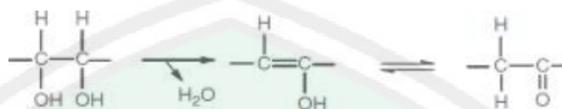
2.4.6 Suhu

Suhu merupakan faktor penting dalam proses fermentasi BAL dalam memproduksi EPS. Setiap bakteri memiliki suhu optimum yang berbeda. Semakin tinggi suhu dapat menyebabkan denaturasi protein dan enzim, dan enzim dapat bekerja dengan lambat pada suhu rendah. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Haroun *et al.*, (2013) bakteri *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496 dalam memproduksi EPS memiliki suhu optimum pada suhu 30°C dengan hasil rendemen terbaik 650 mg/L. Menurut Badel *et al.*, (2011) BAL optimal menghasilkan EPS pada suhu 30-37°C.

2.5 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat-Fenol

Metode asam sulfat-fenol sederhana dan metode kolorimetri cepat untuk menentukan total karbohidrat dalam sampel. Metode ini mendeteksi secara virtual semua kelas karbohidrat, termasuk mono-, di-, oligo-, dan polisakarida. Meskipun metodenya mendeteksi hampir semua karbohidrat, absorptivitas tersebut dari karbohidrat yang berbeda bervariasi (Nielsen, 2010). Gula merupakan golongan karbohidrat, baik gula reduksi ataupun gula non-reduksi. Larutan glukosa dalam

sampel akan mengalami perubahan warna dari tidak berwarna menjadi berwarna kecoklatan. Hal ini dikarenakan asam sulfat pekat ketika direaksikan dengan fenol dan glukosa akan menghasilkan panas yang menyebabkan glukosa terhidrasi menjadi senyawa hidroksimetil furfural (Lailah *et al.*, 2017).



Gambar 2.2 Reaksi dehidrasi karbohidrat

Penambahan asam kuat dan pemanasan pada karbohidrat akan menghasilkan senyawa turunan furan. Senyawa turunan furan yang terbentuk tergantung pada jenis karbohidrat yang terkandung dalam senyawa. Senyawa turunan furan diantaranya adalah pentose, heksosa 6-dioksiheksosa dan ketoheksosa (Azizah, 2019). Pengukuran kandungan gula dilakukan dengan metode asam sulfat-fenol dan dibaca menggunakan spektrofotometer genesis pada panjang gelombang 480 dan 490 nm (Suriyanti *et al.*, 2018). Larutan yang dihasilkan berwarna kuning-oranye, dan pengukuran dibuat pada 490 nm untuk heksosa dan pada 480 nm untuk pentosa dan asam heksuronat (Feather dan Harris, 1973). Nilai absorbansi suatu larutan dipengaruhi oleh konsentrasinya. Semakin tinggi konsentrasi larutan, semakin tinggi pula nilai absorbansinya (Lailah *et al.*, 2017).

2.6 Biosintesis Eksopolisakarida

Bakteri menghasilkan berbagai macam EPS yang disintesis melalui jalur biosintesis yang berbeda. Gen yang bertanggung jawab untuk sintesis sering dikelompokkan dalam genom organisme produksi masing-masing. EPS disintesis dalam fase-fase pertumbuhan yang berbeda dengan kondisi yang bervariasi

tergantung dari jenis mikroorganismenya. EPS disintesis oleh bakteri gram-positif atau gram-negatif melalui dua mekanisme yang berbeda. Bakteri gram-positif (seperti *levan*, *alternan* dan *dextran*) mensintesis dengan proses ekstraseluler (Vanhooren *et al.*, 1998), sedangkan bakteri gram-negatif mensintesis EPS secara intraseluler (seperti *xanthan*, *gellan*, *cellulose*, dan *sucinoglycans*) (Sutherland, 2001).

Proses sintesis dapat dibagi menjadi dua prinsip dasar yaitu tempat sintesis dan prekursor alami misalnya sintesis di luar dinding sel atau pada membran sel. Sintesis heteropolisakarida berbeda dengan sintesis monosakarida yang disintesis pada membran sitoplasma dengan memanfaatkan prekursor yang terbentuk intraseluler. Gula nukleotida berperan penting dalam sintesa heteropolisakarida sehingga peranannya dalam interkonversi monosakarida atau disakarida (gula) sebaik aktivasi gula yang dibutuhkan untuk polimerisasi monosakarida menjadi polisakarida (Cerning, 1990).

Heteropolisakarida dibuat dengan mempolimerisasi prekursor unit berulang yang dibentuk di dalam sitoplasma. Beberapa enzim atau protein terlibat dalam biosintesis dan sekresi EPS heterotipe yang tidak selalu unik untuk pembentukan EPS. Nukleotida gula, yang berasal dari gula-1-fosfat, memainkan peran penting dalam biosintesis heteropolisakarida karena perannya dalam aktivasi gula, yang diperlukan untuk polimerisasi monosakarida, serta interkonversi gula (epimerisasi, dekarboksilasi, dehidrogenasi, dll.). Bersama dengan aktivasi gula dan enzim modifikasi, mereka memainkan peran penting dalam pembentukan blok penyusun dan komposisi EPS akhir (Vuyst and Degeest, 1999).

Fruktosa 6-P menjadi glukosamin 6-P dengan katalis enzim Glms (glutamin-fruktosa 6-fosfat transaminase), glukosamin 6-P menjadi N-asetilglukosamin 6-P dengan katalis enzim NagA (N-asetilglukosamin 6-fosfat deasetilase), N-asetilglukosamin 6-P menjadi N-asetilglukosamin 1-P dengan katalis enzim NagM (N-asetilglukosamin fosfomutase), N-asetilglukosamin 1-P menjadi UDP-N-asetilglukosamin dengan katalis enzim GimU (UDP-Nasetilglukosamin pirofosforilase), UDP-N-asetilglukosamin melakukan pengulangan unit baik rantai maupun cabang dengan bantuan Glikosiltransferase. Setelah terjadi penggabungan, selanjutnya polisakarida yang terbentuk dikeluarkan dari sel dan terlarut di media fermentasi.

2.7 UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004). Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif meliputi pemeriksaan kemurnian spektrum UV-Vis dan penentuan panjang gelombang serapan maksimum. Analisis kuantitatif meliputi penentuan konsentrasi sampel (Apratiwi, 2016). Hal-hal yang mempengaruhi analisis UV-Vis adalah kromofor, aoksokrom, dan pelarut (Suhartati, 2017).



Gambar 2.4 Spektrofotometer UV-Vis

Prinsip kerja dari instrumen ini adalah interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron non ikatan (elektron bebas). Sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan energi, yang bila mengenai elektron-elektron tersebut maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Eksitasi elektron-elektron ini direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai jenis elektronnya. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi absorbansi (Suhartati, 2017).

Tipe-tipe transisi elektronik meliputi $\sigma\text{-}\sigma^*$, $n\text{-}\sigma^*$, $\pi\text{-}\pi^*$, dan $n\text{-}\pi^*$. Kromofor yang menyebabkan eksitasi dari $\sigma\text{-}\sigma^*$ adalah sistem yang mempunyai elektron σ pada orbital molekul. Senyawa-senyawa yang hanya mempunyai orbital σ adalah senyawa organik jenuh yang tidak mempunyai pasangan electron bebas. Transisi dari $\sigma\text{-}\sigma^*$ ini akan menghasilkan serapan pada maks sekitar 150 nm. Transisi dari $n\text{-}\sigma^*$ menyerap pada maks kecil dari 200 nm, yang diberikan oleh sistem yang mempunyai elektron yang tidak berikatan dan adanya orbital σ pada molekul.

Kromofor yang memberikan transisi dari π - π^* menyerap pada maks kecil dari 200 nm (tidak terkonjugasi). Kromofor ini merupakan tipe transisi dari sistem yang mengandung elektron π pada orbital molekulnya. Sedangkan kromofor yang memberikan transisi dari n - π^* memberikan serapan pada maks 300 nm (Dachriyanus, 2004).

2.8 Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

2.8.1 Prinsip Kerja FTIR

Spektroskopi FTIR merupakan salah satu teknik analitik yang sangat baik dalam proses identifikasi struktur molekul suatu senyawa. Komponen utama spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yang mempunyai fungsi menguraikan (mendispersi) radiasi inframerah menjadi komponen-komponen frekuensi. Penggunaan interferometer Michelson tersebut memberikan keunggulan diantaranya adalah informasi struktur molekul dapat diperoleh secara tepat dan akurat (memiliki resolusi yang tinggi) dibandingkan metode spektroskopi inframerah konvensional maupun metode spektroskopi yang lain. Keuntungan yang lain dari metode ini adalah dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam berbagai fase (gas, padat atau cair) (Sankari, 2010).



Gambar 2.5 Spektroskopi FTIR Varian 1000 FT

Frekuensi inframerah biasanya dinyatakan dalam satuan bilangan gelombang (wavenumber), yang didefinisikan sebagai banyaknya gelombang per sentimeter. Spektrum inframerah suatu senyawa dapat dengan mudah diperoleh dalam beberapa menit. Sedikit sampel senyawa diletakkan dalam instrumen dengan sumber radiasi inframerah. Spektroskopi secara otomatis membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu dan merekam pada kertas berapa persen radiasi yang ditransmisikan. Radiasi yang diserap oleh molekul muncul sebagai pita pada spektrum (Hart, 2003).

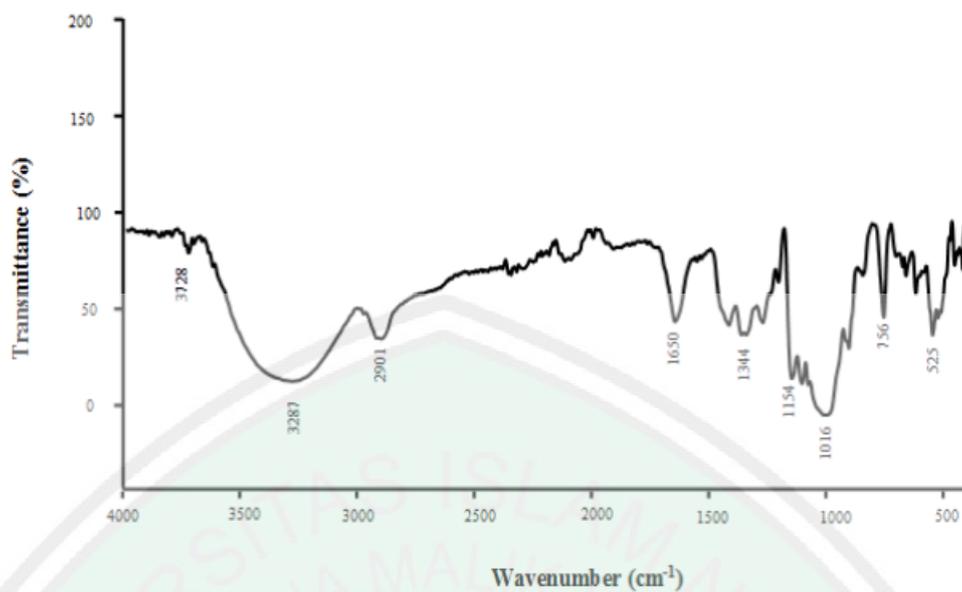
Prinsip kerja FTIR adalah mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sankari, 2010). Spektroskopi FTIR adalah sama dengan spektroskopi IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra-merah melewati sampel (Rohaeti *et al.*, 2011). FTIR menggunakan suatu interferometer Michelson

sebagai pengganti monokromator yang terletak di depan monokromator. Interferometer ini akan memberikan sinyal ke detektor sesuai dengan intensitas frekuensi vibrasi molekul yang berupa interferogram (Khopkar, 2008).

Komponen dasar dalam spektrofotometer FTIR terdiri dari sumber sinar, interferometer, sampel, detektor, amplifier, pengubah analog ke digital, dan komputer. Sistem kerja FTIR adalah sumber sinar yang mengeluarkan radiasi melewati interferometer ke sampel kemudian tersampaikan ke detektor. Penguatan (amplifikasi) sinyal, dimana kontribusi frekuensi yang tinggi telah dihilangkan dengan filter, oleh karena itu data berubah ke dalam bentuk digital berdasarkan suatu *analog-to-digital converter* kemudian dipindahkan ke komputer untuk menjalani transformasi Fourier (Yunitasari, 2016).

2.8.2 Penggunaan FTIR untuk Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida

FTIR adalah alat yang efektif untuk mendeteksi struktur dan gugus fungsi dalam EPS. Identifikasi gugus fungsi EPS dari *Weisella cobaria* yang dilakukan oleh Adesulu-Dahunsi (2018) menunjukkan terdapat beberapa puncak yang menggambarkan struktur dari senyawa polisakarida. Spektra FTIR EPS ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Spektrum FTIR EPS dari *Weissella cobaria* GA44 (Adesulu-Dahunsi *et al.*, 2018).

Identifikasi yang dilakukan pada Gambar 2.6 menunjukkan transmisi pada bilangan gelombang 2901 cm⁻¹ terdapat C-H *stretching vibration*, bilangan gelombang sekitar 1650 cm⁻¹ terdapat C=O dan *carboxyl group*, bilangan gelombang 1344 cm⁻¹ terdapat golongan ester dan eter *stretching vibration*, dan bilangan gelombang 1154 cm⁻¹ terdapat ikatan glikosidik (C-O-C) *stretching vibration*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan agustus-oktober 2020 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, erlenmeyer, pipet mikro, pipet ukur, autoklaf, *laminar air flow*, gelas arloji, gelas ukur, gelas beaker, botol steril, cawan petri, inkubator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, bunsen, batang pengaduk, spatula, kapas, timbangan analitik, *hotplate*, *rotary evaporator*, oven, sentrifuge, tabung sentrifugasi, *blue tip*, stirrer, plastik wrap, aluminium foil, plastik tahan panas, kapas, kertas label dan termometer, FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media *de Man Rogosa and Sharpe agar* (MRS agar), media *de Man Rogosa and Sharpe broth* (MRS broth), akuades, sukrosa, alkohol 70%, etanol PA 95%, asam trikloroasetat (TCA), glukosa, fenol 5% dan asam sulfat (H₂SO₄).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis bakteri asam laktat (BAL) asal susu kacang tanah

terfermentasi terhadap hasil produksi eksopolisakarida (EPS). Variasi jenis isolat yang digunakan pada penelitian ini terdapat 4 jenis isolat. Hasil EPS yang didapatkan dianalisa kadar gula menggunakan metode sulfat-fenol. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Hasil EPS diidentifikasi gugus fungsi menggunakan FTIR. Data hasil penelitian disusun dalam tabel-tabel, diklasifikasikan sehingga merupakan suatu susunan urutan data kemudian diinterpretasikan sesuai dengan hasil pengamatan yang ada.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Sterilisasi alat dan bahan
2. Pembuatan media
3. Peremajaan Bakteri
4. Skrining bakteri
5. Pembuatan Inokulum
6. Produksi EPS
7. Ekstraksi EPS
8. Pengukuran Total Plate Count
9. Penentuan kadar gula EPS
10. Identifikasi gugus fungsi

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disterilisasi terlebih dahulu. Alat yang terbuat dari gelas dibungkus dengan kertas, tabung reaksi disumbat dengan kapas berlemak kemudian dibungkus dengan plastik tahan panas dan diikat dengan rapat agar air dan bakteri tidak masuk. Bahan atau media yang

digunakan untuk menumbuhkan bakteri setelah direbus hingga mendidih dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang disumbat dengan kapas berlemak kemudian ditutup dengan plastik tahan panas. Alat dan bahan yang sudah dibungkus dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (Fardiaz, 1992)

Media MRS agar ditimbang sebanyak 6,82 gram kemudian dimasukkan pada gelas beaker kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 mL. Dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih dan diaduk menggunakan stirrer hingga homogen. Sebagian media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan sebagian media dimasukkan ke dalam 10 tabung reaksi sebanyak 5 mL sebagai media miring dan ditutup dengan kapar berlemak kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media dalam tabung reaksi didinginkan pada keadaan miring hingga memadat.

3.5.2.2 Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* - Sukrosa 2% (Fardiaz, termodifikasi, 1992)

Media MRS agar ditimbang sebanyak 6,82 gram dan sukrosa sebanyak 2 gram kemudian dimasukkan pada gelas beaker kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 mL. Dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih dan diaduk menggunakan stirrer hingga homogen. Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapar berlemak kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.2.3 Media de Man Rogosa and Sharpe Agar - Sukrosa 10% (Fardiaz, termodifikasi, 1992)

Media MRS agar ditimbang sebanyak 6,82 gram dan sukrosa sebanyak 10 gram kemudian dimasukkan pada gelas beaker kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 mL. Dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih dan diaduk menggunakan stirrer hingga homogen. Media dimasukkan ke dalam erlenmayer dan ditutup dengan kapar berlemak kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.2.4 Media de Man Rogosa and Sharpe Broth (Fardiaz, 1992)

Media MRS broth ditimbang sebanyak 5,5 gram. kemudian dimasukkan pada gelas beaker kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 mL. Dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih dan diaduk menggunakan stirrer hingga homogen. Media dimasukkan ke dalam erlenmayer dan ditutup dengan kapar berlemak kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.3 Peremajaan Bakteri (Kultsum, 2009)

BAL yang akan digunakan harus diremajakan yang dilakukan secara aseptis. Bakteri diambil sebanyak satu ose kemudian digoreskan pada media MRS agar yang telah disiapkan dan sudah disterilisasi dalam keadaan baru. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

3.5.4 Skrining Bakteri Penghasil Eksopolisakarida (Fu'adah, termodifikasi, 2019)

Skrining bakteri dilakukan dengan menggunakan metode cawan gores. Skrining bakteri dimulai dengan diambil bakteri sebanyak 1 ose, kemudian ditanam pada media MRS agar, MRS agar 2% sukrosa dan MRS agar 10% sukrosa. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.

3.5.5 Pembuatan Inokulum (Kultsum, 2009)

Inokulum dilakukan dengan diambil dua ose BAL yang telah diregenerasi kemudian dinokulasikan ke dalam 100 mL MRS broth, lalu di *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 18 jam pada suhu 30°C. Kemudian diukur OD (*Optical Density*) bakteri dengan UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Kemudian disetarakan OD menjadi 0,5.

3.5.6 Produksi Eksopolisakarida (Xu, *et al*, termodifikasi, 2010)

Inokulum BAL dengan OD 0,5 sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam botol kaca lalu ditambahkan MRS broth hingga 40 mL dengan penambahan sukrosa 2%. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C.

3.5.7 Ekstraksi Eksopolisakarida (Paulo, *et al.*, 2012)

Inokulum diambil 20 mL kemudian ditambahkan dengan TCA 20 mL, kemudian dishaker selama 30 menit dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifuge dingin 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Filtrat yang didapatkan mengandung EPS diambil dan ditambahkan etanol dingin 96% dua kali lipat dari filtrat kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu 4°C. Kemudian endapan yang didapat dipisahkan dari filtrat. Lalu endapan dikeringkan pada suhu 50°C selama 6 jam dan hingga didapatkan berat konstan. Berat EPS kering ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar EPS (mg/L)} = \frac{\text{Berat eksopolisakarida (mg)}}{\text{volume (L)}} \dots\dots\dots 3.2$$

3.5.8 Pengukuran Viabilitas Bakteri Asam Laktat Menggunakan Metode *Total Plate Count* (TPC) (Fardiaz, termodifikasi, 1989)

Pengukuran TPC dilakukan menggunakan metode sebar. Kultur bakteri sebanyak 1 mL diinokulasikan ke dalam NaCl fisiologis 0,85% menggunakan metode bertingkat 10^{-10} . Kemudian inokulum dimasukkan ke media MRS agar mulai dari 10^{-7} sampai pengenceran 10^{-10} lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang.

$$(\text{CFU/mL}) = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran (fp)} \dots\dots\dots (3.1)$$

3.5.9 Uji Kadar Total Gula Metode Asam Sulfat-Fenol

3.5.9.1 Pembuatan Kurva Standar Kadar Total Gula Metode Asam Sulfat-Fenol (Dubois *et al.*, 1956; Ma'unatin *et al.*, 2020).

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan cara diambil larutan glukosa stok 1000 ppm sebanyak 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 mL dimasukkan dalam gelas beaker, kemudian dilarutkan dengan aquades, lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 mL dan ditandabatkan. Larutan glukosa yang sudah dibuat diambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing, kemudian ditambahkan fenol 5% sebanyak 1 mL dan H_2SO_4 sebanyak 5 mL. Selanjutnya dipanaskan dalam penangas yang sudah mendidih selama 15 menit. Kemudian dihitung absorbansi larutan menggunakan instrument UV-Vis pada panjang gelombang 490nm.

3.5.9.2 Penentuan Kadar Gula Eksopolisakarida Metode Asam Sulfat-Fenol (Dubois *et al.*, 1956; Ma'unatin *et al.*, 2020).

Ditimbang EPS yang sudah dikeringkan dan dihaluskan sebanyak 0,01 gram, kemudian dimasukkan ke dalam botol steril dan dilarutkan dengan akuades, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan ditandabatkan. Larutan EPS diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan fenol 5% sebanyak 1 mL dan H_2SO_4 sebanyak 5 mL. Selanjutnya dipanaskan dalam

penangas yang sudah mendidih selama 15 menit. Kemudian dihitung absorbansi larutan menggunakan instrument UV-Vis pada panjang gelombang 490nm.

3.5.10 Identifikasi Gugus Fungsi pada Eksopolisakarida menggunakan FTIR (Anton dan Zubaidah, 2015)

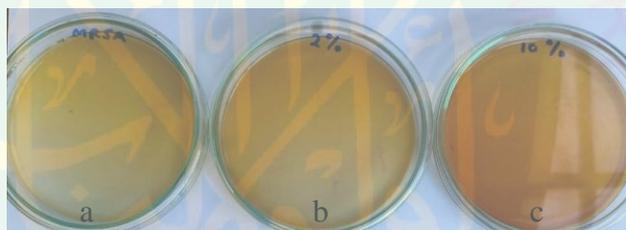
Sampel dibuat dengan menumbuk 250 mg KBr kemudian ditekan dalam cetakan hingga diperoleh pelet KBr. EPS kering dianalisa pada frekuensi 4000-400 cm^{-1} . Data yang didapatkan melalui uji FTIR berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif yang berupa informasi keberadaan gugus fungsi dan jenis ikatan tertentu pada bilangan gelombang tertentu. Sedangkan data kuantitatif berupa nilai absorbansi dari gugus fungsi yang terdeteksi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Media

Media *de Man Rogosa and Sharpe agar* (MRS agar) dan *de Man Rogosa and Sharpe broth* (MRS broth) digunakan karena media spesifik untuk bakteri asam laktat (BAL) karena memiliki nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan BAL. Media MRS agar digunakan untuk peremajaan bakteri dan penghitungan viabilitas bakteri, sedangkan media MRS broth digunakan untuk pembuatan inokulum dan produksi eksopolisakarida (EPS). Hasil pembuatan media ditampilkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Media MRS agar a) MRS agar b) MRS agar + 2% Sukrosa c) MRS agar + 10% Sukrosa

Sukrosa pada media ditambahkan bertujuan untuk memperkaya jumlah gula sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri sekaligus untuk meningkatkan kemampuan bakteri dalam memproduksi EPS. Penambahan sukrosa memberikan perubahan warna yang disebabkan oleh karamelisasi sukrosa pada media ketika dilakukan pemanasan pada suhu tinggi. Akan tetapi penambahan sukrosa tidak menyebabkan kekentalan pada media karena media MRS merupakan media yang memiliki karakteristik kandungan gula yang tinggi.

4.2 Peremajaan Bakteri

Isolat yang digunakan pada penelitian ini diberikan kode B, C, K, dan L dari hasil isolasi yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya yang termasuk dalam BAL yang belum dilakukan identifikasi DNA. Isolat dibedakan berdasarkan perbedaan morfologi dari koloni bakteri yang tumbuh. Pemilihan isolat BAL sebagai penghasil EPS karena sebagian besar BAL dapat menghasilkan EPS dan tergolong dalam bakteri non-patogen.

Isolat perlu diremajakan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk penelitian. Tujuan dari peremajaan bakteri adalah untuk mendapatkan biakan yang baru dan muda, sehingga dapat berkembangbiak dengan baik dan dapat digunakan sesuai dengan fungsinya. Wijayati *et al.*, (2014) menjelaskan bahwa peremajaan bakteri bertujuan agar bakteri memulai metabolisme kembali setelah penyiapan. Peremajaan bakteri dilakukan untuk mempersiapkan bakteri pada tahap pembuatan inokulum, hal ini bertujuan agar fase adaptasi bakteri berjalan lebih pendek sehingga bakteri mencapai fase eksponensial dalam waktu yang lebih cepat. Fase eksponensial merupakan fase dimana laju pertumbuhan bakteri maksimal (Chilmawati dan Suminto, 2008). Selain itu, peremajaan bakteri juga dapat memperbarui sel-sel bakteri dengan nutrisi baru yang terkandung dalam media.

Isolat BAL pada media media MRS agar diamati secara visual menunjukkan hasil peremajaan isolat BAL mengalami pertumbuhan dengan penampakan bakteri berwarna bening, membentuk koloni yang rapat dan tumbuh membentuk pola zig-zag.

4.3 Skrining Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Secara Kualitatif

Skrining bakteri bertujuan untuk konfirmasi jenis isolat BAL asal susu kacang tanah terfermentasi yang mampu memproduksi EPS. Skrining bakteri ditumbuhkan pada media MRS agar dengan penambahan sukrosa 2% dan 10%, sedangkan media MRS tanpa penambahan sukrosa digunakan sebagai kontrol. BAL penghasil EPS yang secara kualitatif dipilih ditandai dengan terbentuknya lendir yang mukoid. Hasil skrining BAL penghasil EPS secara kualitatif ditampilkan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Skrining BAL Penghasil EPS.

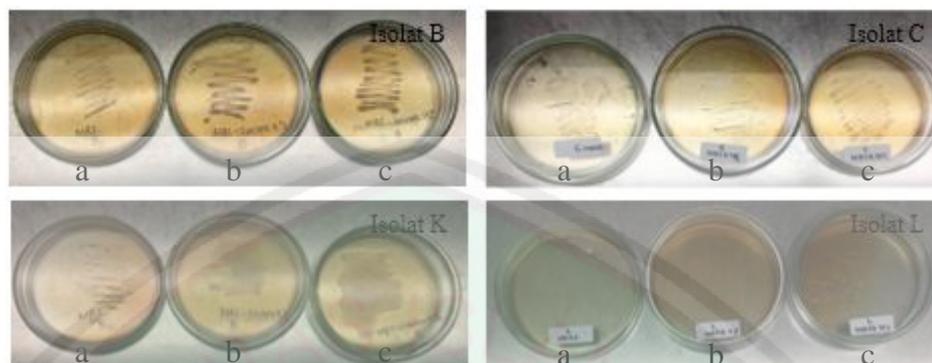
Kode Isolat	MRS agar	MRS agar +Sukrosa 2%	MRS agar +Sukrosa 10%
B	-	++	+++
C	-	+	++
K	-	+++	+++
L	-	+	+

Keterangan:

- = Tidak menghasilkan lendir
- + = Lendir sedikit
- ++ = Lendir banyak
- +++ = Lendir sangat banyak

Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa setiap isolat BAL asal susu kacang tanah terfermentasi memiliki kemampuan berbeda-beda dalam menghasilkan EPS. Berdasarkan pertumbuhan semua isolat menggunakan media MRS agar tanpa penambahan sukrosa (kontrol) tidak menunjukkan terbentuknya EPS. Hal ini berbanding terbalik dengan media MRS agar yang ditambahkan sukrosa 2% dan 10% yang mampu menghasilkan EPS. Kualitas EPS yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya sukrosa yang digunakan. Isolat terbaik dalam produksi EPS secara visual pada ukuran lendir dihasilkan oleh isolat K dan

diikuti oleh isolat B, sedangkan untuk isolat C, dan L memiliki kualitas EPS yang tidak jauh berbeda.



Gambar 4.2 Hasil Skrining BAL a) MRS agar b) MRS agar + Sukrosa 2% c) MRS agar + Sukrosa 10%.

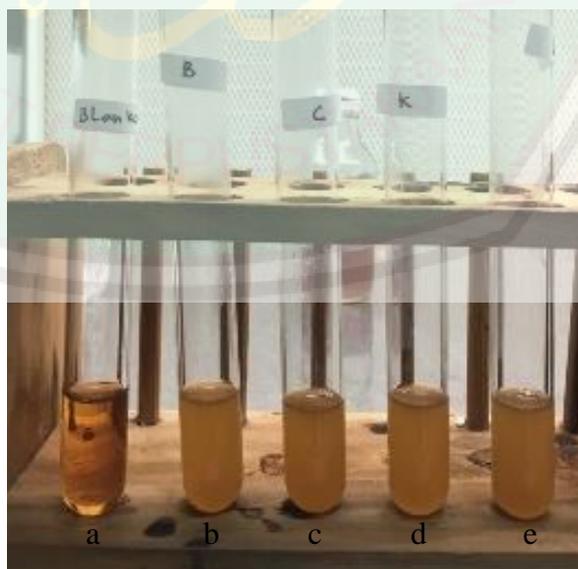
Isolat BAL terpilih memiliki perbedaan kemampuan dalam menghasilkan EPS dikarenakan perbedaan spesies atau strain. Menurut Zahro, (2014) dan Nurhasanah, dkk., (2020) perbedaan tersebut diakibatkan oleh berbedanya proses metabolisme, sehingga jumlah metabolit yang dihasilkan juga berbeda. Pham *et al.*, (2000) menambahkan bahwa jumlah EPS yang dihasilkan oleh spesies BAL yang berbeda disebabkan oleh sifat bawaan atau genetik.

Penambahan sukrosa 2% dan 10% dari hasil pengamatan menunjukkan kualitas yang sama dalam memproduksi EPS. Hal tersebut dapat dilihat dari ukuran lendir yang dihasilkan. Oleh karena itu, pada media produksi dapat menggunakan media MRS broth dengan penambahan sukrosa 2%. Penggunaan sukrosa 2% dapat memberikan efisiensi terhadap biaya produksi pada penggunaan bahan.

4.4 Pembuatan Inokulum

Pembuatan inokulum dilakukan bertujuan untuk membuat bakteri beradaptasi sebelum digunakan dalam proses fermentasi atau produksi EPS. Inokulum yang digunakan adalah inokulum yang berumur 18 jam karena pada waktu tersebut BAL sedang mendapatkan fase eksponensial yang akan menuju fase stasioner, dimana pada fase eksponensial bakteri memiliki laju pertumbuhan bakteri maksimal. Menurut Ruiz *et al.*, (2010) senyawa metabolit mulai terbentuk saat memasuki tengah fase eksponensial dan menurun produksinya pada fase stasioner. Tercapainya fase eksponensial ini dapat ditandai dengan media yang berwarna bening menjadi keruh karena terbentuknya suspensi bakteri.

Pembuatan inokulum pada isolat BAL yang menunjukkan kekeruhan adalah isolat B, C, K, dan L pada jam ke 18. Kekeruhan pada media disebabkan oleh jumlah sel bakteri yang semakin meningkat yang menunjukkan bahwa fase eksponensial bakteri telah tercapai. Kekeruhan inokulum bakteri ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Inokulum Bakteri a) MRS broth b) inokulum isolat B c) inokulum isolat C d) inokulum isolat K e) inokulum isolat L

Setelah inokulum berumur 18 jam, inokulum tersebut dihitung OD-nya menggunakan instrument UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 600 nm agar bakteri tidak mengalami mutasi dan tidak menyebabkan kematian bakteri. Panjang gelombang yang digunakan juga disesuaikan dengan warna komplementer pada media yaitu kuning kecoklatan. Pengukuran dengan UV-Vis menggunakan parameter kekeruhan media. Kekeruhan media tersebut menyebabkan sinar tampak yang dipancarkan akan dihamburkan sebagian oleh suspensi bakteri dan sebagian sinar akan ditransmisikan menuju detektor. Semakin besar sinar yang dihamburkan oleh suspensi bakteri menyebabkan sinar yang diteruskan (ditransmisikan) semakin kecil sehingga menunjukkan bahwa media semakin keruh.



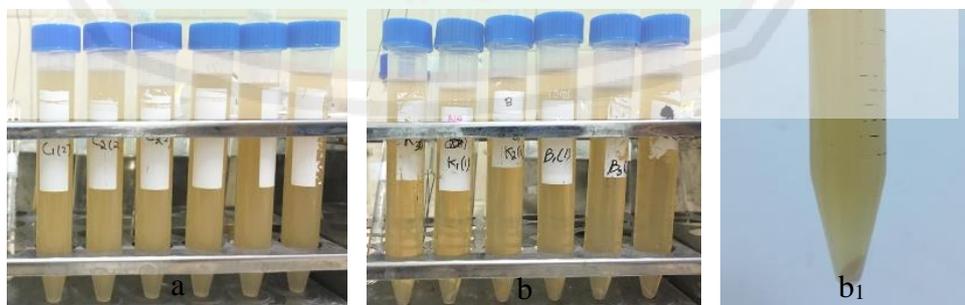
Gambar 4.4 Inokulum Kerja a) inokulum isolat B b) inokulum isolat C c) inokulum isolat K d) inokulum isolat L

Fermentasi isolat BAL dilakukan menggunakan bakteri dengan OD 0,5, sehingga bakteri perlu dilakukan penyetaraan OD terlebih dahulu. Penyetaraan OD bakteri 0,5 bertujuan untuk mengontrol bakteri agar memiliki kondisi yang sama pada saat fermentasi EPS. Setelah dilakukan penyetaraan OD bakteri, inokulum kerja siap untuk digunakan untuk fermentasi EPS.

4.5 Produksi Eksopolisakarida

Produksi EPS pada media produksi MRS broth dengan penambahan sukrosa 2% (b/v) oleh isolat bakteri B, C, K dan L dilakukan dengan tujuan untuk menentukan isolat BAL asal susu kacang tanah terfermentasi terbaik dalam memproduksi EPS. Sukrosa merupakan substrat yang sangat baik untuk sintesis EPS dengan hasil rendemen yang melimpah dan hanya beberapa strain memproduksi EPS pada gula lainnya. Menurut Geel-Schutten, *et al.*, (1998) produksi EPS meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa dan melibatkan enzim tipe sukrase ekstraseluler. Malik *et al.*, (2015) menambahkan bahwa enzim sukrase ekstraseluler yang digunakan oleh BAL untuk mempolimerisasi EPS yaitu fruktansukrase dan glukansukrase.

EPS yang terbentuk pada media perlu dipisahkan dari membran sel bakteri dan senyawa protein yang dilakukan dengan penambahan asam trikloroasetat (TCA). Penambahan TCA menyebabkan deproteinasi atau pengendapan senyawa protein, dan reaksi sangat bergantung pada 3 kloro pada molekul (Sivaraman *et al.*, 1997). Endapan yang didapatkan adalah protein yang terkandung dalam media dan sel bakteri, sedangkan filtrat yang diperoleh adalah EPS.



Gambar 4.5 Pengendapan Protein dari Media dan Sel Bakteri
a) sebelum sentrifugasi b) sesudah sentrifugasi b₁) endapan

Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan etanol dingin 95% dengan volume dua kali dari sampel yang digunakan untuk mengendapkan EPS. Penggunaan etanol dengan volume dua kali dari sampel bertujuan untuk mempermudah laju difusi sehingga distribusi partikel akan semakin besar dengan semakin besarnya luas permukaan. Etanol 95% digunakan sebagai pengendap polisakarida dan memiliki kemampuan melarutkan polisakarida yang relatif kecil, meskipun kemampuan dalam melarutkan zat-zat lain yang relatif besar (Kusmwati dan Pratiwi, 2009). Etanol memiliki konstanta dielektrik yang jauh lebih rendah daripada air sehingga memiliki polaritas lebih rendah daripada air, sedangkan polisakarida mengandung banyak gugus hidroksil yang memberikan karakteristik polar mereka, akibatnya konsentrasi etanol meningkat dalam larutan dan menyebabkan penurunan polisakarida kelarutan atau menyebabkan pengendapan (Klinchongkon *et al.*, 2019). Etanol dapat menyebabkan tegangan permukaan air pada EPS menurun sehingga EPS cenderung berinteraksi dengan molekul EPS lainnya. Penentuan rendemen EPS dilakukan dengan metode gravimetri sebagai metode analisis kuantitatif berdasarkan berat konstan EPS. Rendemen yang didapatkan ditampilkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rendemen Rata-Rata Eksopolisakarida

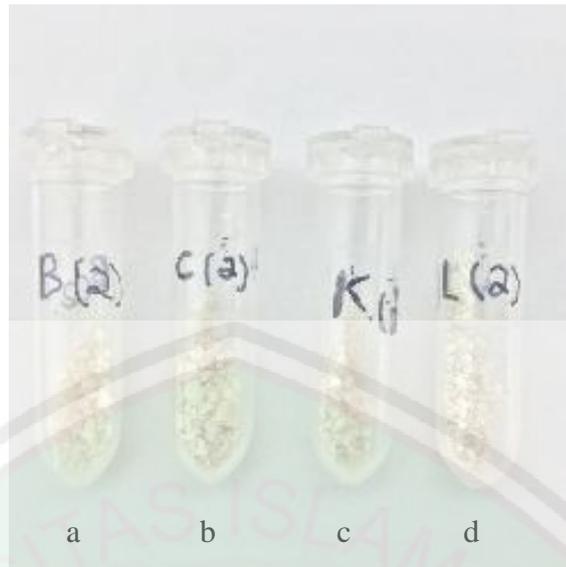
Jenis Isolat	Rata-rata (mg/L)
B	9550,00
C	11303,33
K	10696,67
L	9758,33

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa perbedaan jenis isolat BAL berpengaruh terhadap rendemen EPS yang dihasilkan. Jenis isolat BAL yang menghasilkan EPS dengan rendemen paling besar adalah isolat C dengan hasil 11303,33 mg/L,

sedangkan hasil rendemen terendah dihasilkan oleh isolat B dengan rendemen sebesar 9550,00 mg/L. Perbedaan hasil ini disebabkan oleh aktivitas enzim yang dimiliki oleh setiap isolat BAL berbeda. Perbedaan hasil produksi EPS disebabkan oleh proses metabolisme yang berbeda dan sifat bawaan dari bakteri.

Penelitian produksi EPS yang telah dilakukan sebelumnya pada media MRS broth dengan penambahan sukrosa yang dilakukan oleh Halim dan Zubaidah (2013) dari isolat BAL dengan kode K1-1242 asal sawi asin (*Brassica juncea*) didapatkan hasil rendemen sebesar 1990 mg/L, Nudyanto dan Zubaidah (2015) dari isolat BAL dengan kode B.3.1 asal kimchi didapatkan hasil rendemen sebesar 427,00 mg/L, Diana (2018) dari isolat BAL asal tempoyak dengan penambahan sukrosa 5% oleh isolat W-6-2-30 dengan rendemen sebesar 17,3 mg/mL, dan Ma'unatin *et al.*, (2020) dari *Leuconostoc mesenteroides* N7 yang diisolasi dari nira siwalan dengan penambahan sukrosa 10% didapatkan rendemen sebesar 10,999 g/L.

Isolat BAL asal susu kacang tanah terfermentasi pada penelitian ini memiliki potensi yang tinggi dalam memproduksi EPS. Rendemen rata-rata yang didapatkan pada penelitian lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Halim dan Zubaidah (2013), Nudyanto dan Zubaidah (2015), Diana (2018), dan Ma'unatin *et al.*, (2020). Kondisi kultur dan komposisi media merupakan faktor yang mempengaruhi BAL dalam memproduksi serta karakteristik dari EPS (Ruas-Maidedo and Reyes-Gavilan, 2005). Hal ini dikarenakan setiap spesies bakteri memiliki kemampuan adaptasi yang berbeda dan kondisi optimum yang berbeda. Sumber karbon yang terbaik untuk BAL untuk memberikan hasil produksi EPS pada umumnya adalah sukrosa (van Geel-Schutten, *et al.*, 1998).



Gambar 4.6 Eksopolisakarida a) EPS isolat B b) EPS isolat C c) EPS isolat K d) EPS isolat L

EPS yang didapatkan memiliki bentuk padatan dan berwarna putih kekuningan. Karakteristik EPS pada umumnya adalah berbentuk seperti kapur berongga yang melekat dan sulit dikeluarkan (Salminen, et al., 2004). Akan tetapi beberapa EPS memiliki karakteristik yang berbeda. Van Hijum *et al.*, (2006) menjelaskan bahwa perbedaan karakteristik EPS disebabkan oleh perbedaan tipe ikatan, tipe cabang, panjang rantai glukosa, massa molekul, dan konformasi polimer.

4.6 Analisis Kadar Gula Total EPS

Polisakarida atau karbohidrat termasuk dalam golongan gula. Pengukuran kadar gula total menggunakan metode sulfat-fenol yang akan diidentifikasi menggunakan UV-Vis. Prinsip dasar yang digunakan pada metode ini adalah karbohidrat yang bereaksi dengan asam sulfat pekat menyebabkan dehidrasi membentuk senyawa turunan furfural. Larutan EPS ditambahkan fenol dan asam sulfat pekat. Fenol berperan sebagai pereaksi yang membentuk senyawa kompleks berwarna ketika bereaksi dengan turunan furfural. Senyawa kompleks yang

terbentuk berwarna jingga dalam kondisi asam dan berkondensasi dengan monomer gula. Asam sulfat pekat akan memecah sel dan menghidrolisis polisakarida. Penggunaan panjang gelombang 490 nm disesuaikan dengan warna komplementer yang terbentuk. Hasil rata-rata kadar gula total EPS ditampilkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Kadar gula rata-rata total EPS

Isolat	Rata-rata (%)
B	93,26
C	81,23
K	96,89
L	84,54

Kadar gula total tertinggi dihasilkan oleh isolat K dengan kadar sebesar 96.89%, sedangkan kadar gula total terendah dihasilkan oleh isolat C dengan kadar sebesar 81.23%. Tinggi dan rendahnya kadar gula total disebabkan oleh jumlah gula sebagai substrat dalam media produksi dan aktivitas enzim invertase untuk mengubah substrat menjadi monomer-monomer penyusunnya. Azizah (2019) menyatakan bahwa tinggi rendahnya kadar gula total pada EPS dipengaruhi jumlah gula yang terdapat dalam media produksi. Rendahnya kadar gula total juga disebabkan oleh jumlah pengotor yang terdapat dalam EPS. Pengotor yang sering dijumpai dalam EPS salah satunya adalah protein.

4.7 Viabilitas Bakteri Asam Laktat Setelah Fermentasi Eksopolisakarida

Metode yang digunakan untuk menentukan viabilitas bakteri adalah metode *total plate count* (TPC). Dwidjoseputro (2005) menyatakan bahwa metode TPC adalah metode perhitungan mikroba untuk menguji cemaran mikroba menggunakan metode pengenceran dan cawan tuang. Perhitungan ini dilakukan untuk mengetahui jumlah sel BAL yang hidup untuk memproduksi EPS. Uji TPC dilakukan dengan

media MRS agar menghasilkan koloni yang dapat dihitung dan diamati secara visual. Jumlah sel bakteri yang digunakan pada media produksi dihitung menggunakan metode TPC. Jumlah koloni yang dihitung pada cawan petri adalah sebanyak 30-300 koloni. Hasil perhitungan viabilitas BAL TPC pada isolat B, C, K, dan L ditampilkan pada Tabel 4.4.

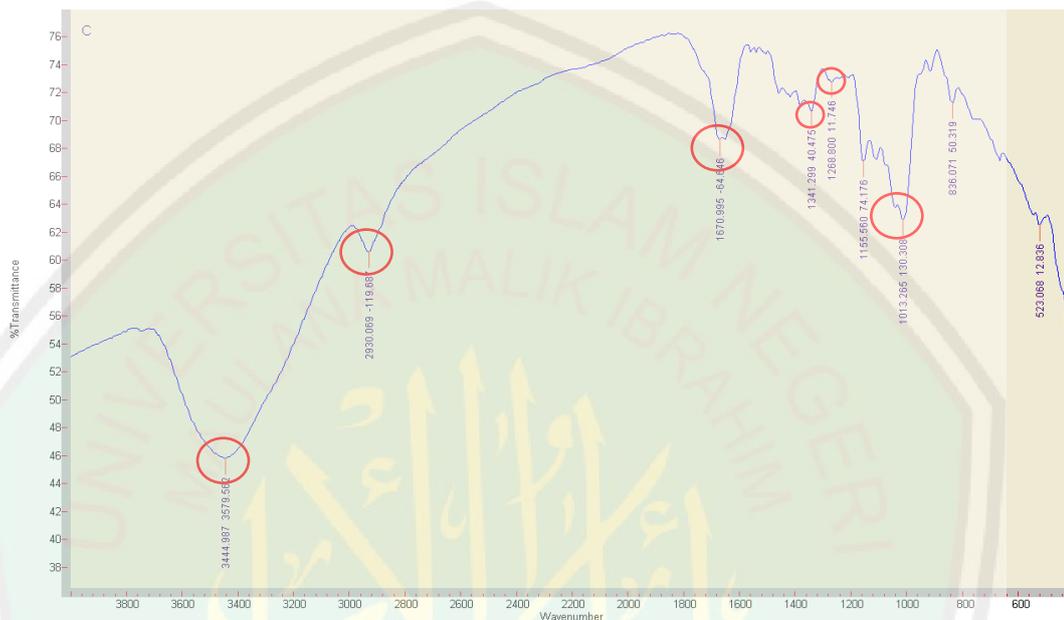
Tabel 4.4 Viabilitas Bakteri Asam Laktat Setelah Fermentasi Eksopolisakarida

Jenis Isolat	Total Sel Bakteri (CFU/mL)
B	$2,87 \times 10^9$
C	$8,7 \times 10^{12}$
K	$1,01 \times 10^{12}$
L	$1,51 \times 10^{11}$

Perbedaan tingkat viabilitas pada setiap jenis isolat disebabkan oleh perbedaan tingkat adaptasi yang dimiliki oleh isolat. Viabilitas paling tinggi pada media produksi dimiliki oleh isolat C dengan jumlah sel bakteri $8,7 \times 10^{12}$ CFU/mL dan yang paling rendah adalah isolat B dengan jumlah sel bakteri $2,87 \times 10^9$ CFU/mL. Lee, dkk (2013) menjelaskan bahwa faktor-faktor yang dapat mempengaruhi viabilitas BAL salah satunya adalah jenis bakteri. Setiap jenis bakteri memiliki kemampuan adaptasi yang berbeda dengan kondisi lingkungan sehingga dapat mempengaruhi kemampuan hidup bakteri dalam suatu kondisi pada media. Kemampuan hidup bakteri tersebut berpengaruh terhadap rendemen EPS, semakin banyak sel bakteri maka rendemen EPS yang didapatkan juga semakin besar.

4.8 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida menggunakan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi gugus fungsi EPS menggunakan spektrofotometer FTIR dilakukan pada EPS yang dihasilkan oleh jenis isolat dengan rendemen tertinggi yaitu pada isolat C. Hasil FTIR yang didapatkan ditampilkan pada Gambar 4.8.



Gambar 4.7 Spektra FTIR EPS yang dihasilkan isolat C

Hasil analisa gugus fungsi EPS diinterpretasikan berdasarkan puncak yang muncul terhadap serapan khas pada gugus fungsi polisakarida. Gugus fungsi EPS yang didapatkan ditampilkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Gugus Fungsi dari Spektra FTIR EPS yang Dihasilkan Isolat C.

Spektra hasil analisis (cm ⁻¹)	Spektra dari literatur (cm ⁻¹)	Gugus fungsi dari literatur	Sumber
3444,987	3406,35	O-H <i>Stretching</i>	(Winahyu dan Primadiamanti, 2020)
2930,069	2925	C-H (metil) <i>Stretching</i>	(Bramhachari and Dubey, 2006)
1670,995	1636	C=O <i>Stretching</i>	(Bramhachari and Dubey, 2006)
1341,291	1370	-C-H, C-H ₂ <i>Bending</i>	(Petrovici, dkk., 2017)
1268,8	1250	O-S-O <i>Stretching</i>	(Guezenec, dkk., 1994)
1013,25	1154	C-O-C <i>Stretching</i>	(Adesulu-Dahunsi <i>et al.</i> , 2018)

Berdasarkan penelitian terdahulu bahwa senyawa polisakarida yang didukung oleh pita serapan O-H pada daerah 3406,35 cm⁻¹ dengan puncak yang melebar *stretching* (Winahyu dan Primadiamanti, 2020), serapan C-H golongan metil pada daerah 2925 cm⁻¹ dengan vibrasi *stretching*, serapan C=O pada daerah 1636 cm⁻¹ dengan vibrasi *stretching* (Bramhachari and Dubey, 2006), serapan -C-H, C-H₂ pada daerah 1370-1455 cm⁻¹ dengan vibrasi bending (Petrovici, dkk., 2017), pada serapan daerah 1250 dengan vibrasi *stretching* menunjukkan gugus O-S-O (Guezenec, dkk., 1994), serapan C-O-C yang menunjukkan ikatan glikosidik pada daerah 1154 cm⁻¹ dengan vibrasi *stretching* (Adesulu-Dahunsi *et al.*, 2018). Gugus fungsi yang menunjukkan keberadaan suatu polisakarida pada umumnya adalah O-H (hidroksil), C=O (karbonil), -C-H/-C-H₂, dan C-O-C (ester/eter).

4.9 Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Memproduksi Ekspolisakarida dalam Perspektif Islam

Ketaqwaan manusia di muka bumi ini ditingkatkan dengan selalu bersyukur dan selalu merenungi ciptaan Allah SWT begitupula dengan pemanfaatan BAL

dalam memproduksi EPS yang membuktikan bahwa di muka bumi terdapat berbagai hal yang tidak diketahui oleh manusia. Oleh karena itu, manusia harus selalu belajar untuk memperoleh pengetahuan yang luas agar pengetahuan tersebut bermanfaat bagi orang lain dalam mengerjakan suatu kebaikan guna mensejahterakan manusia. Di era-modern ini masih terdapat berbagai hal yang baru yang sesungguhnya di dalam Al-Qur'an sudah dijelaskan bahwa manusia harus berusaha dan mampu menjelaskan setiap manfaat oleh setiap ciptaan-Nya seperti manfaat dari EPS. Allah SWT menciptakan semua alam dan seisinya sebagai rahmat bagi seluruh umat. Sebagaimana yang sudah dijelaskan Al-Qur'an bahwa seluruh kekayaan alam berhak untuk dieksplorasi dengan semaksimal mungkin sebagai wujud rasa syukur kepada Allah SWT atas nikmat yang telah diberikan, seperti yang disebutkan dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah (2) ayat 164:

Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Baqarah ayat 164:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ
بِمَا يَذْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ
فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيَّاحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لآيَاتٍ
لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya:

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan.” (QS. Al-Baqarah:164).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah lah yang menciptakan langit dan bumi serta segala isinya untuk memenuhi kebutuhan manusia, maka seharusnya manusia perlu memperhatikan semua agar bertambah keimanannya terhadap keagungan dan kekuasaanNya, serta bertambah ilmu pengetahuan tentang alam semesta dan dapat dimanfaatkan. Segala jenis hewan telah diciptakan di muka bumi dengan berbagai bentuk dan ukuran, ada yang dapat dilihat dengan mata telanjang, Ada yang harus menggunakan alat bantu seperti mikroskop, salah satu diantara banyak hewan yang diciptakan adalah bakteri. Allah menciptakan hewan dengan berbagai manfaat, salah satunya adalah BAL yang dapat menghasilkan EPS. EPS mempunyai banyak manfaat untuk memenuhi kebutuhan manusia. Hal tersebut menunjukkan kekuasaan Allah yang Maha Agung dalam segala yang dikehendakiNya bagi orang-orang yang dapat memikirkan bukti-bukti serta memahami dalil-dalil dan tanda-tanda yang ada di muka bumi ini sebagai bahan untuk manusia selalu mempelajari agar mampu mendapatkan manfaat dalam kebaikan dari setiap yang diciptakan Allah SWT, seperti yang terdapat pada Al-Qur'an Surat An-Nahl ayat 8.

Allah SWT berfirman dalam Q.S An-Nahl ayat 8:

وَالْخَيْلَ وَالْبِغَالَ وَالْحَمِيرَ لِتَرْكَبُوهَا وَزِينَةً وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya:

“Dan (Dia telah menciptakan) kuda, bagal dan keledai, agar kamu menungganginya dan (menjadikannya) perhiasan. Dan Allah menciptakan apa yang kamu tidak mengetahuinya” (Q.S An-Nahl:8).

Al-Madinah Al-Munawwarah dalam tafsirnya menjelaskan bahwa lafadz وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ memiliki makna yakni Allah juga menciptakan makhluk-makhluk

yang tidak kalian ketahui selain dari yang telah Dia sebutkan baik itu di darat maupun di laut, yang belum pernah dilihat dan didengar oleh manusia. Orang-orang beriman akan selalu terus mempelajarinya, baik dari makhluk yang dapat dilihat hingga makhluk yang tidak dapat dilihat oleh mata telanjang, sehingga manfaat yang diberikan oleh Allah dalam setiap ciptaanNya dapat tersampaikan dan digunakan oleh manusia. Hewan-hewan atau makhluk hidup yang berukuran kecil seperti mikroba membutuhkan alat bantu untuk mengamatinya berupa mikroskop atau alat bantu lain, sehingga dapat diambil manfaat dan dapat untuk diaplikasikan sesuai manfaat dari makhluk tersebut.

Seluruh ilmu pengetahuan, pengembangan teknologi, dan teori yang terdapat di dunia ini sudah terjadi pada objek-objek yang diciptakan olehNya. Semua pengetahuan tersebut tidak diturunkan kepada manusia dengan instan. Oleh karena itu manusia diturunkan ke muka bumi dengan akal yang salah satunya digunakan untuk dapat menerima pengetahuan yang diturunkan oleh Allah SWT. Akal yang digunakan manusia dengan tujuan baik dan benar maka manusia tersebut akan diberikan hikmah dari setiap objek yang ada di sekelilingnya. Begitu dengan sebaliknya, bagi manusia yang tidak menggunakan akal dengan bijak atau tidak berfikir, maka tidak mendapatkan hikmah dari berbagai hal yang terjadi dan yang ada di sekelilingnya.

Allah SWT berfirman dalam Q.S An-Nahl ayat 13:

وَمَا ذَرَأْنَا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَعَايَةً لِّقَوْمٍ يَتَذَكَّرُونَ

Artinya:

“Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran” (Q.S. An-Nahl:13).

Allah SWT menciptakan manusia di muka bumi selalu disertai dengan fasilitas untuk memenuhi kebutuhannya. Menurut Al-Quthubi (2009) bahwa Allah SWT telah mengatur segala sesuatu di muka bumi untuk manusia. Allah SWT menciptakan fasilitas untuk manusia dengan berbagai jenis, bentuk, dan ukuran. Fasilitas tersebut dapat berupa binatang, tumbuhan, dan lainnya agar manusia dapat mengambil manfaat, hikmah, dan sebagai tanda menunjukkan kekuasaan Allah SWT.

BAL merupakan salah satu makhluk hidup yang diciptakan Allah SWT dengan berbagai manfaat. BAL dapat memproduksi EPS dalam proses metabolit sekunder. Untuk memaksimalkan hasil produksi EPS terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi diantaranya adalah jenis bakteri, lama fermentasi, suhu, pH, dan lainnya. Setiap kondisi memiliki batasan kadar optimum dalam memproduksi EPS.

Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya:

“Sungguh, Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran” (Q.S. Al-Qamar: 49).

Sesungguhnya Allah telah menciptakan segala sesuatu dalam takaran yang telah ditetapkan dan ditakdirkan. Semua hal yang terjadi dan tercipta di muka bumi telah didahului dan ditulis di Lauhul Mahfuzh. Menurut Shihab (2000) kata qadar

memiliki makna kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang, serta dapat diartikan sebagai ketentuan yang telah ditetapkan terhadap segala sesuatu. Penjelasan yang terdapat dalam tafsir Ibnu Katsir menyebutkan yakni Allah telah menentukan ukuran bagi setiap makhluknya dan pentunjuk kepada semua makhluk-Nya. Dengan firman-firman Allah SWT tersebut, para alim ulama' dan para imam telah memperlihatkan akan kebenaran dari takdir yang telah Allah tetapkan terhadap makhluk-Nya.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian ini didapatkan eksopolisakarida dengan rendemen rata-rata tertinggi oleh isolat C sebesar 11303,33 mg/L dengan kadar gula sebesar 81,23%, sedangkan hasil rendemen rata-rata terendah dihasilkan oleh isolat B sebesar 9550,00 mg/L dengan kadar gula sebesar 93,26%. Hasil FTIR pada EPS yang dihasilkan oleh isolat C menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, -C-H/-C-H₂, dan C-O-C secara berurutan pada bilangan gelombang 3444,987 cm⁻¹, 1670,995 cm⁻¹, 1341,291 cm⁻¹, dan 1013,25 cm⁻¹. Penelitian yang dilakukan terintegrasi dengan Al-Qur'an Surat An-Nahl ayat 8.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk optimasi produksi eksopolisakarida oleh isolat terpilih.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesulu-Dahunsi, A. T., Sanni, A. I., & Jeyaram, K. 2018. Production, characterization and in vitro antioxidant activities of exopolysaccharide from *Weissella cibaria* GA44. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 432–442.
- Al-Qurthubi, S. I. 2009. Tafsir Al Qurthubi. Jakarta: Pustaka Azzam
- Amalia, R. D. 2012. Eksplorasi Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Sawi Asin (*Brassica juncea*). (Skripsi). Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Anindita. 2002. Pembuatan Yakult Kacang Hijau. Kajian Tingkat Pengenceran dan Konsentrasi Sukrosa. (Skripsi). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Anton, N dan Zubaidah E. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Kimchi. *Jurnal Universitas Brawijaya Malang* 3 (2). 743-748.
- Apratiwi, N. 2016. Studi Penggunaan Uv-Vis Spectroscopy untuk Identifikasi Campuran Kopi Luwak dengan Kopi Arabika. *Skripsi*. Lampung: Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Asker, M. M. S., Sayed, O. H. E., Mahmoud, M. G., & Ramadan, M. F. 2014. Chemical Structure and Antioxidant Activity of a New Exopolysaccharide Produced from *Micrococcus luteus*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 12(2), 121-126.
- Azizah, F. R. 2019. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides*. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Badel, S., Bernardi, T., & Michaud, P. 2011. New Perspectives for Lactobacilli Exopolysaccharides. *Biotechnology advances*, 29(1), 54-66.
- Bramhachari, P. V., & Dubey, S. K. 2006. Isolation and characterization of exopolysaccharide produced by *Vibrio harveyi* strain VB23. *Letters in applied microbiology*, 43(5), 571-577.
- Bremer, P. J., & Geesey, G. G. 1991. An evaluation of biofilm development utilizing non-destructive attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Biofouling*, 3(2), 89-100.
- Carl, S. P. 1971. Microbiology and Food Fermentation. *The AVI Publishing Company Inc. Connecticut*.

- Cerning, J. 1990. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 7(1-2), 113-130.
- Cerning, J., Bouillanne, C., Landon, M., & Desmazeaud, M. 1992. Isolation and Characterization of Exopolysaccharides from Slime-Forming Mesophilic Lactic Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science*, 75(3), 692-699.
- Chilmawati, D., & Suminto, S. 2008. Penggunaan Media Kultur Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 4(1), 42-49.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.
- De Vuyst, L., & Degeest, B. 1999. Heteropolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 23(2), 153-177.
- De Vuyst, L., & De Vin, F. 2007. *Exopolysaccharides from lactic acid bacteria*.
- Diana, B. M. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Dari Tempoyak. (Skripsi). Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Dwidjoseputro D. 2005. Dasar – Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Djambatan
- Fahmia, A. R. 2017. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Inokulum Terhadap Produksi Eksopolisakarida Dari Tetes Tebu Oleh *Lactobacillus plantarum* dan Identifikasi dengan FTIR. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Departemen Pendidikan dan kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. *E-Book*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Farnworth, Edward R, Claude P. Champagne dan Marie-Rose Van Calsteren. 2007. *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods Second Edition Edited by Robert E. C. Wildman*. New York: CRC Press.
- Fitria, A. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarida dari Tetes Tebu oleh *Lactobacillus plantarum* dan Identifikasi Senyawa Gula Penyusunnya. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Feather, M. S., & Harris, J. F. 1973. Dehydration Reactions of Carbohydrates. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (Vol. 28, pp. 161-224).
- Franca, A. J. 2009. Fundamental principles of bacteriology. *E-Book*. Kogakusha Company, Ltd. Tokyo. PP812-817.
- Fu'adah, I. T. 2019. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Dari Fermentasi Kefir Kolostrum. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Guezennec, J. G., Pignet, P., Raguenes, G., Deslandes, E., Lijour, Y., & Gentric, E. 1994. Preliminary chemical characterization of unusual eubacterial exopolysaccharides of deep-sea origin. *Carbohydrate Polymers*, 24(4), 287–294.
- Halim, C. N., & Zubaidah, E. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 1(1), 129-137.
- Haroun, B. M., El-Menoufy, H. A., Amin, H. A., & El-Waseif, A. A. 2013. Biosynthesis and Morphology of an Exopolysaccharide from a Probiotic *Lactobacillus plantarum* Under Different Growth Condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(2), 1256-1265.
- Hart, H., craine, L.E. and Hart. D.J. 2003. Kimia Organik Edisi Kesebelas. Erlangga. Jakarta.
- Hartanto, Elke Novionalita. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Mandai Makanan Tradisional Nangka (*Artocarpus heterophyllus lamk*) Var. Salak, Gunung Pati. (Skripsi). Prodi Teknologi Pertanian Unika Soegijapranata.
- Hussein, M. H., Abou-ElWafa, G. S., Shaaban-Dessuuki, S. A., & Hassan, N. I. 2015. Characterization and Antioxidant Activity of Exopolysaccharide Secreted by *Nostoc carneum*. *Int J Pharm*, 11(5), 432-439.
- Jin, H., Jeong, Y., Yoo, S. H., Johnston, T. V., Ku, S., & Ji, G. E. 2019. Isolation and Characterization of High Exopolysaccharide-Producing *Weissella confusa* VP30 from Young Children's Feces. *Microbial cell factories*, 18(1), 110.
- Khopkar, S.M. 2008. Konsep Dasar Kimia Analitik. (Alih bahasa: A. Saptorahardjo). Jakarta: Ui Press.
- Kimmel, S. A., Roberts, R. F., & Ziegler, G. R. 1998. Optimization of Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* RR Grown in a Semidefined Medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(2), 659-664.

- Klinchongkon, K., Bunyakiat, T., Khuwijitjaru, P., & Adachi, S. 2019. Ethanol Precipitation of Mannooligosaccharides from Subcritical Water-Treated Coconut Meal Hydrolysate. *Food and Bioprocess Technology*.
- Kultsum, U. 2009. Pengaruh Variasi Nira Tebu dari Beberapa Varietas Penambahan Sumber N dari Tepung Kedelai Hitam Sebagai Substrat Terhadap Efisiensi Fementasi Etanol. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kusmawati, A., & Pratiwi, I. B. 2009. Pengambilan Polisakarida Acemannan dari Aloe Vera Menggunakan Etanol Sebagai Pengendap. (Skripsi). Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro.
- Kusmiati dan A. Malik. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 pada Berbagai Media. *Bulletin Kesehatan*. 6(1):1-7.
- Lailah, R., Syauqi, A., & Santoso, H. 2017. Aktivitas Jamur *Trichoderma viride* Pada Substrat Pasta Tepung Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Menggunakan Tolok Ukur Glukosa. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 3, 1-7.
- Lee, P. R., Boo, C. X., & Liu, S. Q. 2013. Fermentation of coconut water by probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* L10 and *Lactobacillus casei* L26. *Annals of microbiology*, 63(4), 1441-1450.
- Lehninger, A. I. 1997. *Biochemical Basics. Volume I (Revised Edition)*. Jakarta: Erlangga.
- Malaka, R. 1997. Effect of Curdlan, a Bacteria Polysaccharide on The Physical Properties and Microstructure of Acid Milk Curd by Lactic Acid Fermentation. (Doctoral dissertation, Master thesis). Faculty of Agriculture Miyazaki University.
- Malaka, Ratmawati. 2010. Eksopolisakarida Bakteri Starter Kultur Susu Fermentasi Sebagai Sumber Polisakarida Harapan Di Masa Depan. *Prosiding*. DOI: [10.13140/RG.2.2.23826.04803](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.23826.04803).
- Malik, A., Ariestanti, D. M., Nurfachtiyani, A., & Yanuar, A. 2010. Skrining gen glukosiltransferase (gtf) dari bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida. *Makara Journal of Science*.
- Malik, A., Sheilla, S., Firdausi, W., Handayani, T., & Saepudin, E. 2015. Sucrase activity and exopolysaccharide partial characterization from three *Weissella confusa* strains. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(3), 130-135.
- Ma'unatin, A., Harijono, H., Zubaidah, E., & Rifa'i, M. (2020). The isolation of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from lontar (*Borassus flabellifer* L.) sap. *Iranian Journal of Microbiology*, 12(5), 437-444.

- Mesomo, M., Silva, M. F., Boni, G., Padilha, F. F., Mazutti, M., Mossi, A., & Treichel, H. 2009. Xanthan Gum Produced by *Xanthomonas Campestris* from Cheese Whey: Production Optimisation and Rheological Characterisation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(14), 2440-2445.
- Mozzi, F., Torino, M. I., & de Valdez, G. F. 2001. Identification of Exopolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacteria. In *Food microbiology protocols* (pp. 183-190).
- Müller, V. 2001. Bacterial Fermentation. *Encyclopedia of Life Sciences*. doi:10.1038/npg.els.0001415.
- Mutia, U., dan Saleh, C. (2016). Uji Kadar Asam Laktat Pada Keju Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea L.*) Berdasarkan Variasi Waktu Dan Konsentrasi Bakteri *Lactobacillus Bulgaricus* Dan *Streptococcus Lactis*. *J. Kim. Mulawarman* 10.
- Nasution, F.S. 2012. Identifikasi dan Karakteristik Bakteri Asam laktat Pada Kotoran Ayam Broiler Sebagai Agensi Probiotik. (Skripsi). Universitas Negeri Medan.
- Nielsen, S. S. 2010. Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates. *Food analysis laboratory manual* (pp. 47-53). Springer, Boston, MA.
- Nudyanto, A., & Zubaidah, E. 2014. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Dari Kimchi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2).
- Nurhasanah, N., Fu'adah, I. T., Satria, H., & Yuwono, S. D. 2020. Analisis Eksopolisakarida dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kefir Kolostrum. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 5(1), 65-73.
- Nurhayani. 2000. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Biologi*. 6(1): 34-44.
- Oleksy-Sobczak, M., & Klewicka, E. 2019. Optimization of Media Composition to Maximize the Yield of Exopolysaccharides Production by *Lactobacillus rhamnosus* Strains. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-10.
- Paulo, E. M., Boffo, E. F., Branco, A., Valente, Â. M., Melo, I. S., Ferreira, A. G., & Assis, S. A. D. 2012. Production, extraction and characterization of exopolysaccharides produced by the native *Leuconostoc pseudomesenteroides* R2 strain. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84(2), 495-508.
- Pelczar, M. J. 2008. Dasar-dasar Mikrobiologi Sistem Fermentasi Cair. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 1(1), 139-149.
- Petrovici, A. R., Roșca, I., Dodi, G., Nicolescu, A., Avădanei, M., Varganici, C. D., & Ciolacu, D. 2017. Effects of culture medium composition on

biosynthesis of exopolysaccharides. *Cellulose Chemistry and Technology*, 51(9–10), 821-830.

- Petry, S., S. Furlan, M.J. Crepeau, J. Cerning, and M. Desmazeaud. 2000. Factors affecting exocellular polysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* grown in a chemically defined medium. *Appl. And Environment. Microbiol.* 66 (8): 3427 – 3431
- Pham P. L., Dupont I, Roy D, Lapointe G, dan Cerning J. 2000. Production of Exopolysaccharides by *Lactobacillus Rhamnosus* And Analysis of Its Enzymatic Degradation During Prolonged Fermentation. *Appl Environ Microbiol.* 66 (6): 2302–2310
- Polak-Berecka, M., Wasko, A., Szwajgier, D., & Choma, A. 2013. Bifidogenic and Antioxidant Activity of Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus rhamnosus* E/N Cultivated on Different Carbon Sources. *Polish journal of microbiology*, 62(2), 81-189.
- Rohaeti, E., Heryanto, R., Rafi, M., Wahyuningrum, A., & Darusman, L. K. 2011. Prediksi kadar flavonoid total tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) menggunakan kombinasi spektroskopi IR dengan regresi kuadrat terkecil parsial. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*.
- Ruas-Madiedo, P., & De Los Reyes-Gavilán, C. G. 2005. Invited Review: Methods for The Screening, Isolation, and Characterization of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria. *Journal of dairy science*, 88(3), 843-856.
- Ruiz, B., A. Chávez, A. Forero, Y. GarcíaHuante, A. Romero, and M. Sánchez. 2010. Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source. *Crit. Rev. Microbiol.*, 36: 146–167.
- Sabetsky, V. 2004. Oral Insulin Composition and Methods of Making and Using Thereof. *U.S. Patent Application*.
- Saif, F. A. A., & Sakr, E. A. 2020. Characterization and Bioactivities of Exopolysaccharide Produced from Probiotic *Lactobacillus plantarum* 47FE and *Lactobacillus pentosus* 68FE. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 24, 100231.
- Salminen, S., Von, W.A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., De Vos, W.M., Fonden, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, S.E., and Mattila-Sandholm, T. 2004. A Review-Demonstration of Safety Probiotics. *International Journal Food Microbiology*. 44(1-2): 93-106.
- Sankari, G., Krishnamoorthy, E., Jayakumaran, S., Gunasekaran, S., Priya, V. V., Subramaniam, S., ... & Mohan, S. K. 2010. Analysis of serum immunoglobulins using Fourier transform infrared spectral measurements. *Biology and Medicine*, 2(3), 42-48.

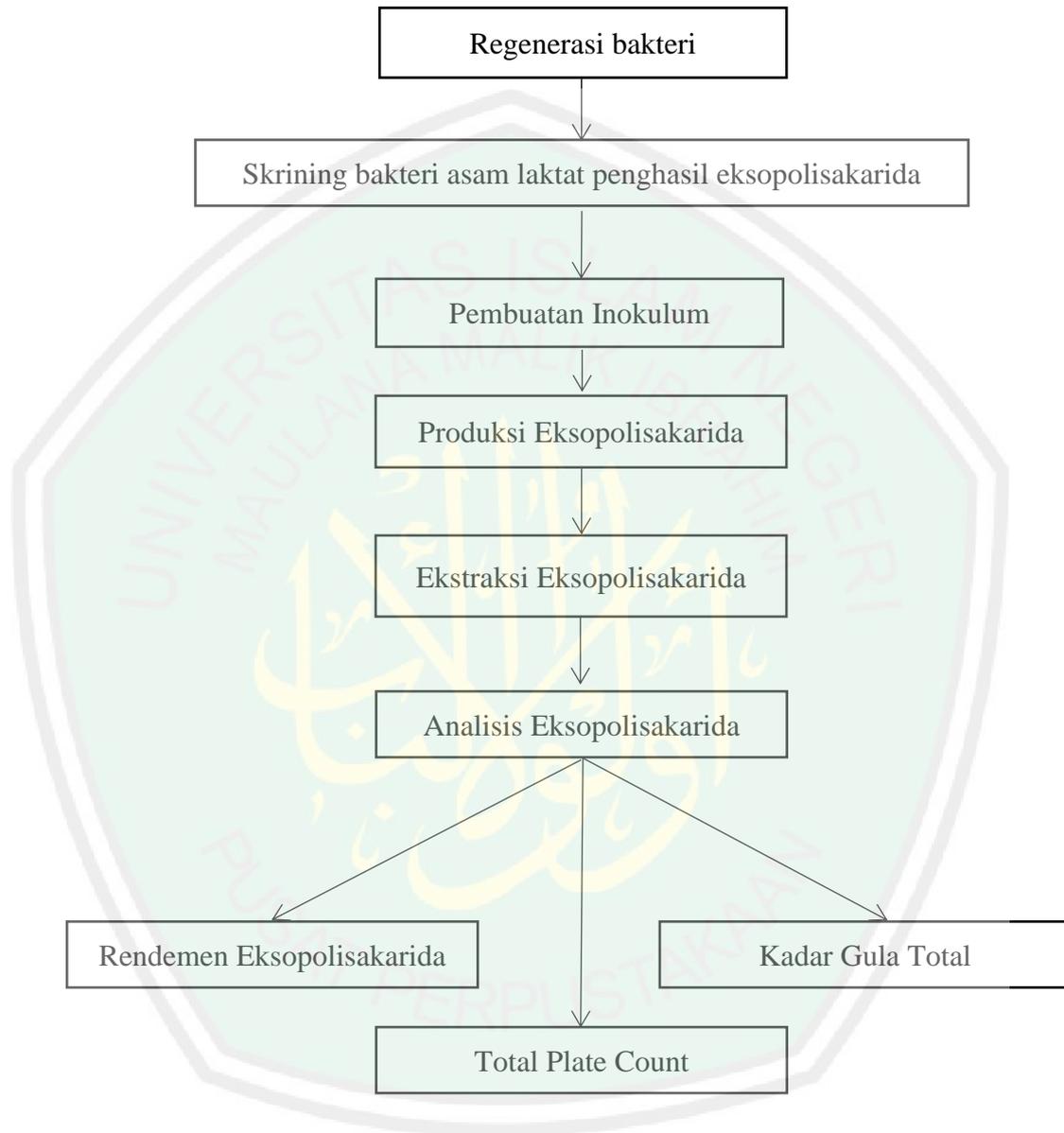
- Sari, Yuni Nurisva M., Sumaryati Syukur dan Jamsari. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi DNA Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Berpotensi sebagai Antimikroba Dari Fermentasi Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*). *Jurnal Kimia Universitas Andalas*. 2(2).
- Shihab, M. Quraish. 2000. *Tafsir al-Misbah*, Vol: 1, cet-10, Ciputat: Lentera Hati.
- Sivaraman, T., Kumar, T. K. S., Jayaraman, G., & Yu, C. 1997. The Mechanism of 2,2,2-Trichloroacetic Acid-Induced Protein Precipitation. *Journal of Protein Chemistry*, 16(04), 291–297.
- Sondakh, T.D., Joroh, D.N., Tulungen, A.G., Sumampow, D.M.F., Kapugu, L.B., dan Mamarimbing, R. (2012). Hasil kacang tanah (*Arachys hypogaea L.*) pada beberapa jenis pupuk organik. *Eugenia* 18.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Lampung: AURA.
- Sumarsih, S. 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: UPN Veteran
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: PT. Tri Cipta Karya.
- Sun, X., Hao, L., Ma, H., Li, T., Zheng, L., Ma, Z., & Jia, M. 2013. Extraction and in Vitro Antioxidant Activity of Exopolysaccharide by *Pleurotus eryngii* SI-02. *Brazilian journal of microbiology*, 44(4), 1081-1088.
- Suriyanti. 2018. Analisis Kuantitatif Kandungan Karbohidrat dengan Metode Asam Sulfat-Fenol dan Protein Dengan Metode Bradford Pada Biji Ketapang (*Terminalia catappa L.*). (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.
- Sutherland, I. W. 1977. Microbial Exopolysaccharide Synthesis. *Extracellular Microbial Polysaccharides*, 40–57.
- Sutherland, I. W. 2001. Microbial Polysaccharides from Gram-negative Bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 663-674.
- Stella, K.M. (2019). Pengaruh Varietas dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kefir Susu Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea*). *J. BisTek Pertan. Agribisnis Dan Teknol. Has. Pertan.* 6, 42–56.
- Tallon, R., Bressollier, P., & Urdaci, M. C. 2003. Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Research in Microbiology*, 154(10), 705-712.
- Tranggono, S. 1990. *Biokimia dan Teknologi Pasca Panen*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi, UGM.

- van Geel-Schutten, G. H., Flesch, F., Ten Brink, B., Smith, M. R., & Dijkhuizen, L. J. A. M. 1998. Screening and Characterization of *Lactobacillus* Strains Producing Large Amounts of Exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50(6), 697-703.
- van Hijum, S.F.A.T., Kralj, S., Ozimek, L.L., Dijkhuizen, L and van Geel-Schutten, G.H. 2009. Structure-function relationships of glucansucrase and fructansucrase enzymes from lactic acid bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 70 (1), 157-176.
- Vanhooren, P., & Vandamme, E. J. 1998. Biosynthesis, Physiological Role, Use and Fermentation Process Characteristics of Bacterial Exopolysaccharides. *Recent research developments in fermentation & bioengineering*, 253-300.
- Viel, M., Collet, F., & Lanos, C. 2018. Chemical and Multi-Physical Characterization of Agro-Resources' By-Product as a Possible Raw Building Material. *Industrial Crops and Products*, 120, 214-237.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. 2014. Characterization of a Novel Exopolysaccharide with Antitumor Activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International journal of biological macromolecules*, 63, 133-139.
- Wang, B., Song, Q., Zhao, F., Han, Y., & Zhou, Z. (2019). Production Optimization, Partial Characterization and Properties of an Exopolysaccharide from *Lactobacillus sakei* L3. *International journal of biological macromolecules*, 141, 21-28.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. 2014. Characterization of a Novel Exopolysaccharide with Antitumor Activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International journal of biological macromolecules*, 63, 133-139.
- Widodo, D. 2017. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., & Mulyati, S. 2014. Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 6(1), 24-28.
- Winahyu, D. A., & Primadhamanti, A. 2020. Bioaktivitas Antioksidan Lotion Senyawa Eksopolisakarida dari Mikroalga *Spirulina* sp. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 5(2), 169-177.
- Wiyantoko, Bayu., Rusitasari, Rika., Putri, Rahma Novia., dan Muhaimin, 2017, Identifikasi Glukosa Hasil Hidrolisis Serat Daun Nanas Menggunakan Metode Fenol-Asam Sulfat Secara Spektrofotometri UV-Visibel, Prosiding Seminar Nasional Kimia FMIPA UNESA Surabaya.

- Xu, R., Ma, S., Wang, Y., Liu, L., & Li, P. 2010. Screening, Identification and Statistic Optimization of a Novel Exopolysaccharide Producing *Lactobacillus paracasei* HCT. *African Journal of Microbiology Research*, 4(9), 783-795.
- Yunitasari, Gianjar. A. 2016. Analisis Kandungan Lemak Babi Pada Formulasi Krim Menggunakan Metode FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) Yang Dikombinasi Dengan Kemometrik. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Purwokerto: Purwokerto.
- Zahro', Fatimatuz. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Markisa Ungu (*Pasiflora edulis var. Sims*) Sebagai Penghasil Eksopolisakarida. (Skripsi). Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Zhao, D., Liu, L., Jiang, J., Guo, S., Ping, W., & Ge, J. 2020. The Response Surface Optimization of Exopolysaccharide Produced by *Weissella confusa* XG-3 and Its Rheological Property. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 1-9.
- Zisu, B., & Shah, N. P. 2003. Effects of pH, Temperature, Supplementation with Whey Protein Concentrate, and Adjunct Cultures on The Production of Exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *Journal of dairy science*, 86(11), 3405-3415.
- Zubaidah, E., Liasari, Y., & Saparianti, E. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 9(1).

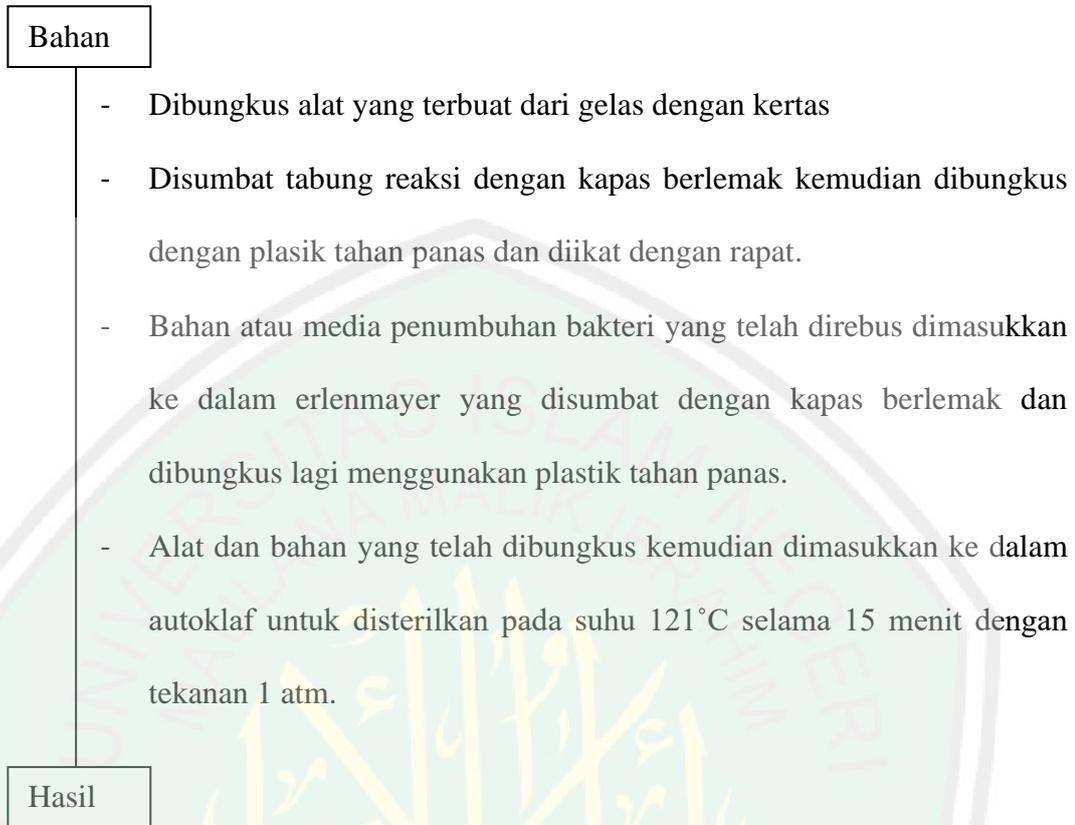
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



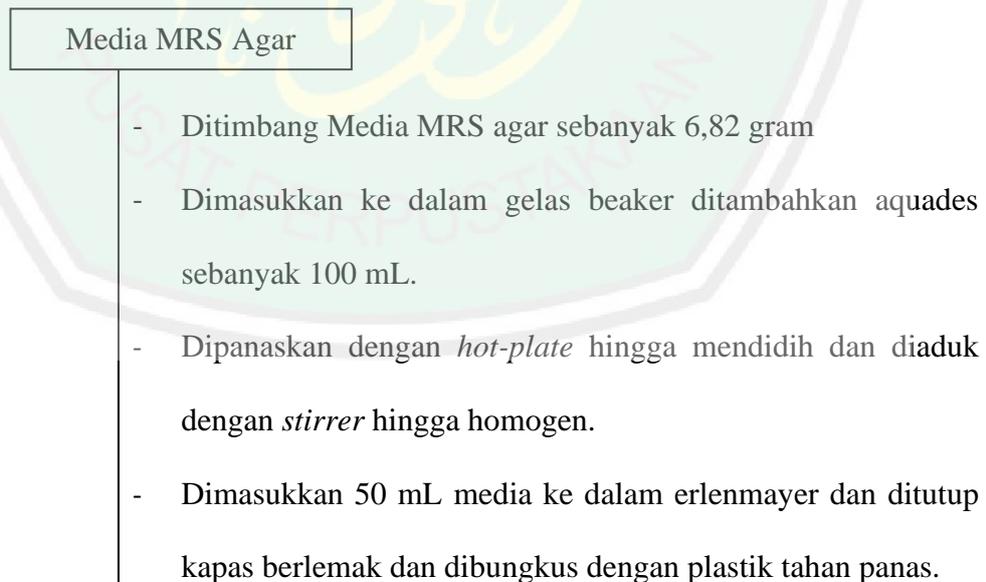
Lampiran 2. Diagram Alir

1. Sterilisasi Alat dan Bahan



2. Pembuatan Media

Media *de Man Rogosa and Sharpe* Agar (MRS Agar)



- Dimasukkan media ke dalam 10 tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL kemudian ditutup dengan kapas berlemak dan dibungkus dengan plastik tahan panas.
- Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

Hasil

Media MRS Agar-Sukrosa 2%

Media MRS Agar

- Ditimbang Media MRS agar sebanyak 6,82 gram.
- Ditimbang sukrosa sebanyak 2 gram.
- Dimasukkan ke dalam gelas beaker ditambahkan aquades sebanyak 100 mL.
- Dipanaskan dengan *hot-plate* hingga mendidih dan diaduk dengan *stirrer* hingga homogen.
- Dimasukkan media ke dalam erlenmayer dan ditutup kapas berlemak dan dibungkus dengan plastik tahan panas.
- Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

Hasil

Media MRS Agar-Sukrosa 10%

Media MRS Agar

- Ditimbang Media MRS agar sebanyak 6,82 gram.
- Ditimbang Sukrosa sebanyak 10 gram.

- Dimasukkan ke dalam gelas beaker ditambahkan aquades sebanyak 100 mL.
- Dipanaskan dengan *hot-plate* hingga mendidih dan diaduk dengan *stirrer* hingga homogen.
- Dimasukkan media ke dalam erlenmayer dan ditutup kapas berlemak dan dibungkus dengan plastik tahan panas.
- Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

Hasil

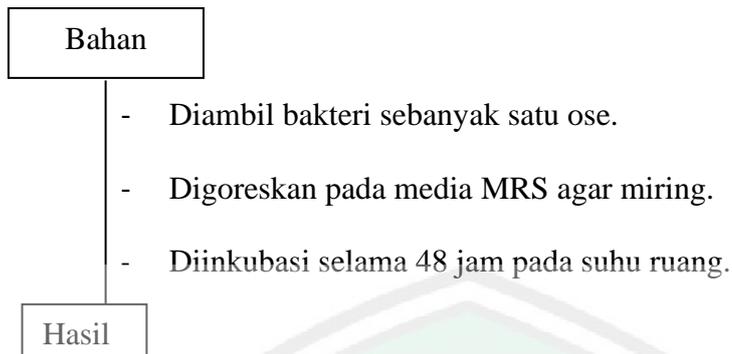
Media MRS Broth

Media MRS broth

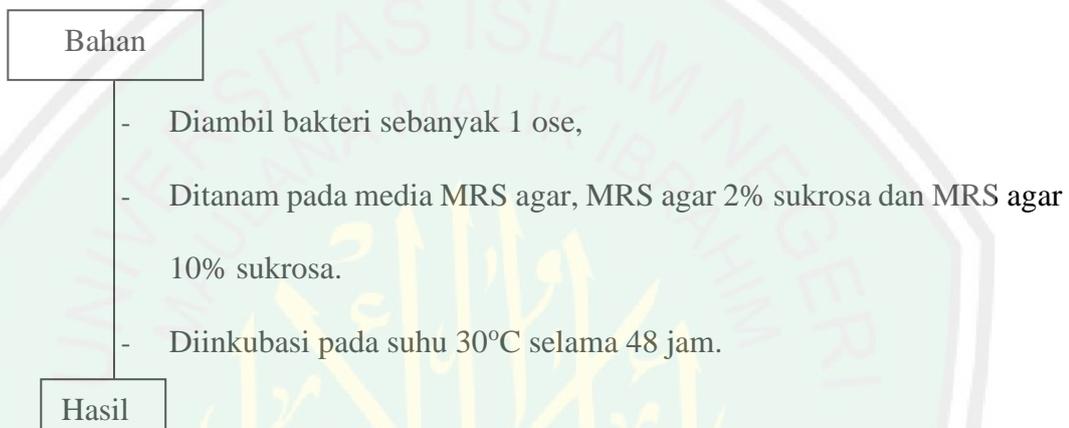
- Ditimbang Media MRS broth sebanyak 5,52 gram.
- Dimasukkan ke dalam gelas beaker ditambahkan aquades sebanyak 100 mL.
- Dipanaskan dengan *hot-plate* hingga mendidih dan diaduk dengan *stirrer* hingga homogen.
- Dimasukkan media ke dalam erlenmayer dan ditutup kapas berlemak dan dibungkus dengan plastik tahan panas.
- Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

Hasil

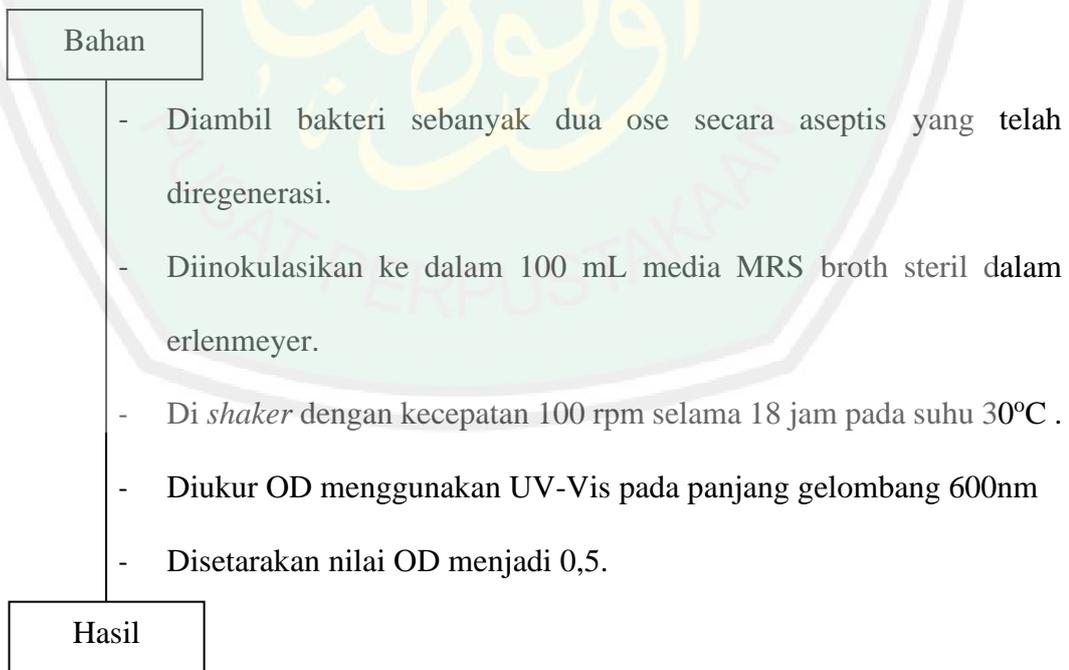
3. Regenerasi Bakteri



4. Skrining Bakteri Asam Laktat Penghasil Ekspolisakarida



5. Pembuatan inokulum



6. Produksi eksopolisakarida

Bahan

- Diambil inokulum kerja OD 0,5 sebanyak 2 mL.
- Ditambahkan ke dalam 40 mL MRS broth dengan penambahan 2% sukrosa.
- Diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.

Hasil

7. Ekstraksi Eksopolisakarida

Bahan

- Diambil inokulum setelah fermentasi sebanyak 20 mL.
- Ditambahkan 20 mL TCA.
- Dishaker dengan kecepatan 100 rpm selama 30 menit pada suhu ruang.
- Dimasukkan ke dalam tabung sentifuge.
- Disentrifugasi menggunakan sentrifuge dingin 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit.
- Diambil filtrat yang didapatkan mengandung EPS
- Ditambahkan etanol dingin 96% dua kali lipat dari sampel
- Dipisahkan pelet dan filtrat
- Dikeringbekukan menggunakan *freeze dry* selama 18 jam.
- Berat eksopolisakarida kering ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar EPS (g/L)} = \frac{\text{Berat eksopolisakarida (g)}}{\text{volume (L)}}$$

Hasil

8. Pengukuran *Total Plate Count* (TPC)

Bahan

- Diinokulasikan kultur bakteri sebanyak 1 mL ke dalam NaCl fisiologis 0,85% menggunakan metode bertingkat 10^{-10} .
- Dimasukkan 1 mL inokulum setelah fermentasi ke media MRS agar mulai dari 10^{-6} sampai pengenceran 10^{-10} lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang.

$$(\text{CFU/mL}) = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran (fp)}$$

Hasil

9. Analisis Kadar Total Gula menggunakan Metode Asam Sulfat-Fenol

9.1 Pembuatan Kurva Standar Kadar Gula Metode Asam Sulfat-Fenol

Bahan

- Diambil larutan glukosa stok 1000 ppm sebanyak 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 mL dimasukkan dalam gelas beaker.
- Dilarutkan dengan aquades, lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 mL dan ditandabatkan.
- Dimasukkan larutan glukosa yang sudah dibuat 2 mL ke dalam tabung reaksi masing-masing,
- Ditambahkan fenol 5% sebanyak 1 mL dan H_2SO_4 sebanyak 5 mL.

- Dipanaskan dalam penangas yang sudah mendidih selama 15 menit.
- Dihitung absorbansi larutan menggunakan instrument UV-Vis pada panjang gelombang 490nm.

Hasil

9.2 Penentuan Kadar Gula Metode Asam Sulfat-Fenol

Bahan

- Ditimbang eksopolisakarida yang sudah dikeringkan dan dihaluskan sebanyak 0,01 gram.
- dilarutkan dengan akuades, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan ditandabatkan.
- Dimasukkan larutan eksopolisakarida yang sudah dibuat sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi masing-masing,
- Ditambahkan fenol 5% sebanyak 1 mL dan H_2SO_4 sebanyak 5 mL.
- Dipanaskan dalam penangas yang sudah mendidih selama 15 menit.
- Dihitung absorbansi larutan menggunakan instrument UV-Vis pada panjang gelombang 490nm.

Hasil

10. Identifikasi Gugus Fungsi pada Eksopolisakarida menggunakan

FTIR

Bahan

- Ditumbuk 250 mg KBr dan sedikit eksopolisakarida
- Ditekan dalam cetakan hingga diperoleh pelet KBr.
- Eksopolisakarida kering dianalisa pada frekuensi 4000-400 cm^{-1} .

Hasil



Lampiran 3. Pembuatan Larutan

1. Pembuatan larutan Fenol 5% (b/v)

$$\text{Fenol 5\% (b/v)} = \frac{5 \text{ gram fenol}}{100 \text{ mL akuades}}$$

Cara pembuatan: 5 gram fenol ditimbang menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker 100 mL, dilarutkan dengan aquades kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditandabatkan dan dihomogenkan.

2. Pembuatan larutan NaCl 0,85 %

$$\text{NaCl 0,85\% (b/v)} = \frac{0,85 \text{ gram NaCl}}{100 \text{ mL akuades}}$$

Larutan NaCl dibuat dengan ditimbang 0,85 gram NaCl dengan neraca analitik, kemudian dilarutkan dengan aquades. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan.

3. Penentuan OD inokulum

Hasil penentuan OD₆₀₀ pada isolat terpilih ditunjukkan pada Tabel 3.1 yang kemudian disetarakan menjadi OD 0,5.

Tabel 3.1 Pengukuran OD Inokulum

Jenis Isolat	OD ₆₀₀
B	2,0892
C	2,1614
K	2,0730
L	2,1173

Perhitungan OD 0,5:

a. Isolat B:

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 2,0892 \times V_1 &= 0,5 \times 20 \text{ mL} \\ V_1 &= 4,79 \text{ mL} \end{aligned}$$

b. Isolat C

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 2,1614 \times V_1 &= 0,5 \times 20 \text{ mL} \\ V_1 &= 4,63 \text{ mL} \end{aligned}$$

c. Isolat K

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2,0730 \times V_1 = 0,5 \times 20 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4,82 \text{ mL}$$

d. Isolat L

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2,1173 \times V_1 = 0,5 \times 20 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4,72 \text{ mL}$$

4. Perhitungan Rendemen Eksopolisakarida

Hasil produksi eksopolisakarida dari fermentasi menggunakan media *de Man Rogosa and Sharpe broth* dengan penambahan sukrosa 2% ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Berat kering eksopolisakarida

Isolat	Berat Kering (mg)			Rata-rata (mg)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
B	148,5	199,6	224,9	191,00
C	207,6	238,3	232,3	226,07
K	196,4	202,3	243,1	213,93
L	208,4	153,9	223,2	195,17

Data pada tabel 3.1 digunakan untuk menentukan rendemen eksopolisakarida menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen eksopolisakarida (mg/L)} = \frac{\text{Berat kering eksopolisakarida (mg)}}{\text{Volume media (L)}}$$

Perhitungan rendemen digambarkan oleh isolat B pada ulangan 1:

$$\text{Rendemen eksopolisakarida (mg/L)} = \frac{148,5 \text{ mg}}{0,02 \text{ L}} = 7425,00 \text{ mg/L}$$

Rendemen eksopolisakarida ditunjukkan pada tabel 3.2.

Tabel 3.2 Rendemen rata-rata eksopolisakarida

Isolat	Rendemen (mg/L)			Rata-rata (mg/L)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
B	7425	9980	11245	9550,00
C	10380	11915	11615	11303,33
K	9820	10115	12155	10696,67
L	10420	7695	11160	9758,333

5. Pembuatan Konsentrasi Glukosa Standar 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm

$$\text{Glukosa stok (1000 ppm)} = \frac{100 \text{ mg glukosa anhidrat}}{0,1 \text{ L akuades}}$$

Cara pembuatan: ditimbang glukosa sebanyak 100 mg menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker kemudian dilarutkan dengan akuades. Dimasukkan larutan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditandabatkan dan dihomogenkan. Larutan ini digunakan sebagai larutan stok glukosa standar. Pembuatan larutan glukosa 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm dilakukan dengan pengenceran dari larutan glukosa stok dengan perhitungan sebagai berikut:

- a. Konsentrasi 10 ppm:
 $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
 $1000 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$
 $V_1 = 1 \text{ mL}$
- b. Konsentrasi 20 ppm
 $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
 $1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$
 $V_1 = 2 \text{ mL}$
- c. Konsentrasi 30 ppm
 $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
 $1000 \text{ ppm} \times V_1 = 30 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$
 $V_1 = 3 \text{ mL}$
- d. Konsentrasi 40 ppm
 $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
 $1000 \text{ ppm} \times V_1 = 40 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$
 $V_1 = 4 \text{ mL}$
- e. Konsentrasi 50 ppm
 $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

f. Konsentrasi 60 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

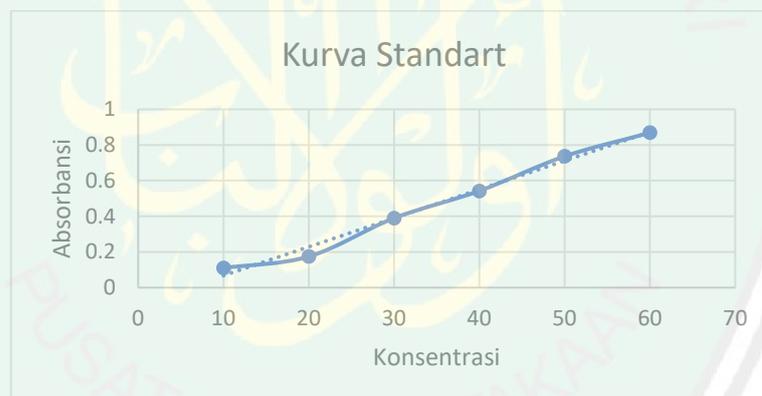
$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 60 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

6. Kurva Standar Glukosa

Tabel 4.1 Data absobansi glukosa

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,1098
20	0,1745
30	0,3897
40	0,5426
50	0,7365
60	0,8686



Gambar 4.1 Kurva Standar Larutan Glukosa

7. Analisis Kadar Gula Eksopolisakarida

Kadar gula total eksopolisakarida dilakukan dengan 0,01 mg EPS dilarutkan pada akuades 250 mL. Kemudian diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan fenol 5% sebanyak 2 mL dan asam sulfat pekat sebanyak 5 mL. Kemudian dipanaskan dengan penangas air mendidih selama 15 menit. Kemudian dihitung absorbansi

gula total menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Data hasil absorbansi gula total eksopolisakarida dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Kadar Gula Total Eksopolisakarida

Isolat	Absorbansi	
	Ulangan 1	Ulangan 2
B	0.4665	0.5487
C	0.387	0.4733
K	0.4773	0.5847
L	0.4711	0.4318

Data absorbansi sampel setelah fermentasi tersebut diplotkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar glukosa yaitu $y = 0,0161x - 0,093$ dengan y adalah absorbansi bahan baku dan x merupakan variable yang dicari yaitu konsentrasi gula yang terkandung dalam bahan baku sebelum fermentasi.

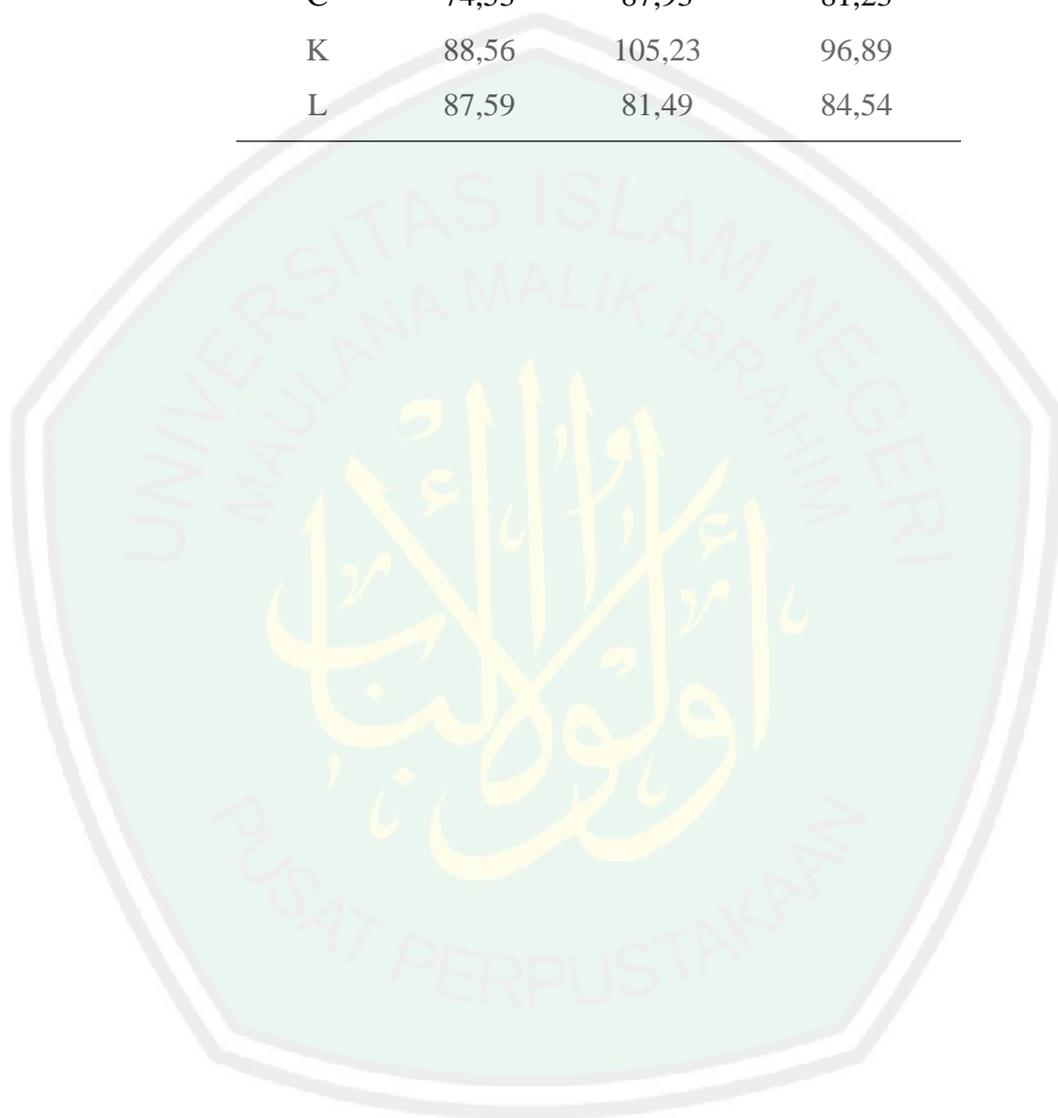
Perhitungan digambarkan seperti pada isolat B ulangan 1:

$$\begin{aligned}
 y &= 0,0161x - 0,093 \\
 0,4665 &= 0,0161x - 0,093 \\
 0,4665 + 0,093 &= 0,0161x \\
 x &= 34,75 \text{ ppm (Konsentrasi sesuai kurva)} \\
 \text{Konsentrasi analisa} &= \frac{10 \text{ mg}}{0,25 \text{ L}} \\
 &= 40 \text{ ppm} \\
 \text{Kadar Gula (\%)} &= \frac{\text{Konsentrasi kurva} \times 100\%}{\text{Konsentrasi analisa}} \\
 &= \frac{34,75 \times 100\%}{40} \\
 &= 86,88
 \end{aligned}$$

Kadar gula total eksopolisakarida dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Kadar gula total eksopolisakarida

Isolat	Kadar Gula Total (%)		Rata-rata (%)
	Ulangan 1	Ulangan 2	
B	86,88	99,64	93,26
C	74,53	87,93	81,23
K	88,56	105,23	96,89
L	87,59	81,49	84,54



Lampiran 4. Penghitungan Jumlah Bakteri Menggunakan Metode *Total Place Count* (TPC)

Tabel 4.1 Jumlah Sel Bakteri Isolat Inkolum Kerja (OD 0,5)

Pengenceran	Jumlah Sel Bakteri							
	Isolat B		Isolat C		Isolat K		Isolat L	
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan I	Ulangan II
10^{-6}	104	102	Sprider	Sprider	11	7	360	379
10^{-7}	14	7	228	233	1	1	54	59
10^{-8}	4	3	40	34	1	0	6	3
10^{-9}	0	0	2	1	0	0	0	0

Tabel 4.2 Jumlah Sel Bakteri Isolat Media Produksi

Pengenceran	Jumlah Sel Bakteri							
	Isolat B		Isolat C		Isolat K		Isolat L	
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan I	Ulangan II
10^{-6}	304	287	Sprider	Sprider	Sprider	Sprider	Sprider	Sprider
10^{-7}	60	25	Sprider	Sprider	Sprider	Sprider	Sprider	Sprider
10^{-8}	6	10	Sprider	Sprider	718	581	Sprider	652
10^{-9}	0	1	Sprider	Sprider	97	105	175	127
10^{-10}	-	-	35	139	11	19	11	12

Perhitungan jumlah sel bakteri inokulum kerja OD 0,5

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat B} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= (104 + 102)/2 \times 10^6 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 1,03 \times 10^9 \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat C} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= (228 \times 10^7 + 400 \times 10^7)/2 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 3,14 \times 10^{10} \text{ CFU/mL} \\ &= (233 \times 10^7 + 340 \times 10^7)/2 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 2,87 \times 10^{10} \text{ CFU/mL} \\ &= (3,14 + 2,87)/2 \times 10^{-10} \text{ CFU/mL} = 3,01 \times 10^{10} \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat K} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= (11 + 7)/2 \times 10^6 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 9,5 \times 10^7 \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat L} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= (54 + 59)/2 \times 10^7 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 5,65 \times 10^9 \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

Perhitungan jumlah sel bakteri media produksi

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat B} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= 287 \times 10^6 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 2,87 \times 10^9 \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat C} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= (35 + 139)/2 \times 10^{10} \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 8,7 \times 10^{12} \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat K} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= (97 + 105)/2 \times 10^9 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 1,01 \times 10^{12} \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Sel Isolat L} &= \text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran (fp)} \\ &= (175 + 127)/2 \times 10^9 \text{ CFU}/0,1 \text{ mL} = 1,51 \times 10^{11} \text{ CFU/mL} \end{aligned}$$

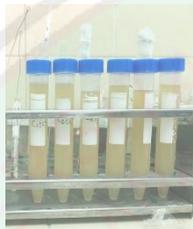
Lampiran 5. Dokumentasi



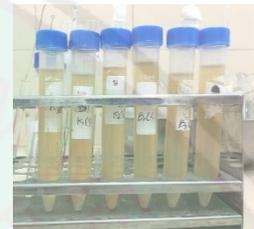
Inokulum kerja (OD 0,5)



Setelah penambahan TCA



Media produksi sebelum sentrifuse



Media produksi sebelum sentrifuse



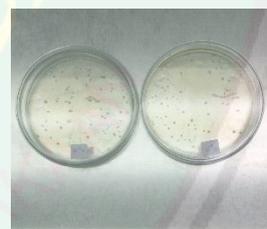
Eksopolisakarida sebelum dikeringkan



Eksopolisakarida sesudah dikeringkan



Uji Sulfat-Fenol



Penghitungan total sel bakteri