

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

Oleh :
HANNAN ADI WIDODO
NIM. 16630063



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI EKSOPOLISAKARIDA OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

**Oleh:
HANNAN ADI WIDODO
NIM. 166300633**

**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)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI EKSOPOLISAKARIDA OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

**Oleh:
Hannan Adi Widodo
NIM. 16630063**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Pada tanggal 24 Oktober 2021**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.
NIPT. 20142011409**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



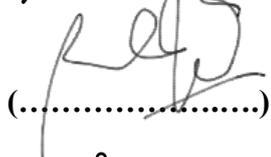
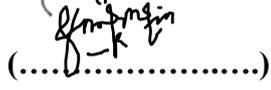
**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 2008012 010**

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI EKSOPOLISAKARIDA OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

Oleh :
HANNAN ADI WIDODO
NIM. 16630063

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 24 Oktober 2021**

Penguji Utama	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	()
Ketua Penguji	: Rif'atul Mahmudah, M.Si NIDT. 19830125 20160801 2 068	()
Sekretaris Penguji	: Anik Maunatin, S.T., M.P NIDT. 19760105 20180201 2 248	()
Anggota Penguji	: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I. NIPT. 20142011409	()

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 2008012 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Hannan Adi Widodo
NIM : 16630063
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi Sukrosa pada Air Kelapa Terhadap
Produksi Eksopolisakarida oleh *Weissella confusa*

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 atas perbuatan tersebut.

Malang, 24 Oktober 2021
Yang membuat pernyataan



Hannan Adi Widodo
NIM. 16630063

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Orang tua yaitu Bapak Sukadi yang telah memberi dukungan dan pelajaran hidup untuk menghadapi segala permasalahan dengan baik dan Ibu Muryati yang melahirkan dan mengasihi saya dengan sepenuh hati serta Ibu Poetri Widiyandari yang telah menjadi sosok ibu yang sangat luar biasa dalam merawat dan mendidik saya menjadi pribadi yang lebih baik.

Tidak lupa untuk adik saya Saidatul Imas Adi Putri yang saya sayangi yang selalu memberikan dukungan moril sebagai motivasi dalam menyelesaikan tugas akhir.

Terakhir untuk diri saya sendiri yang sudah sampai di titik ini dengan segala bantuan dan kasih sayang dari keluarga saya.

Motto

“syukuri apa yang kita miliki saat ini, karena kita tidak pernah tau apa yang akan terjadi dikemudian hari”

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang, atas segala nikmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Konsentrasi Sukrosa pada Air Kelapa terhadap Produksi Ekspolisakarida oleh *Weissella confusa*”** dengan sebaik mungkin. Shalawat serta salam selalu penulis haturkan pada Nabi Muhammad Saw. yang menjadi suri tauladan bagi kita semua dan yang telah membimbing kita dari zaman jahiliyah menuju zaman islamiyah seperti sekarang ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan terwujud tanpa adanya bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ayah dan Ibu tercinta atas segala do'a, usaha, dan cinta kasih yang tiada henti diberikan kepada penulis sehingga mampu memberikan motivasi dan semangat yang sangat berarti bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Anik Maunatin, S.T., M.P, dan Bapak Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I. selaku dosen pembimbing dan konsultan yang telah memberikan banyak arahan, masukan, serta motivasi dalam membimbing penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
3. Seluruh dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi penulis.
4. Seluruh laboran dan staf administrasi kimia atas segala kontribusinya.
5. Teman-teman mahasiswa angkatan 2016, terutama teman-teman *“Biokim Squad”* yang telah banyak membantu penulis dan memberikan dukungan dalam menyusun skripsi ini.

6. Teman-teman yang selalu menemani dan membantu dalam pengerjaan skripsi ini sehingga penulis menjadi lebih termotivasi dan dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
7. Kepada semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materil.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat menjadi sarana pembuka tabir ilmu pengetahuan baru dan bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Malang, 24 Oktober 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
مستخلص البحث	xv
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	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Air Kelapa	8
2.2 Bakteri Asam Laktat	11
2.3 <i>Weissella confusa</i>	12
2.4 Eksopolisakarida (EPS)	13
2.5 Biosintesis Eksopolisakarida.....	15
2.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Eksopolisakarida	17
2.7 Pengukuran Kadar Gula Total dengan Metode Asam Sulfat-Fenol	20
2.8 Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	21
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	24
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.2.1 Alat.....	24
3.2.2 Bahan	24
3.3 Rancangan Penelitian.....	25
3.4 Tahapan Penelitian.....	25
3.5 Pelaksanaan Penelitian	26
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	26
3.5.2 Preparasi Air Kelapa	26
3.5.3 Pembuatan media	26
3.5.3.1 Pembuatan Media MRSA	26
3.5.3.2 Pembuatan Media MRSB.....	27
3.5.4 <i>Regenerasi Weissella confusa</i>	27

3.5.5 Pembuatan Inokulum	27
3.5.6 Produksi Eksopolisakarida, Pengaruh Penambahan Sukrosa terhadap Produksi Eksopolisakarida dari Air Kelapa	28
3.5.7 Ekstraksi Eksopolisakarida dari Media Fermentasi Air Kelapa	28
3.5.8 Uji Kadar Gula Total dengan Metode asam sulfat-fenol	29
3.8.1 Pembuatan Kurva Standar dengan Metode asam sulfat-fenol	29
3.8.2 Penetapan Kadar Gula Total dengan Metode asam sulfat-fenol	29
3.5.9 Identifikasi profil gugus fungsi eksopolisakarida <i>menggunakan</i> <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>	30
3.5.10 Analisis Data	30
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Air Kelapa	31
4.2 Pembuatan Media de Man Rogose Sharpe Agar (MRSA) dan de Man Rogose Sharpe Agar (MRSB).....	32
4.3 Regenerasi <i>Weissella confusa</i>	33
4.4 Pembuatan Inokulum	34
4.5 Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Produksi Eksopolisakarida	35
4.6 Analisis Kadar Gula Total EPS.....	38
4.7 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida menggunakan Spektrofotometer FTIR	39
4.8 Prespektif Islam	41
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran	44
 DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur Biosintesis EPS.....	16
Gambar 2.2 Reaksi Penentuan Kadar Gula Total Metode Sulfat-fenol.....	21
Gambar 2.3 Spektroskopi FTIR Varian 1000 FT.....	22
Gambar 2.4 Spektrum FTIR EPS dari <i>Weissella cobarica GA44</i>	23
Gambar 4.1 Kurva Standar Glukosa	32
Gambar 4.2 Hasil Regenerasi <i>Weissella confusa</i>	34
Gambar 4.3 Reaksi TCA dengan Protein.....	35
Gambar 4.4 Eksopolisakarida Hasil Fermentasi	36
Gambar 4.5 Spektra FTIR EPS oleh <i>Weissella confusa</i>	40

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rata-rata Rendemen Eksopolisakarida	37
Tabel 4.2 Rata-rata Gula Total Eksopolisakarida	39
Tabel 4.3 Gugus Fungsi dari Spektra FTIR	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	49
Lampiran 2. Skema Kerja	50
Lampiran 3. Perhitungan.....	57
Lampiran 4. Hasil Analisis SPSS.....	64
Lampiran 5. Dokumentasi.....	68

ABSTRAK

Widodo, Hannan Adi. 2019. **Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Weissella confusa***. Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Anik Maunatin S.T., M.P. Pembimbing II: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Kata kunci: Eksopolisakarida (EPS), *Weissella confusa*, air kelapa, konsentrasi sukrosa, *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polimer yang disekresikan oleh mikroba ke lingkungan pertumbuhannya. EPS memiliki banyak manfaat baik dalam bidang pangan maupun kesehatan. Salah satu bakteri asam laktat (BAL) yang mampu memproduksi EPS dalam jumlah tinggi dengan penambahan sukrosa adalah *Weissella confusa*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sukrosa yang ditambahkan pada air kelapa terhadap produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* serta profil gugus fungsi dari EPS yang dihasilkan.

Produksi EPS dilakukan menggunakan media alternatif berupa air kelapa. Penambahan sumber gula diperlukan karena dalam produksi EPS memerlukan sumber karbon yang tinggi. Rancangan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu penambahan sukrosa dengan konsentrasi 8%, 12%, 16% dan 20%. Proses fermentasi dilakukan pada kondisi pH media 6,5 dengan penambahan inokulum kerja sebanyak 5% dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Analisa yang dilakukan meliputi perhitungan rendemen EPS dengan metode gravimetri, kadar gula total EPS metode sulfat fenol dan identifikasi profil gugus fungsi EPS menggunakan FTIR. Data yang didapatkan dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* (α 0,05).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa EPS dengan rendemen rata-rata tertinggi dihasilkan pada penambahan sukrosa 20% yaitu sebesar 3,27 g/L dengan kadar gula total 85,77%. Sedangkan hasil EPS terendah didapat pada penambahan sukrosa 8% yaitu 2,23 g/L dengan kadar gula total 79,48%. Uji statistik menunjukkan adanya beda nyata pada penambahan konsentrasi sukrosa terhadap produksi EPS ($\text{sig} < 0,05$), namun tidak menunjukkan adanya beda nyata terhadap kadar gula total dari EPS yang dihasilkan ($\text{sig} > 0,05$). Hasil FTIR pada EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C-H, C=O, H-C-H dan C-O-C secara berurutan pada bilangan gelombang 3420,06 cm^{-1} , 2923,73 cm^{-1} , 1644,42 cm^{-1} , 1416,23 cm^{-1} , dan 1021,17 cm^{-1} .

ABSTRACT

Widodo, Hannan Adi. 2019. **The Effect of Sucrose Addition to Coconut Water on Exopolysaccharide Production by *Weissella confusa***. Thesis. Department of Chemistry. Faculty of Science and Technology UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Anik Maunatin S.T., M.P. Supervisor II: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Key word: *Exopolysaccharide* (EPS), *Weissella confusa*, *coconut water*, *sucrose concentration*, *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

Exopolysaccharides (EPS) are polymers that are secreted by microbes into their growth environment. EPS has many benefits both in the field of food and health. One of the lactic acid bacteria (LAB) capable of producing high amounts of EPS with the addition of sucrose is *Weissella confusa*. This research was conducted to determine the effect of the concentration of sucrose added to the air on the production of exopolysaccharides by *Weissella confusa* and its function.

EPS production is carried out using alternative media such as coconut water. The addition of a sugar source is needed because the production of EPS requires a high carbon source. The design in this study used a single factor Completely Randomized Design (CRD) namely the addition of sucrose with variations of 8%, 12%, 16% and 20%. The fermentation process was carried out at a pH of 6.5 with the addition of 5% working inoculum and incubated for 24 hours at 37°C. The analysis includes the calculation of EPS yield by gravimetric method, total sugar content of EPS by phenol sulfate method and identification of EPS functional groups using FTIR. The data obtained were analyzed using One Way ANOVA test (α 0.05).

The results of this study showed that the EPS with the highest average yield was produced by the addition of 20% sucrose, which was 3.27 g/L with a total sugar content of 85.77%. g/L with a total sugar content of 79.48%. While the lowest EPS results were obtained with the addition of 8% sucrose, namely 2.23 g/L with a total sugar content of 79.48%. Statistical tests showed that there was a significant difference in the addition of sucrose concentration to the production of EPS ($\text{sig} < 0.05$), but did not show a significant difference in the total sugar content of the resulting EPS ($\text{sig} > 0.05$). FTIR results on EPS produced by *Weissella confusa* showed the presence of functional groups OH, CH, C=O, HCH and COC respectively at wave numbers 3420.06 cm^{-1} , 2923.73 cm^{-1} , 1644.42 cm^{-1} , 1416.23 cm^{-1} , and 1021.17 cm^{-1} .

مستخلص البحث

ويدودو ، حنان عدي. 2019. تأثير إضافة السكر في ماء جوز الهند على إنتاج عديدات السكاريد الخارجية بواسطة *فايسيللا كونفوسا (Weissella confusa)*. البحث العلمي. قسم الكيمياء. كلية العلوم و التكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك ابراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: أنيك معونة م. ف. الماجستير ؛ المشرف الثاني: الدكتور. م. مخلص فخر الدين الماجستير.

الكلمات المفتاحية: عديدات السكاريد الخارجية ، فايسيللا كونفوسا ، ماء جوز الهند ، تركيز السكر ، تحويل فورييه للأشعة تحت الحمراء.

عديدات السكاريد الخارجية عبارة عن بوليمرات تفرزها الميكروبات في بيئة نموها. يحتوي عديدات السكاريد على العديد من الفوائد في كل من الغذاء والصحة.. يعتبر فايسيللا كونفوسا من بكتيريا حمض اللاكتيك القادرة على إنتاج كميات عالية من عديدات السكاريد الخارجية مع إضافة السكر. تم إجراء هذا البحث لتحديد تأثير تركيز السكر المضاف إلى ماء جوز الهند على إنتاج السكريات الخارجية بواسطة فايسيللا كونفوسا (*Weissella confusa*) و ملف المجموعات الوظيفية لعديدات السكاريد الخارجية الناتج.

يتم إنتاج عديدات السكاريد الخارجية باستخدام وسائط بديلة مثل ماء جوز الهند. هناك حاجة إلى إضافة مصدر سكر لأن إنتاج عديدات السكاريد الخارجية يتطلب مصدرًا عاليًا للكربون. استخدم التصميم في هذه الدراسة عاملاً واحدًا للتصميم العشوائي الكامل و هو إضافة السكر بتغيرات 8% و 12% و 16% و 20%. تم إجراء عملية التخمير عند درجة حموضة 6.5 مع إضافة 5% لقاح عامل وحضنت لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية. يتضمن التحليل حساب محصول عديدات السكاريد الخارجية بطريقة قياس الجاذبية ، ومحتوى السكر الكلي لعديدات السكاريد الخارجية بطريقة كبريتات الفينول و تحديد مجموعات عديدات السكاريد الخارجية الوظيفية باستخدام تحويل فورييه للأشعة تحت الحمراء. تم تحليل البيانات التي تم الحصول عليها باستخدام اختبار ANOVA أحادي الاتجاه ($\alpha 0,05$).

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن عديدات السكاريد الخارجية مع أعلى متوسط إنتاجية تم إنتاجه بإضافة 20% سكر و التي كانت 3.27 جم / لتر بمحتوى سكر إجمالي 85.77%. بينما تم الحصول على أقل نتائج عديدات السكاريد الخارجية بإضافة 8% سكر أي 2.23 جم / لتر بمحتوى سكر إجمالي 79.48%. أظهرت الاختبارات الإحصائية وجود فرق معنوي في إضافة تركيز السكر إلى إنتاج عديدات السكاريد الخارجية ($\text{sig} < 0,05$) ، لكنها لم تظهر فرقاً معنوياً في محتوى السكر الكلي ل عديدات السكاريد الخارجية الناتج ($\text{sig} > 0,05$). أظهرت نتائج تحويل فورييه للأشعة تحت الحمراء على عديدات السكاريد الخارجية التي أنتجها فايسيللا كونفوسا وجود مجموعات وظيفية O-H و C-H و C=O و H-C-H و C-O-C على التوالي عند أرقام الموجات 3420.06 سم⁻¹ ، 2923.73 سم⁻¹ ، 1644.42 سم⁻¹ ، 1416.23 سم⁻¹ ، و 1021.17 سم⁻¹.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eksopolisakarida merupakan suatu polimer yang disintesis melalui jalur metabolisme mikroorganisme termasuk bakteri, jamur dan *cyanobacteria* (Li dkk., 2020). EPS memiliki banyak manfaat dalam bidang pangan maupun kesehatan. Beberapa manfaat EPS antara lain sebagai stabilisator, pengental, emulator, pembentuk gel, dan memiliki kemampuan mengikat air yang baik sehingga dapat mempertahankan tekstur agar tetap lembut selama penyimpanan (Zubaidah, 2008). selain itu, EPS juga bermanfaat bagi kesehatan manusia karena memiliki aktivitas biologis imunomodulator, aktivitas antitumor dan antimutagenisitas (Nehal dkk., 2019). Penggunaan eksopolisakarida sebagai imunomodulator telah banyak dilakukan yang dibuktikan secara *in vitro* dan *in vivo* pada hewan uji tikus dan mencit, dan diperoleh hasil berupa peningkatan aktivitas makrofag, produksi sitokin serta mampu menstimulasi pembentukan IgA (Mundiri dkk., 2020).

Salah satu jenis bakteri yang dapat menghasilkan EPS adalah bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora, tahan terhadap asam dan bersifat fakultatif anaerob. Sebagian besar BAL merupakan bakteri non patogen dan termasuk dalam kelompok bakteri yang memiliki status *generally recognized as safe* (GRAS) (Widodo dkk., 2019). BAL dapat menghasilkan EPS dengan membutuhkan substrat yang mengandung glukosa, sukrosa, dan fruktosa sebagai sumber karbon demi menunjang hasil fermentasi (Fifendy dkk., 2013). EPS yang dihasilkan dari BAL memiliki risiko

kontaminasi toksik yang kecil sehingga dapat diaplikasikan pada makanan karena EPS aman dikonsumsi oleh manusia. Oleh karena itu, EPS dari BAL banyak dieksplorasi untuk berbagai aplikasi termasuk dalam produk makanan, bioemulsifier, dan produk kimia (Li dkk., 2020).

Air kelapa merupakan salah satu bagian dari tanaman kelapa yang sangat bermanfaat. Menurut Prastowo (2008) air kelapa mengandung nutrisi yang kompleks seperti gula, natrium, kalium, kalsium, magnesium, besi, dan tembaga sehingga cocok sebagai media untuk produksi EPS. Air kelapa tua mengandung air sebanyak 91,23%, protein 0,29%, lemak 0,15%, karbohidrat 7,27% dan abu 1,06% (Putri, 2019). Selain itu air kelapa juga mengandung gula reduksi sekitar 1,7-2,6% yang bermanfaat untuk fermentasi BAL. Air kelapa apabila tidak dimanfaatkan dengan baik dapat mencemari lingkungan karena cepat berubah menjadi asam dan berbau menyengat. Salah satu pabrik kelapa parut kering di Sulawesi Utara dapat menghasilkan air kelapa yang terbuang percuma sekitar 30.000 liter/hari (Putri, 2019). Mengingat kandungan nutrisi air kelapa yang tinggi maka dapat digunakan sebagai media alternatif dalam produksi eksopolisakarida oleh BAL.

Nutrisi sumber nitrogen yang umum digunakan dalam produksi EPS yaitu *yeast extract*, *peptone*, dan *beef extract*. Jenis nutrisi ini merupakan komponen yang cukup mahal sehingga dalam upaya mengurangi biaya produksi EPS digunakan air kelapa sebagai media alternatif untuk mengurangi penggunaan sumber nitrogen ini (Seesuriyachan dkk., 2011). Penelitian Seesuriyachan dkk., (2011) menunjukkan bahwa produksi EPS oleh *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 menggunakan media air kelapa dengan penambahan sukrosa 2% dapat

mengurangi penggunaan sumber nitrogen sebesar 50% dan menghasilkan EPS tertinggi sebesar 12,3 g/L. Sedangkan pada penelitian Azizah (2019) menunjukkan bahwa produksi EPS oleh *Leuconostoc mesenteroides* dengan air kelapa menghasilkan kadar EPS maksimum pada penambahan sukrosa 3% dengan kadar EPS yang dihasilkan sebesar 3,6 g/L. Selain itu Karlinda (2019) juga melakukan penelitian menggunakan air kelapa sebagai media produksi EPS dengan *Leuconostoc mesenteroides* tanpa menggunakan *trichloroacetic acid* (TCA) untuk mengendapkan protein menunjukkan bahwa produksi maksimal EPS dihasilkan pada penambahan sukrosa 25% dengan kadar total EPS sebesar 3,809 g/L.

Salah satu bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan EPS dengan jumlah tinggi yaitu *Weissella confusa*. *Weissella confusa* merupakan bakteri asam laktat, *heterofermentative* dan biasanya menghasilkan EPS dengan penambahan sukrosa sebagai sumber karbonnya (Tayuan dkk., 2011). Sukrosa merupakan sumber karbon yang baik untuk produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* jika dibandingkan dengan gula yang lain (Wongsuphachat, 2010). Penelitian Jin (2019) menunjukkan bahwa produksi EPS maksimum oleh *Weissella confusa* dihasilkan pada penambahan sukrosa sebesar 10% dengan total EPS sebesar 59.99 g/L. Penelitian lain menunjukkan produksi EPS tertinggi yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* menggunakan media MRS didapatkan pada penambahan sukrosa sebesar 5% dengan total EPS sebesar 8,65 g/L (Tayuan dkk., 2011). Sedangkan penelitian Adesulu-dahunsi dkk., (2018) menunjukkan bahwa produksi EPS tertinggi oleh *Weissella confusa* OF126 menggunakan media MRS dihasilkan pada penambahan sukrosa 2,4 % dengan total EPS sebesar 3 g/L.

Al-Qur'an merupakan pedoman hidup bagi seluruh umat islam di dunia. Al-Qur'an mengajarkan pada kita untuk selalu belajar dan mengembangkan ilmu pengetahuan sebagaimana yang ditunjukkan pada ayat pertama yang turun yaitu surat al alaq ayat 1.

أَقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ

Artinya : “bacalah dengan menyebut nama tuhanmu” (QS. AL Alaq 96/1)

Ayat di atas mengajarkan pada kita untuk membaca yang artinya kita diperintahkan untuk belajar. Banyak sekali hal yang dapat kita pelajari dalam kehidupan sekarang ini seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi sehingga memudahkan kita untuk mempelajari semua keagungan Allah SWT. Sejatinya semua ilmu pengetahuan dan fenomena yang ada sekarang ini telah disebutkan dalam Al-Quran namun kita sebagai manusia baru mampu membuktikannya. Salah satu bukti keagungan Allah adalah dengan menciptakan mikroorganisme yang ternyata memiliki banyak sekali manfaat dalam kehidupan sebagaimana yang telah dijelaskan pada paragraf sebelumnya.

Kewajiban untuk membaca dan belajar juga mengharuskan kita untuk mengembangkan ilmu pengetahuan serta mengatasi berbagai permasalahan dalam kehidupan. Salah satu permasalahan yang cukup besar dalam kehidupan adalah pencemaran lingkungan yang secara perlahan akan merusak lingkungan tempat tinggal kita. Sebagian besar pencemaran lingkungan yang terjadi disebabkan oleh limbah yang dibuang oleh manusia sendiri sehingga sejatinya kita lah yang merusak lingkungan kita sendiri. Allah berfirman dalam surat al-Qashash ayat 77

وَأَبْتَعْ فِيمَا ءَاتَكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ وَلَا تَنْسَ نَصِيْبَكَ مِنَ الدُّنْيَا وَأَحْسِنَ كَمَا أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ وَلَا تَبْغِ الْفُسَادَ فِي الْأَرْضِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ

Artinya : Dan carilah (pahala) negeri akhirat dengan apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu, tetapi janganlah kamu lupakan bagianmu di dunia dan berbuatbaiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi. Sungguh, Allah tidak menyukai orang yang berbuat kerusakan.

Berdasarkan ayat di atas menunjukkan bahwa Allah SWT melarang hambanya untuk berbuat kerusakan dimuka bumi. Hal ini berarti manusia sebagai makhluk serta pemimpin di muka bumi wajib untuk menjaga dan memelihara alam. Salah satu hal yang dapat kita lakukan adalah menggunakan bahan-bahan bekas/limbah untuk dimanfaatkan kembali sehingga tidak mencemari lingkungan. Air kelapa merupakan salah satu limbah yang sangat berlimpah di Indonesia yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan produk makanan atau sebagai media untuk pertumbuhan bakteri. Air kelapa dapat digunakan sebagai media dalam pertumbuhan bakteri karena mengandung nutrisi yang kompleks bagi pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan maka diperlukan penelitian untuk produksi EPS oleh *Weissella confusa* dengan media alternatif yang murah dan masih mengandung nutrisi tinggi yang diperlukan oleh BAL yaitu air kelapa untuk mendapatkan EPS dalam jumlah yang tinggi dan biaya produksi yang relatif rendah. Selain itu dapat kita simpulkan pula bahwa penambahan sukrosa merupakan faktor yang penting dalam produksi EPS, sehingga diperlukan penelitian produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* dari air kelapa menggunakan variasi penambahan sukrosa.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi sukrosa yang ditambahkan pada air kelapa terhadap produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* ?
2. Bagaimana profil gugus fungsi eksopolisakarida terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* dengan identifikasi *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) ?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sukrosa yang ditambahkan pada air kelapa terhadap produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa*.
2. Untuk mengetahui profil gugus fungsi eksopolisakarida terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* dengan identifikasi *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

1.4 Batasan Masalah

1. Air kelapa yang digunakan didapat dari pasar Landungsari Kota Malang.
2. Bakteri yang digunakan untuk produksi eksopolisakarida adalah *Weissella confusa* dari hasil isolasi kacang tanah terfermentasi..
3. Variasi penambahan sukrosa yang digunakan adalah 8%, 12%, 16% dan 20%.
4. Identifikasi profil gugus fungsi eksopolisakarida menggunakan instrumentasi *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* pada media air kelapa.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai media alternatif murah yang dapat digunakan untuk produksi EPS.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Kelapa

Air kelapa memiliki komposisi kimia seperti protein, lemak, hidrat arang, vitamin C, vitamin B kompleks, kalsium dan mineral yang sangat baik untuk tubuh manusia. Air kelapa tua mengandung air sebanyak 91,23%, protein 0,29%, lemak 0,15%, karbohidrat 7,27% dan abu 1,06% (Putri, 2019). Kandungan mineral kalium pada air kelapa juga sangat tinggi yaitu 203,70 mg/100 g pada air kelapa muda dan 257,52 mg/100 g air kelapa tua (Santoso, 2003).

Sifat kimia air kelapa ditentukan oleh nilai pH, keasaman total dan gula reduksi. Derajat keasaman atau pH digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman yang dimiliki oleh suatu larutan. Air kelapa memiliki pH 4,5 – 5,3 per 100 mL air kelapa. Asam-asam organik yang terdapat pada air kelapa dapat mempengaruhi perubahan pH air kelapa. Komposisi gula reduksi air kelapa yaitu sekitar 1,7 – 2,6 %. Pada air kelapa terdapat gula yaitu sukrosa, glukosa dan fruktosa (Santoso, 1996).

Walaupun air kelapa mengandung zat-zat gizi yang kompleks, akan tetapi pemanfaatannya belum banyak diketahui oleh masyarakat dan masih banyak air kelapa yang terbuang ke lingkungan. Air kelapa telah banyak digunakan sebagai bahan atau sumber nutrisi karena kandungan gizinya yang kompleks. Penelitian Taturima, T. dkk (2019) menunjukkan pemanfaatan air kelapa dalam bahan pangan yaitu untuk olahan *nata de coco*. Air kelapa yang sering digunakan untuk media fermentasi seperti pada fermentasi yang menghasilkan nata dalam produk *nata de coco* didalamnya dibutuhkan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhan

dan perkembangan *Acetobacter xylinum* (Setiaji dkk., 2002). Selanjutnya dalam penelitian Pranayanti, I. A. P., dan Sutrisno, A. (2015) Menunjukkan bahwa air kelapa dapat dimanfaatkan menjadi minuman probiotik air kelapa dengan bantuan starter *Lactobacillus casei* Shiota.

Manusia seringkali berlaku buruk dan merugikan tanpa memikirkan dampaknya terhadap lingkungan. Allah telah menciptakan alam dengan seimbang akan tetapi manusia seringkali melakukan kerusakan yang pada ujungnya berdampak pada kita sendiri. Allah SWT. Berfirman dalam surat ar-Rum ayat 41:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ

Artinya : “Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar).”

Menurut Shihab (2003) kata zhahara al fasad pada surat ar-Rum ayat 41 bermakna kerusakan yang tampak oleh mata karena berada di permukaan bumi. Kerusakan tersebut diakibatkan oleh perbuatan manusia itu sendiri. Allah menampakkannya supaya manusia sadar akan kerusakan yang terjadi di bumi ini adalah perbuatan tangan manusia sendiri.

Salah satu sifat manusia yang dapat menyebabkan kerusakan adalah sifat serakah serta boros tanpa memikirkan keadaan lingkungan. manusia kerap kali mengambil hasil alam secara berlebihan tanpa melakukan perbaikan sama sekali seperti penebangan hutan, pertambangan dll. Kita sebagai manusia yang bijak seharusnya dapat berpikir lebih dalam tentang bagaimana mengelola sumber alam

dengan baik. Nabi Muhammad Saw. bersabda dalam suatu hadis bahwa kita tidak boleh bersifat tamak dan boros bahkan dalam hal sekecil apapun.

أن النبي صلى الله عليه وسلم مر بسعد وهو يتوضأ فقل: ما هذا السرف يا سعد؟ قال: أفي الوضوء سرف، قال: نعم وإن علي نحر جار

Artinya: "Bahwasanya Rasulullah Shallallahu Alaihi wa Sallam berlalu di samping Sa'd yang sedang berwudhu, maka beliau bersabda, 'Jangan berlebihan (dalam penggunaan air).' Ia bertanya, 'Wahai Rasulullah! Apakah berlebih-lebihan dalam (penggunaan) air (juga terlarang)?' Beliau menjawab, Ya, meskipun engkau berada di sungai yang mengalir." (Ahmad Ibn Hambal. 1995: 11/636).

Hadis ini menjelaskan betapa nabi mengajari kita untuk tidak bersifat boros bahkan saat berwudhu sekalipun itu di sungai. Berdasarkan penjelasan ini kita dapat mengambil pelajaran bahwa jika dalam hal seperti wudhu saja kita dilarang untuk boros atau berlebihan meskipun itu disungai apalagi dalam hal yang lainnya seperti mengambil sumber daya alam. Nabi begitu mengajari kita untuk melakukan sesuatu sesuai dengan porsinya dan tidak berlebih-lebihan sehingga tidak mengganggu keseimbangan lingkungan.

Perubahan keseimbangan alam yang telah nampak diantaranya seperti perubahan cuaca yang tidak menentu, naiknya suhu permukaan bumi serta menipisnya lapisan ozon. Semua kekacauan ini disebabkan oleh manusia yang tidak bertanggung jawab atas apa yang mereka kerjakan. sehingga dalam upaya memanfaatkan sumber daya alam serta mengembangkan ilmu pengetahuan kita tentunya juga harus memikirkan akibatnya. Salah satu hal yang dapat kita lakukan memperbaiki lingkungan adalah dengan mengolah limbah yang dihasilkan seperti contohnya limbah air kelapa yang sangat melimpah di Indonesia.

2.2 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. Ciri-ciri bakteri asam laktat secara umum adalah selnya bereaksi positif terhadap pewarnaan Gram, bereaksi negatif terhadap katalase dan tidak membentuk spora. Beberapa marga bakteri asam laktat adalah *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc*, dan *Lactococcus*. (Romadhon dkk., 2012). Bakteri asam laktat mempunyai kemampuan untuk membentuk asam laktat dari metabolisme karbohidrat dan tumbuh pada pH lingkungan yang rendah secara ekologis. kelompok bakteri asam laktat telah diisolasi dari berbagai macam jenis habitat seperti tanaman, jerami, sayuran, produk air susu, produk daging, rongga mulut, dan hewan (Kuwanto dan Soedarmadji. 1989).

Bakteri asam laktat merupakan jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba, dan hasil metabolisme lain yang memberikan efek positif pada tubuh. Pemanfaatan BAL telah banyak dilakukan sejak lama, salah satunya adalah untuk proses fermentasi makanan. Saat ini BAL digunakan dalam proses pengawetan dan memperbaiki tekstur serta cita rasa bahan pangan (Chabela dkk., 2001). Manfaat bagi kesehatan diantaranya daya cerna laktosa mengendalikan bakteri patogen dalam saluran pencernaan, penurunan serum kolesterol, produksi vitamin B, produksi bakteriosin, dan inaktivasi berbagai senyawa beracun (Bachrudin 2011).

Ada 2 kelompok Bakteri Asam Laktat (Prescott dkk.,1990) yaitu:

1. Bakteri homofermentatif yaitu glukosa difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk. Contoh: *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus*.
2. Bakteri heterofermentatif yaitu glukosa difermentasikan menghasilkan asam laktat juga memproduksi senyawa-senyawa lainnya seperti etanol, asam asetat, dan CO₂.

Bakteri asam laktat dapat menghasilkan eksopolisakarida (EPS) yang memiliki banyak manfaat dalam kehidupan. Penelitian Nudyanto (2015) menunjukkan produksi EPS dari kimchi oleh *Lactobacillus plantarum* yang merupakan bakteri eksopolisakarida dengan total EPS yang didapat sebesar 427 mg/L. Sebagian besar BAL yang telah diteliti untuk produksi EPS seperti *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, dan *Lactobacillus casei* (Tallon dkk., 2006).

2.3 *Weissella confusa*

Weissella awalnya digolongkan sebagai *Leuconostoc* atau *Lactobacillus*. Namun, ciri biokimia yang khas di *Leuconostoc* atau *Lactobacillus* diidentifikasi oleh Collins et al. dan direklasifikasi sebagai *Weissella* pada tahun 1993. Sebagai mikrobiota alami, *Weissella* telah banyak terlibat dalam fermentasi asam laktat dan fermentasi minuman beralkohol coolship dan berbagai strain *Weissella* baru-baru ini menarik perhatian akademisi karena memiliki kemampuan yang tinggi dalam produksi EPS (Jin, 2019).

Jalur transportasi gula, metabolisme sintesis enzim, dan prekursor nukleotida gula dapat diatur dengan represi katabolit. Pada langkah penyaringan, semuanya sumber karbon yang disebutkan dalam studi sebelumnya adalah bekas. Hasil ini menunjukkan bahwa sukrosa merupakan karbon utama sumber produksi EPS, yang konsisten dengan penelitian sebelumnya. *Weissella spp.* memiliki kapasitas produksi EPS yang lebih tinggi dari strain BA yang lain (Kumar, 2011). Berdasarkan *Taxonomic Outline of the Prokaryotes*, *Weissella confusa* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Leuconostocaceae
Genus	: <i>Weissella</i>
Spesies	: <i>Weissella confusa</i>

2.4 Eksopolisakarida (EPS)

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polimer dari gula pereduksi atau polisakarida yang disekresikan oleh mikroba keluar sel. Polimer ini merupakan salah satu polimer yang mampu disintesis oleh bakteri asam laktat. EPS umumnya terdiri dari monosakarida dan beberapa substituent non-karbohidrat seperti aset, piruvat, suksinat, dan fosfat juga biomolekul seperti protein, asam nukleat, lipid dan zat humat (Surono, 2004).

Gula sebagai penyusun utama eksopolisakarida diantaranya yaitu glukosa, galaktosa dan rhamnose dengan rasio yang berbeda. Van dkk. (2002) menyatakan EPS biasanya terdiri dari monosakarida dan mengandung substituen lain seperti protein dan lemak. Polimer ini memiliki daya bioaktivitas yang baik dalam

penggunaan seperti obat yang dapat digunakan sebagai antivirus dan antiinflamasi (Liamas, 2010). EPS banyak digunakan di industri karena memiliki sifat fisiko-kimia yang hampir sama dengan polisakarida dari tanaman seperti selulosa, pektin, rumput laut dan pati. EPS juga berperan dalam memberi rasa, tekstur, dan persepsi rasa pada produk fermentasi sehingga dimanfaatkan sebagai pengental, pembuat gel, dan pengemulsi (Silalahi, 2006). Beberapa EPS yang telah digunakan dalam bidang industri antara lain yaitu, xanthan, curdlan, gellan, dekstran, β -glukan, dan β -mannan (Malik dkk., 2008).

EPS juga berperan dalam proses perlindungan sel bakteri dari kekeringan, mempertahankan fungsi seluler primer dan aktivitas antibakteri terhadap predator, kemampuan pembentuk gel dan degradasi polutan. Terdapat dua jenis utama EPS menurut komponen penyusunnya yaitu homo-EPS dan hetero-EPS. Saat ini, EPS telah banyak dimanfaatkan secara luas dalam berbagai aplikasi dalam pangan, farmasi, dan industri lainnya. EPS telah terbukti memiliki aktivitas fisiologis seperti antitumor, antivirus dan antiinflamasi, serta menjadi penginduksi interferon, penghambatan agregasi trombosit, sintesis faktor penstimulasi koloni, koagulan, dan pelumas (Anindita, 2020).

Eksopolisakarida merupakan metabolit sekunder yang didapatkan melalui proses fermentasi bakteri asam laktat pada fase stasioner. Menurut Dirmanto (2006) fermentasi merupakan respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan atau tanpa elektron eksternal. Contoh produk fermentasi oleh mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan meliputi barang-barang seperti etil alkohol, asam laktat, gliserol dan lain-lain (Volk dan Wheeler, 1993).

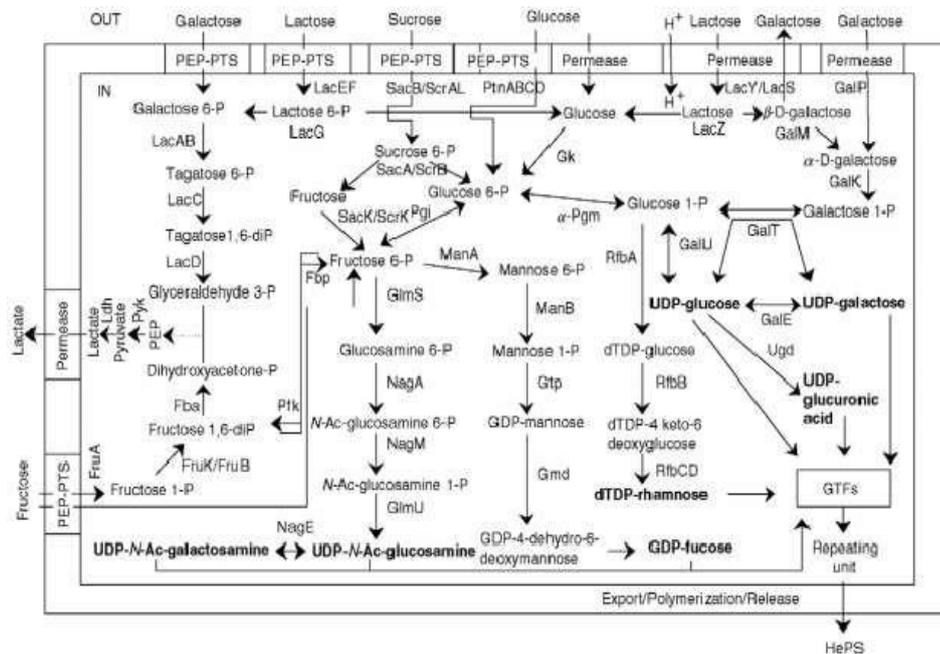
Eksopolisakarida dengan struktur linier diantaranya levan, curdlan, dan pullulan. Sedangkan eksopolisakarida dengan struktur bercabang contohnya dextran yang berasal dari bakteri asam laktat merupakan salah satu biopolimer

yang pertama kali diproduksi dalam skala industri baik digunakan sebagai bahan pangan maupun non pangan. Aplikasi dextran dimanfaatkan sebagai agen emulsifier, agen pemisah, dan plasma (Nessens dkk., 2005). Dextran termasuk dalam keluarga glukosa yang dibuat dengan polimerisasi α -D-glucopyranosyl dari sukrosa yang dikatalisis oleh enzim dextransucrase, dimana pengulangan unitnya berasal dari ikatan (1 \rightarrow 6)-linked- α -D-glucopyranosyl (Park dkk., 2009).

2.5 Biosintesis Eksopolisakarida

EPS disintesis dalam fase-fase pertumbuhan yang berbeda dengan kondisi yang bervariasi tergantung dari jenis mikroorganismenya. 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).

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 dkk., 1998), sedangkan bakteri gram-negatif mensintesis EPS secara intraseluler (seperti xanthan, gellan, selulosa, suksinoglikan) (Sutherland, 2001). Skema Jalur biosintesis ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Jalur biosintesis EPS (De Vusyst, 2007)

Biosintesis heteropolisakarida (HePs) menggunakan substrat berupa sukrosa terdiri atas beberapa tahapan. Substrat sukrosa diubah menjadi sukrosa 6-P melalui jalur *Phosphoenolpyruvate-phosphotransferase* system (PEP-PTS), kemudian dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa 6-P yang dikatalisis oleh enzim SacA/SacB (sukrosa 6-fosfat hidrolase), fruktosa dan glukosa 6-P tersebut dapat diubah menjadi fruktosa 6-P dengan katalis enzim SacK/SacK (6-fruktokinase). 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-N-asetilglukosamin 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.

Biosintesis HePs melalui perubahan fruktosa 6-P menjadi mannososa 6-P dengan katalis enzim MannA (mannososa 6-fosfat isomerase), kemudian mannososa 6-P menjadi mannososa 1-P dikatalisis oleh enzim MannB (fosfomannomutase), mannososa 1-P menjadi GDP-mannososa dikatalisis oleh enzim Gtp (mannososa 1-fosfat guaniltransferase), GDP-mannososa menjadi GDP-4-dehidro-6-deoksimannososa dikatalisis oleh enzim Gmd (GDP-mannososa-4,6-dehidratase), GDP-4-dehidro-6-deoksimannososa menjadi GDP fruktosa dikatalisis oleh enzim GDP-fukosa sintase, kemudian nukleotida gula berupa GTF (glikosiltransferase) berperan untuk menggabungkan monosakarida-monosakarida yang melakukan pengulangan unit hingga membentuk HePs.

Biosintesis intraseluler diatur oleh enzim yang terletak pada berbagai bagian sel. Pada sitoplasma, glukosa-1-fosfat dikonversi ke molekul utama pada sintesis eksopolisakarida, uridin difosfat glukosa (UDP-glukosa). Setelah itu, pada membran periplasmik sel, glikosiltransferase mentransfer gula nukleosida difosfat (NDP) untuk membentuk pengulangan unit melekat pada sebuah lipid pembawa glikosil. Kemudian makromolekul dipolimerisasi dan disekresikan dalam bentuk eksopolisakarida (Kumar dkk., 2007).

2.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Eksopolisakarida

1. Media

Media yang digunakan untuk mengoptimalkan produksi EPS sangat beragam, karena rantai utama dari polimer ini adalah glukosa. Hasil penelitian

Lule dkk., (2014) dengan menggunakan substrat paneer whey (0,047 g/L) untuk memproduksi EPS oleh *Leuconostoc mesenteroides* dan menghasilkan EPS sebesar 12,7 g/L. Hasil penelitian Xu dkk., (2010) menunjukkan dengan menggunakan substrat glukosa sebesar 30 g/L untuk menghasilkan EPS menggunakan isolat *Lactobacillus delbrueckii* B-3.

Bakteri biasanya memperoleh energi dari oksidasi kimia. Kebanyakan bakteri memperoleh nutrisi yang diperlukan selnya untuk mensintesis protoplasma dari berbagai sumber nutrisi seperti sumber karbon (misalnya karbohidrat), sumber nitrogen (protein atau amoniak), ion-ion anorganik tertentu, metabolit penting (vitamin, mungkin juga asam amino) dan air (Volk dan Wheeler, 1988).

2. Konsentrasi Substrat

Kecepatan reaksi enzimatik pada umumnya tergantung pada konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi akan meningkat apabila konsentrasi substrat meningkat. Peningkatan kecepatan reaksi ini akan semakin kecil hingga tercapai suatu titik batas yang pada akhirnya penambahan konsentrasi substrat hanya akan sedikit meningkatkan kecepatan reaksi (Lehninger, 1997). Hal ini disebabkan semua molekul enzim telah membentuk ikatan kompleks dengan substrat yang selanjutnya kenaikan konsentrasi substrat tidak berpengaruh terhadap kecepatan reaksinya (Trenggono dan Sutardi, 1990).

3. Penambahan Sukrosa

Sukrosa merupakan salah satu jenis gula yang dapat dimetabolisme oleh bakteri menjadi asam laktat selama proses fermentasi berlangsung (Anindita, 2002). Sukrosa berpotensi menjadi sumber nutrisi bagi bakteri asam laktat. Semakin banyak sukrosa yang tersedia maka semakin banyak pula substrat yang

dapat dirombak oleh bakteri asam laktat menjadi asam piruvat yang selanjutnya dapat diubah menjadi asam-asam organik lainnya. Sebagai sumber karbon, semakin tinggi konsentrasi sukrosa maka konsentrasi eksopolisakarida yang dihasilkan juga semakin tinggi.

4. Lama Fermentasi

Fermentasi merupakan tahap dalam pembentukan eksopolisakarida sehingga waktu fermentasi sangat mempengaruhi hasil dari produk eksopolisakarida. Hasil penelitian Fitria, (2017) bahwa dengan variasi lama fermentasi 18 jam dan 24 jam, diperoleh hasil EPS tertinggi sebesar 740 mg/L yakni pada lama fermentasi 18 jam. Hasil penelitian seesuriyachan dkk. (2011) menunjukkan bahwa *weissella confusa* menghasilkan EPS dengan jumlah tertinggi pada lama fermentasi 24 jam dengan total EPS 12, g/L.

5. Konsentrasi Inokulum

Inokulum adalah biakan bakteri yang dimasukkan ke dalam media cair yang siap digunakan untuk fermentasi (Pelczar dkk., 2007). Kadar inokulum pada fermentasi menunjukkan pengaruh terhadap produk fermentasi, hasil biosintesis EPS dengan variasi inokulum 1, 2,5, 5,0, 10, 15, dan 20 mL/L yakni jumlah EPS tertinggi yaitu sebesar 650 mg/L pada konsentrasi inokulum 10 mL/L (Haroun dkk., 2013).

6. Suhu

Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan mikroba adalah suhu. Suhu fermentasi yang terlalu tinggi akan berpengaruh terhadap mikroba dan enzim yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri. Suhu yang terlalu tinggi akan mengakibatkan denaturasi enzim. Umumnya enzim bekerja sangat lambat pada suhu di bawah

titik beku dan kereaktifannya akan meningkat sampai suhu 45°C. pada pertumbuhan *Weissella confusa* biasanya digunakan suhu 37°C. Hasil penelitian Jin dkk., (2019) menunjukkan bahwa produksi EPS optimum dari isolat *Weissella confusa* dihasilkan pada sekitar suhu 37 °C dengan hasil EPS sebesar 59 g/L.

7. pH

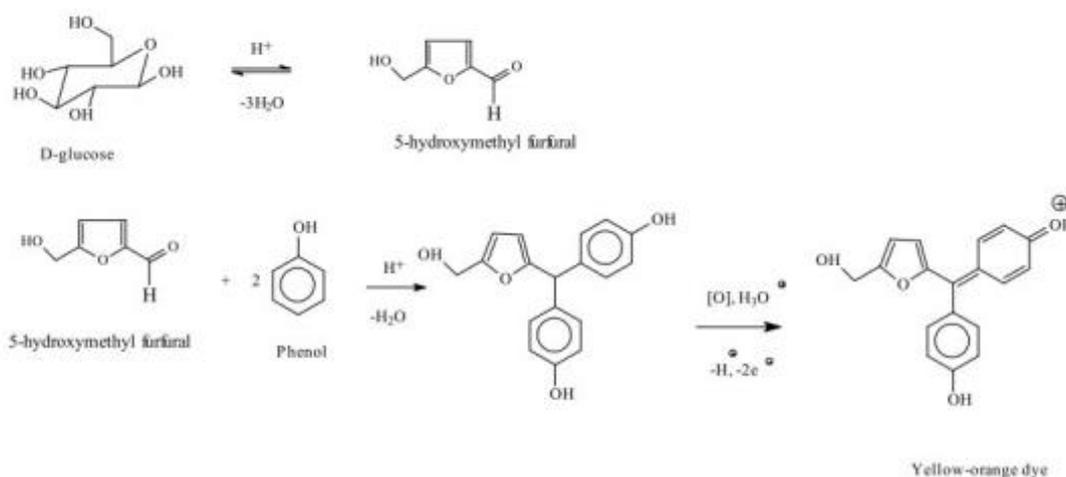
pH merupakan salah satu parameter yang penting dan kritis lingkungan yang mempengaruhi total bakteri asam laktat dalam medium fermentasi, total asam laktat dan total eksopolisakarida kasar yang dihasilkan (Zubaidah dkk., 2008). pH optimum untuk pertumbuhan isolat *Weissella confusa* adalah pada kondisi netral yaitu sekitar 7. Hasil penelitian Jin dkk., (2019) bahwa produksi EPS optimum dari isolat *Weissella confusa* adalah pada sekitar pH 7,0 dengan hasil EPS sebesar 59 g/L. Sementara menurut Hardiningsih dkk. (2006) pH optimum yang dibutuhkan BAL untuk pertumbuhan adalah 6.5..

2.7 Pengukuran Kadar Gula Total dengan Metode Asam Sulfat-Fenol

Metode ini dapat mengukur dua molekul gula pereduksi. Gula sederhana, oligosakarida, dan turunannya dapat dideteksi dengan fenol dalam asam sulfat yang pekat yang akan menghasilkan warna jingga kekuningan yang stabil. Metode ini mampu mendeteksi dua gula pereduksi karena sukrosa yang ada dihidrolisis dahulu menjadi dua molekul glukosa sehingga dapat mengetahui gula pereduksi total. Penentuan glukosa menggunakan metode fenol-asam sulfat yang disebut juga metode TS (*total sugar*) yang digunakan untuk mengukur kadar gula total (Nurjannah, 2019).

Gula merupakan karbohidrat yang mana apabila ditambahkan asam kuat dan dipanaskan akan mengalami serangkaian reaksi yang mengarah pada pembentukan derivat furan seperti furanaldehid dan hidroksimetil furanaldehid. Reaksi awal yaitu reaksi dehidrasi yang diikuti dengan pembentukan turunan furan (Brummer, 2005).

Prinsip dasar dari metode ini adalah bahwa karbohidrat ketika didehidrasi melalui reaksi dengan asam sulfat pekat, menghasilkan turunan furfural. Reaksi selanjutnya antara turunan furfural akan bereaksi dengan fenol menghasilkan senyawa kompleks berwarna jingga kekuningan stabil yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer UV-Vis (Albalasmeh dkk., 2013).



Gambar 2.2 Reaksi penentuan kadar gula total metode sulfat-fenol (Muhaimin, 2018)

2.8 Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

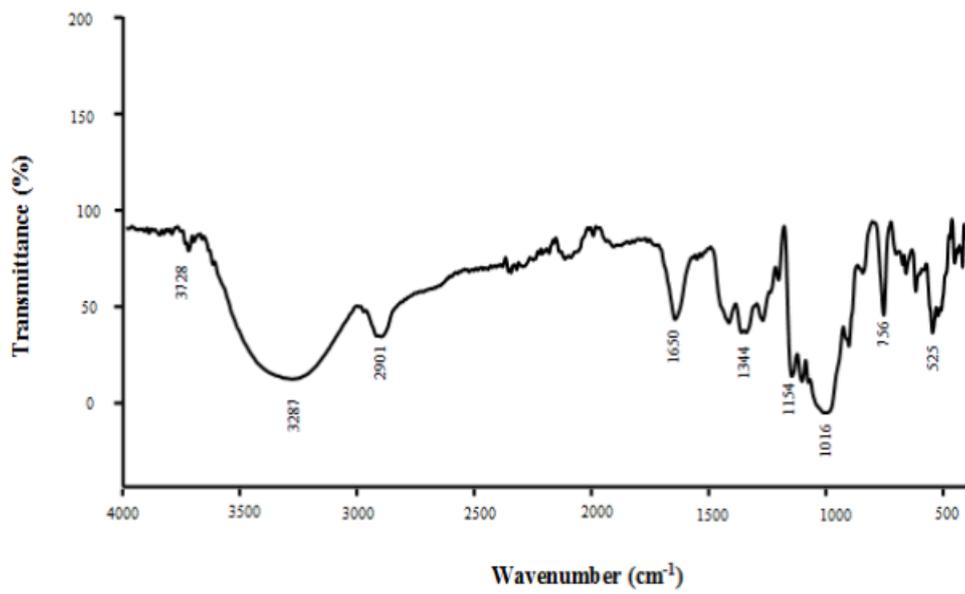
Spektroskopi inframerah merupakan spektroskopi yang mempelajari interaksi antara materi dan inframerah. Spektra inframerah berkaitan dengan interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan vibrasi molekul, yaitu terjadi

transisi tingkat energi vibrasi akibat adanya absorpsi radiasi inframerah tengah oleh materi. Daerah spektra untuk spektroskopi berada di daerah bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} (Setianingsih, 2020). Instrumen FTIR ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Spektroskopi FTIR Varian 1000 FT

Penggunaan FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam suatu sampel. Adanya gugus fungsi ditandai dengan terbentuknya puncak serapan sehingga dapat diidentifikasi jenis senyawa sampel dengan menghitung dan membandingkan panjang gelombang pada tiap puncak. Menurut Sankari (2010) Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan. Penelitian Adesulu-Dahunsi (2018) menggunakan FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi EPS yang diperoleh dari *Weissella Cobarina* menunjukkan adanya puncak pada beberapa bilangan gelombang sebagaimana pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Spektrum FTIR EPS dari *Weissella cobaria* GA44 (Adesulu-Dahunsi et al., 2018).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November - Desember 2020 di Laboratorium Bioteknologi, Laboratorium Biokimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 500 mL, erlenmeyer 250 mL, gelas arloji, pipet ukur 5 mL dan 10 mL, pipet tetes, labu ukur 10 mL, 25 mL, dan 100 mL, bola hisap, botol semprot, spatula, batang pengaduk, korek api, kawat ose, pembakar spiritus, corong gelas, cawan petri, penangas air, mikropipet, *blue tip*, *hot plate*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung sentrifuge, *magnetic stirrer*, *autoclave*, *shaker*, *laminar air flow*, *vortex*, Oven, lemari asap, spektrofotometer UV-Vis, Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR), lemari pendingin, pinset.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya air kelapa yang diperoleh dari limbah penjual kelapa di Pasar Landungsari Kota Malang, *de Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), etanol PA 95%, alkohol 70% sebagai desinfektan, fenol 5%, asam sulfat (H₂SO₄) 98%, asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH)

0,5 N, natrium klorida (NaCl), aquades, H₂SO₄ 2N, asam trikloro asetat (TCA), kapas, kertas label, kertas saring halus, aluminium foil, plastik wrap, plastik, karet, dan starter *Weissella confusa*.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sukrosa pada air kelapa terhadap produksi eksopolisakarida (EPS) oleh *Weissella confusa*. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu konsentrasi sukrosa terdiri dari 8%, 12%, 16%, 20%. Analisa dalam penelitian ini meliputi rendemen EPS dan kadar gula total EPS. EPS yang terpilih akan diidentifikasi profil gugus fungsinya menggunakan *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Sterilisasi alat
2. Preparasi air kelapa
3. Pembuatan media
 - 3.1 MRSA
 - 3.2 MRSB
4. Regenerasi *Weissella confusa*
5. Pembuatan inokulum
6. Produksi eksopolisakarida (EPS), Pengaruh penambahan sukrosa terhadap produksi EPS dari air kelapa

7. Ekstraksi eksopolisakarida dari media fermentasi air kelapa
8. Uji Kadar Gula Total dengan Metode Asam Sulfat-Fenol
 - 8.1 Menghitung kadar gula total sampel
 - 9.2 Menghitung kadar gula total EPS yang dihasilkan
9. Identifikasi profil gugus fungsi eksopolisakarida *menggunakan Fourier transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*
10. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat gelas yang akan digunakan dalam penelitian antara lain gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 500 mL, erlenmeyer 250 mL, cawan petri, tabung sentrifugasi, labu ukur 100 mL dan tabung reaksi dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Setelah itu dilakukan sterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit.

3.5.2 Preparasi Air Kelapa

Air kelapa disaring hingga terpisah dengan residu yang ada. Diukur pH hingga 6,5. Apabila Ph air kelapa kurang dari 6,5 maka ditambahkan beberapa tetes natrium NaOH 1 N. Kemudian air kelapa disterilisasi menggunakan *autoclave* dan disimpan di *freezer* dalam wadah tertutup.

3.5.3 Pembuatan Media

3.5.3.1 Pembuatan Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar (MRSA)*

Media MRSA dibuat dengan ditimbang sebanyak 6,82 gram MRSA, dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, dan dipanaskan sampai

mendidih sambil diaduk hingga larut. Kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL kemudian disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Larutan tersebut didinginkan dalam tabung reaksi pada keadaan miring hingga memadat. Media MRSA ini digunakan untuk regenerasi *Weissella confusa*.

3.5.3.2 Pembuatan Media *de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB)

Media MRSB dibuat dengan menimbang 5,515 gram MRSB kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades dan dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk hingga larut. Kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 20 menit. Media MRSB ini digunakan untuk pembuatan inokulum.

3.5.4 Regenerasi *Weissella confusa* (Kultsum, 2009)

Weissella confusa yang sudah menjadi biakan diambil sebanyak 2 (dua) ose dan diinokulasikan ke media MRSA miring. Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. *Weissella confusa* yang telah mengalami regenerasi digunakan untuk pembuatan inokulum stok.

3.5.5 Pembuatan Inokulum (Maunatin dkk., 2020)

Pembuatan inokulum ini dilakukan dengan memindahkan 2 (dua) ose biakan *Weissella confusa* ke dalam 100 mL media MRSB, kemudian dishaker pada kecepatan 100 rpm selama 18 jam pada suhu 37°C sampai fase eksponensial. Kekeruhan inokulum sel *Weissella confusa* yang

digunakan disetarakan dengan optical density (OD) 0,5 pada panjang gelombang 600 nm.

3.5.6 Produksi Eksopolisakarida, Pengaruh Penambahan Sukrosa terhadap Produksi Eksopolisakarida dari Air Kelapa (Trabelsi dkk., termodifikasi, 2014 dan Seesuriyachan dkk., 2011)

Sebanyak 100 mL air kelapa yang telah disterilkan, dan memiliki pH 6,5 ditambahkan sukrosa dengan variasi konsentrasi 8%, 12%, 16, dan 20% (b/v). Ditambahkan *yeast extract* dan *peptone* sebanyak 0,25 gr (b/v) di setiap Erlenmeyer sampel. Setelah itu ditambahkan inokulum *Weissella confusa* sebanyak 5% (v/v) dengan cara diambil 5 mL inokulum kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit kemudian diambil endapan lalu dicuci dengan 5 mL aquades dengan disentrifugasi kembali dan diambil endapan untuk ditambahkan pada media produksi. Selanjutnya media produksi diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.5.7 Ekstraksi Eksopolisakarida dari Media Fermentasi Air Kelapa (Seo dkk., termodifikasi, 2015)

Media air kelapa hasil fermentasi diambil sebanyak 50 mL dan ditambahkan asam trikloroasetat dengan konsentrasi akhir 10% (5 gr) kemudian dishaker selama 30 menit pada 100 rpm. Kemudian disentrifugasi pada 4°C kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang mengandung EPS diambil sebanyak 30 mL lalu ditambahkan 60 mL etanol dingin 95% dan dibiarkan pada suhu 4°C selama 24 jam.

Selanjutnya endapan EPS yang didapat dipisahkan dengan filtrat dan dikeringkan pada suhu 60 °C selama 5 jam.

Kadar eksopolisakarida kering ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$Kadar\ EPS\ \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{Berat\ eksopolisakarida\ kering\ (G)}{Volume\ (L)} \dots\dots\dots(3.2)$$

3.5.8 Uji Kadar Gula Total dengan Metode Asam Sulfat-Fenol

3.5.8.1 Pembuatan Kurva Standar dengan Metode Asam Sulfat-Fenol

(Dubois dkk., 1956)

Larutan glukosa standar yang mengandung 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm glukosa dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 mL, ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% (b/v) dan dikocok. Kemudian 5 mL asam sulfat pekat ditambahkan dengan cepat di lemari asap. Dibiarkan selama 10 menit, dikocok lalu ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.8.2 Penetapan Kadar Gula Total dengan Metode Asam Sulfat-Fenol (Dubois dkk., 1956)

Sampel EPS sebanyak 0,01 g dilarutkan ke dalam 250 mL aquades dan dihomogenkan, larutan homogen diambil sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% (b/v) dan dikocok. Selanjutnya ditambahkan 5 mL asam sulfat pekat dengan cepat di lemari asap. Dibiarkan selama 10 menit, dikocok, lalu ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit dengan suhu 100°C dan diukur

absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.9 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida menggunakan *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) (Adesulu-Dahuni dkk., 2018)

Sampel dibuat dengan menumbuk EPS dan 250 mg KBr kemudian ditekan dalam cetakan hingga didapat pelet KBr. Selanjutnya sampel dianalisis pada frekuensi 400-4000 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.

3.5.10 Analisis Data

Data yang diperoleh yaitu rendemen eksopolisakarida dan kadar gula total eksopolisakarida dianalisis dengan ragam varian *One Way* ANOVA. Apabila terdapat adanya pengaruh pada perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan signifikansi 5%.

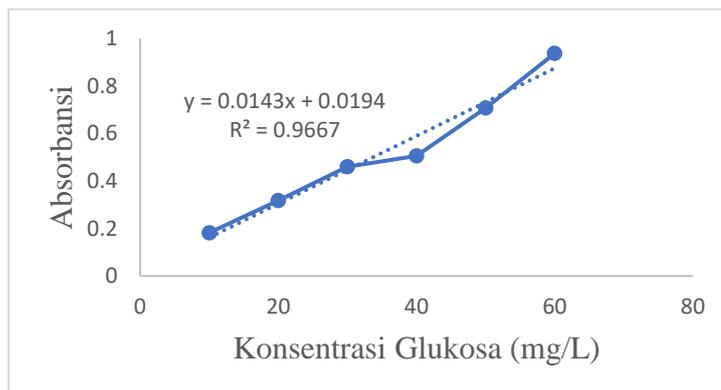
BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Air Kelapa

Air kelapa yang digunakan merupakan air kelapa jernih yang sudah terbebas dari kotoran. Preparasi air kelapa dilakukan dengan menyetarakan pH menjadi 6,5 dari pH awal 5,1 menggunakan NaOH 1 N. Penyetaraan pH 6,5 dilakukan karena menyesuaikan pH optimum untuk pertumbuhan *Weissella confusa* yang merupakan bakteri asam laktat (BAL). Menurut Hardiningsih dkk., (2006) menyebutkan bahwa pH optimum yang digunakan untuk pertumbuhan BAL adalah 6,5. Air kelapa yang telah dikondisikan pH selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave*. Menurut ma'at (2009), sterilisasi dilakukan untuk menghilangkan segala macam mikroorganisme, baik berupa kuman, virus, maupun jamur. Setelah selesai disterilisasi, air kelapa disimpan di dalam *freezer* yang mana nantinya akan digunakan sebagai media fermentasi untuk produksi eksopolisakarida.

Air kelapa digunakan sebagai media fermentasi produksi EPS karena mengandung banyak nutrisi serta merupakan media alternatif murah pengganti MRSB. Bakteri asam laktat biasanya ditumbuhkan pada media MRS, akan tetapi media MRS tidaklah efektif untuk digunakan pada skala industri karena harganya yang relatif tinggi (Safitri dkk., 2016). Air kelapa yang akan digunakan sebagai media fermentasi diukur kadar gula totalnya terlebih dahulu menggunakan metode sulfat fenol. Pengukuran diawali dengan pembuatan kurva standar glukosa.



Gambar 4.1 Kurva standar glukosa

Berdasarkan kurva standar pada Gambar 4.1 maka dapat ditentukan konsentrasi gula total bahan baku dari air kelapa yaitu sebesar 17,71 mg/L. Penentuan kadar gula total bahan baku berfungsi untuk menentukan kadar gula awal dari media yang akan digunakan untuk produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa*.

4.2 Pembuatan Media *de Man Rogose Sharpe Agar (MRSA)* dan *de Man Rogose Sharpe Agar (MRSB)*

Media spesifik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri asam laktat (BAL) adalah MRS (Safitri 2016). Medium khusus (spesifik), merupakan medium untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan-perubahan kimia tertentu. Media yang digunakan untuk regenerasi bakteri adalah MRSA, sedangkan media yang digunakan untuk pembuatan inokulum adalah MRSB. Pembuatan media dilakukan dengan menimbang sejumlah serbuk media kemudian dilarutkan dalam aquades dan dipanaskan menggunakan *hotplate*. Media yang telah larut sempurna selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf untuk menghilangkan kontaminan yang terkandung didalamnya.

Menurut Khairunnisa dan Pato (2016) medium MRSA digunakan untuk memperkaya, menumbuhkan dan mengisolasi BAL dalam fase padat, sedangkan MRSB merupakan medium yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri pada fase cair. Media MRS memiliki kandungan berupa dekstrosa, *peptone*, *yeast extract*, *beef extract*, KH_2PO_4 , natrium asetat anhidrat, amonium sitrat, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, *Tween* 80 (Goktepe, 2005). Perbedaan MRSA dan MRSB hanya pada kandungan agar dalam MRSA sehingga media ini berbentuk padat.

4.3 Regenerasi *Weissella confusa*

Regenerasi bakteri merupakan langkah yang dilakukan untuk menumbuhkan kembali bakteri pada media baru. Peremajaan penting dilakukan untuk mendapatkan biakan bakteri baru yang dapat melakukan fermentasi secara optimal. Menurut Wijayati (2014) peremajaan bakteri berfungsi untuk mengaktifkan kembali bakteri yang sebelumnya telah inaktif dan agar bakteri memulai metabolisme kembali setelah penyiapan.

Regenerasi *weissella confusa* dilakukan menggunakan media MRSA dengan metode gores. Media padat digunakan untuk penyimpanan bakteri serta agar bakteri mudah diamati dan dapat dimanfaatkan untuk penanaman bakteri atau pembuatan inokulum (Wuryanti dkk., 2010). Regenerasi bakteri dilakukan secara aseptis di laminar dengan menggunakan kawat ose yang telah dipanaskan di atas bunsen untuk menghindari kontaminan dari bakteri lain. Sebanyak dua ose *Weissella confusa* diinokulasikan pada media MRSA padat dan diinkubasi selama

48 jam pada suhu 37°C. Hasil regenerasi ditandai dengan terbentuknya koloni bakteri dalam media MRSA yang ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil regenerasi *Weissella confusa*

4.4 Pembuatan Inokulum

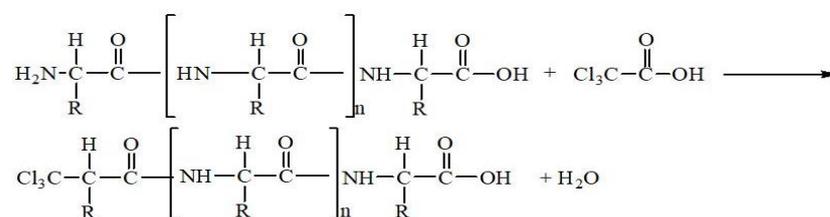
Inokulum merupakan bakteri yang siap dipakai dalam tahap kultur jaringan. Tujuan pembuatan inokulum adalah sebagai starter dalam proses fermentasi. Pembuatan inokulum dilakukan dengan memindahkan dua ose biakan ke dalam media MRSB secara aseptis kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Inkubasi dilakukan untuk memproduksi sel bakteri dalam fase eksponensial yang siap digunakan untuk proses fermentasi. Menurut Setyati dkk., (2015) fase eksponensial atau fase pertumbuhan bakteri dicapai pada waktu inkubasi 18 jam yang ditandai dengan adanya kekeruhan pada media inokulum karena terbentuknya suspensi bakteri.

Setelah diinkubasi selama 18 jam selanjutnya diukur tingkat kekeruhan atau nilai OD inokulum untuk mengetahui jumlah bakteri yang terkandung di dalamnya. Semakin besar nilai OD maka semakin banyak bakteri yang terdapat di dalam inokulum. Setelah diketahui nilai ODnya, kemudian dilakukan pengenceran menggunakan MRSB untuk menyetarakan OD menjadi 0,5 atau setara dengan jumlah bakteri $1,4 \times 10^9$ CFU/mL.

4.5 Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Produksi Ekspolisakarida

Produksi ekspolisakarida dilakukan menggunakan media air kelapa yang diperkaya *yeast extract* dan *peptone* 0,25% dengan penambahan sukrosa pada berbagai konsentrasi yaitu 8, 12, 16, dan 20 %. Menurut Seesuriyachan dkk (2011) *Yeast extract* dan *peptone* digunakan sebagai tambahan sumber nitrogen untuk pertumbuhan BAL. Selanjutnya ditambahkan inokulum *Weissella confusa* sebesar 5% dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk memproduksi EPS. Inkubasi selama 24 jam dilakukan karena merupakan waktu yang dibutuhkan bagi bakteri untuk mencapai fase stasioner yang mana akan menghasilkan metabolit sekunder.

EPS yang terbentuk pada media masih tercampur dengan protein sehingga perlu dipisahkan dengan asam trikloroasetat (TCA). Penambahan TCA bertujuan untuk mengendapkan protein dalam media dimana ion negatif TCA akan bergabung dengan protein yang berperan sebagai kation yang selanjutnya akan membentuk garam protein (Prastika dkk., 2019). Reaksi protein dengan TCA ditunjukkan pada Gambar 4.3. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan endapan protein dengan filtrat yang mengandung EPS.



Gambar 4.3 Reaksi TCA dengan protein

Filtrat yang diperoleh diekstrak EPSnya dengan menambahkan etanol dingin 95% sebanyak dua kali volume sampel kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu 4°C. 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 kelarutan polisakarida atau menyebabkan pengendapan (Klinchongkon *et al.*, 2019). Etanol dapat menyebabkan tegangan permukaan air pada EPS menurun sehingga EPS cenderung berinteraksi dengan molekul EPS lainnya. EPS yang terbentuk kemudian dikeringkan pada suhu 60°C untuk menghilangkan pelarut yang masih menempel. EPS kering ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Eksopolisakarida hasil fermentasi

EPS yang dihasilkan diperkirakan adalah glukukan atau fruktan yang memiliki bentuk padatan dengan warna putih kekuningan. Produksi EPS oleh *Weissella confusa* terjadi karena adanya aktivitas enzim sukrase yaitu glukansukrase/glukosiltransferase (gtf) dan fruktansukrase/fruktosiltransferase (ftf). Gtf dan ftf akan memecah sukrosa dan menggunakan energi yang dilepaskan untuk menggabungkan unit gula sehingga membentuk rantai polimer gula yaitu EPS. Gtf akan membentuk EPS berupa glukukan sedangkan ftf akan membentuk EPS fruktan (Malik dkk., 2015). Penentuan rendemen EPS dilakukan dengan metode gravimetri sebagai metode analisis kuantitatif berdasarkan berat konstan EPS.

Tabel 4.1 Rata-rata Rendemen Eksopolisakarida

Konsentrasi Sukrosa (%)	Rendemen EPS (g/L)
8	2,23 ± 0,29 ^a
12	2,53 ± 0,23 ^{ab}
16	3,053 ± 0,36 ^b
20	3,27 ± 0,33 ^b

Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rendemen eksopolisakarida semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi sukrosa yang ditambahkan. Rendemen EPS terbesar dalam penelitian ini dihasilkan pada penambahan sukrosa 20% yaitu 3,27 g/L sedangkan rendemen terkecil dihasilkan pada penambahan sukrosa 8% yaitu sebesar 2,23 g/L. Berdasarkan uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata pada rendemen EPS (Sig < 0,05). Pada konsentrasi 8% menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan konsentrasi lainnya sedangkan pada konsentrasi 16% dan 20% tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata. Hal ini berarti bahwa dengan bertambahnya konsentrasi sukrosa dari 16% dan 20% tidak mempengaruhi rendemen EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yaitu pada penelitian Karlinda (2019) yang menggunakan air kelapa sebagai media alternatif menunjukkan bahwa rendemen tertinggi terbentuk dengan penambahan sukrosa 25% yaitu 3,809 g/L, penelitian Zubaidah dkk (2015) menggunakan media alternatif sari buah kurma menghasilkan EPS sebesar 3,4 g/L. Selanjutnya penelitian ini memiliki hasil yang lebih tinggi dari penelitian yang menggunakan media alternatif alami lain. Penelitian Malaka dkk (2018) menggunakan beberapa media alternatif menunjukkan bahwa EPS yang dihasilkan oleh media 10% susu

skim adalah 0,258 g/L, whey susu sebesar 0,0696 g/L, dan whey susu kedelai sebesar 0,0498 g/L. Sedangkan penelitian Seesuriyachan dkk (2011) menggunakan media air kelapa yang dikomposisikan seperti media MRS dengan menambahkan 5 g/L *peptone*, 2,5 g/L *yeast extract*, 2,5 g/L *beef extract* dan 2% sukrosa menghasilkan EPS yang lebih tinggi yaitu sebesar 12,3 g/L.

4.6 Analisis Kadar Gula Total Eksopolisakarida

Eksopolisakarida yang terbentuk dalam penelitian kemungkinan masih tercampur dengan beberapa pengotor yang berasal dari media produksi seperti protein, vitamin, dan sel. Analisis kadar gula total dilakukan untuk menentukan tingkat kemurnian dari EPS dengan mendeteksi kandungan gula yang terkandung di dalamnya. Semakin tinggi kadar gula total yang terkandung di dalam suatu EPS menunjukkan bahwa tingkat kemurniannya tinggi karena EPS tersusun dari polimer gula monosakarida.

Pengukuran kadar gula total EPS dilakukan dengan menggunakan metode sulfat-fenol. Langkah pertama yang dilakukan adalah membuat kurva standar sebagai acuan untuk menentukan kadar gula EPS yang ditunjukkan pada gambar 4.1. Proses analisis dilakukan dengan melarutkan EPS dalam aquades kemudian ditambahkan fenol dan asam sulfat pekat lalu diuji absorbansinya menggunakan UV-Vis. Penambahan fenol sendiri berfungsi untuk membentuk kompleks senyawa dengan turunan furfural yang berasal dari monomer gula hasil degradasi polisakarida oleh asam sulfat yang telah mengalami pemanasan, sehingga membentuk kompleks berwarna jingga (Poedjiadi dan Supriyanti, 2012).

Intensitas warna jingga yang dihasilkan akan berbanding lurus dengan konsentrasi sampel.

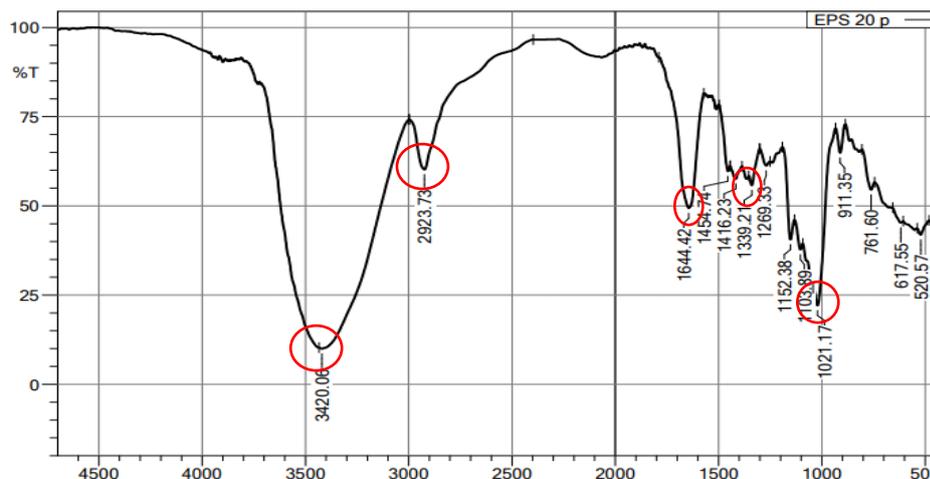
Tabel 4.2 Rata-rata Kadar Gula Total Eksopolisakarida

Konsentrasi Sukrosa (%)	Kadar Gula Total (%)
8	79,48 ± 8,99
12	76,62 ± 15,37
16	81,10 ± 10,36
20	85,77 ± 10,72

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa kadar gula total EPS tertinggi dihasilkan pada penambahan sukrosa konsentrasi 20% dengan kadar gula total sebesar 85,77%. Tingginya kadar gula yang terdapat dalam EPS menandakan kandungan gula dan kemurniannya yang tinggi. Selanjutnya Berdasarkan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi sukrosa tidak berpengaruh nyata pada gula total EPS (Sig > 0,05). Hal ini berarti bahwa konsentrasi sukrosa tidak mempengaruhi kadar gula total atau kemurnian dari EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.

4.7 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida menggunakan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi gugus fungsi EPS dengan FTIR dilakukan pada EPS yang dihasilkan oleh variasi penambahan konsentrasi sukrosa 20%. Variasi ini dipilih karena dapat memproduksi EPS dengan jumlah yang lebih tinggi daripada yang lain. Spektra hasil FTIR ditunjukkan pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Spektra FTIR EPS oleh *Weissella confusa*

Tabel 4.3 Gugus Fungsi dari Spektra FTIR (Socrates, 2000)

Spektra hasil analisis (cm ⁻¹)	Spektra dari literatur (cm ⁻¹)	Gugus fungsi dari literatur
3420,06	3550-3230	O-H <i>Stretching</i>
2923,73	2975-2840	C-H (metil) <i>Stretching</i>
1644,42	1550-1850	C=O <i>Stretching</i>
1416,23	1490-1150	H-C-H <i>Bending</i>
1021,17	1090-1000	C-O-C <i>Stretching</i>

Gugus fungsi yang menunjukkan keberadaan suatu polisakarida pada umumnya adalah O-H (hidroksil), C=O (karbonil), H-C-H, dan C-O-C (ester/eter). Berdasarkan penelitian Adesulu-dahunsi (2018) menunjukkan bahwa EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* memiliki beberapa puncak diantaranya spektra pada panjang gelombang 3287 menunjukkan adanya gugus O-H, selanjutnya panjang gelombang 2980 disebabkan oleh vibrasi C-H *Stretching*, kemudian pada panjang gelombang 1651 menunjukkan adanya C=O *Stretching* dan pada panjang gelombang 1009 menunjukkan vibrasi C-O-C *Stretching*.

4.8 Dialog Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Tujuan utama dalam penelitian ini adalah untuk memproduksi eksopolisakarida yang dihasilkan atau disekresikan oleh bakteri keluar sel. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa produksi EPS menggunakan *Weissella confusa* dan limbah air kelapa sebagai media cukup memuaskan karena menghasilkan sejumlah EPS yang cukup besar dengan biaya terjangkau. Penelitian ini dapat digunakan sebagai bukti keagungan Allah SWT. sebagaimana firman-NYA pada Surat An-Nahl ayat 8.

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

وَالْحَيْلَ وَالْبَعَالَ 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).

Menurut tafsir jalalayn lafadz *وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ* memiliki makna bahwa Allah menciptakan apa yang tidak manusia ketahui berupa hal-hal yang aneh dan menakjubkan. Salah satu makhluk ciptaan-NYA yang menakjubkan adalah mikroba atau bakteri. Bakteri memiliki ukuran yang sangat kecil dan hanya bisa dilihat menggunakan mikroskop. Akan tetapi meskipun ukurannya sangat kecil ada banyak bakteri yang sangat bermanfaat bagi kehidupan contohnya bakteri *Weissella confusa* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kemampuan untuk memproduksi eksopolisakarida (EPS) yang sangat berguna dalam kehidupan manusia.

Selanjutnya pada proses produksi EPS dalam penelitian ini digunakan limbah air kelapa sebagai media alternatifnya. Limbah air kelapa sangat melimpah dan apabila dibuang dalam lingkungan akan menyebabkan pencemaran. Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa air kelapa tua ternyata mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL). Hal ini kemudian juga membuktikan bahwa semua ciptaan-NYA tidak ada yang sia-sia jika kita dapat berpikir dan belajar untuk mengolahnya. Allah SWT berfirman dalam Q.S Ali Imran ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ
رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَطْلًا ۗ سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya : “orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Rabb kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

[Ali ‘Imran/3:190-191]

Al-Madinah Al-Munawwarah dalam tafsirnya menjelaskan bahwa lafadz رَّبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَطْلًا (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia) Yakni Engkau tidak menciptakan ini dengan sia-sia atau main-main akan tetapi Engkau menciptakannya sebagai bukti atas hikmah dan kekuasaan-Mu, dan untuk Engkau jadikan bumi sebagai tempat menguji hamba-hamba-Mu agar terlihat siapa diantara mereka yang mentaati-Mu dan siapa yang bermaksiat kepada-Mu.

Beberapa manfaat EPS yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah dapat digunakan sebagai stabilisator, pengental, pembentuk gel serta memiliki aktivitas biologis imunomodulator, aktivitas antitumor dan antimutagenitas. Inilah salah satu peran kita sebagai khalifah di bumi yaitu mengembangkan ilmu pengetahuan dan mengeksplorasi sumber daya alam demi kemaslahatan umat. Selain itu kita juga dituntut untuk selalu menjaga dan melestarikan alam yang kita tinggali sehingga dalam upaya untuk mengembangkan ilmu pengetahuan kita tidak semena-mena merusak dan mencemari lingkungan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil terbaik produksi eksopolisakarida dengan penambahan konsentrasi sukrosa pada media air kelapa oleh *Weissella confusa* diperoleh pada penambahan sukrosa 20% menghasilkan rendemen eksopolisakarida sebanyak 3,27 g/L dan gula total 85,77%.
2. Hasil FTIR pada EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, C-H, H-C-H, dan C-O-C secara berurutan pada bilangan gelombang 3420,06 cm⁻¹, 2923,73 cm⁻¹, 1644,42 cm⁻¹, 1416,23 cm⁻¹, dan 1021,17cm⁻¹.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk optimasi produksi EPS pada faktor yang lain seperti lama fermentasi, pH dan suhu agar didapatkan hasil yang maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesulu-Dahunsi, A. T., Sanni, A. I., Jeyaram, K., Ojediran, J. O., Ogunsakin, A. O., & Banwo, K. (2018). Extracellular polysaccharide from *Weissella confusa* OF126: Production, optimization, and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, *111*, 514–525.
- Azizah, F. R. 2019. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa dan Lama Fermentasi pada Produksi Eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides*. *Skripsi*. Malang : Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Cerning, J.R., Bouillane, M dan Desmazeaud, M.J. 1990. Comparison of exocellular polysaccharide production by thermophilic lactic acid bacteria. *Science des Aliments*, *10*: 443-451.
- Chabela, G., Fience, B. R., and Case, C. L. 2010. Introduction Microbiology Part 7. *E-Book*. 76-83. San Francisco: Addison Weasley angman.
- Dirmanto, 2006. *Concise Handbook of Indigenous Fermented Foods in the ASCA Countries*. Jakarta; Indonesian Institute of Sciences.
- Dubois, M.K., Gilles, A., Hamilton, P.A., Rebers dan Fred, S.1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substance. *Journal of University of Minnesota* vol 28(3): 350-356
- Du, R., Xing, H., Zhou, Z., dan Han, Y. 2017. Isolation, Characterisation and Fermentation Optimisation of Glucansucrase-Producing *Leuc. mesenteroides* DRP105 from Sauerkraut With Improved Preservation Stability. *International Journal of Food Science and Technology*. *52*, 2522-2530
- Fifendy, M., Eldini dan Irdawati. 2013. Pengaruh Pemanfaatan Molase terhadap Jumlah Mikroba dan Ketebalan Nata pada Teh Kombucha. *Prosiding Seminar Bidang Biologi* ISBN-978-602-98559-2-0.
- Fitria, Aida. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarida dari Tetes Tebu oleh *Lactobacillus plantarum* dan Identifikasi Senyawa Gula Penyusunnya. *Skripsi*. Malang : Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Goktepe I, Vijay KJ, & Mohamed A. 2005. *Probiotics in Food Safety and Human Health*. Boca Raton: CRC Press.
- Hardiningsih, R., Napitupulu, R. N. R., Yulinery, T. 2006. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. *BIODIVERSITAS*. *7*(1): 15-17.
- Haroun, B. M., El-Menoufy, H. A., Amin, H. A. dan El-Waseif, A. A. 2013. Biosynthesis and Morphology of an Exopolysaccharide from a probiotic *Lactobacillus plantarum* under different growth conditions. *Journal of Applied Sciences Research*, *9*(2): 1256-1265, 2013.

- 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), 1–13.
- Karlinda, N. W. D. 2019. Pengaruh Penambahan Jenis dan Konsentrasi Gula terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides* pada Media Air Kelapa. *Skripsi*. Malang : Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khairunnisa, F. dan Pato, U. 2016. Perbandingan Aktivitas Antibakteri antara *Lactobacillus casei* subs R-68 dan *Lactobacillus casei* komersil terhadap *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19. *Jurnal Teknologi Pertanian. Universitas Riau*.
- Klinchongkon, K., Bunyakiat, T., Khuwijitjaru, P., & Adachi, S. 2019. Ethanol Precipitation of Mannooligosaccharides from Subcritical Water-Treated Coconut Meal Hydrolysate. *Food and Bioprocess Technology*.
- Kumar, M. A., 2011. Production and Characterization of Exopolysaccharides (EPS) from Biofilm Forming Marine Bacterium. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Vol.54, no. 2.
- Kultsum, U. 2009. Pengaruh variasi nira tebu dar beberapa varietas penambahan sumber N dari tepung kedelai hitam sebagai substrat terhadap efisiensi fermentasi etanol. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek UIN Malang , 43-47.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. Jakarta : Erlangga.
- Li, Y., Liu, Y., Cao, C., Zhu, X. Y., Wang, C., Wu, R., & Wu, J. 2020. Extraction and biological activity of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc mesenteroides* SN-8. *International Journal of Biological Macromolecules*. Vol. 157, No. 36-44.
- Ma'at, S. 2009. *Sterilisasi dan Desinfeksi*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Malaka, R., Maruddin, F., dan Dwyana, Z. 2019. Assessment of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ropy in different substrate media. *Food Science and Nutrition*. pp. 1-8.
- Malik, A., Donna, M., Ariesranti, A.N dan Arry, Y. 2008. Skrining Gen Glukonsiltransferase (GTF) dari Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida. 2008. *Markara Sains*, Vol. 12, No. 1.
- 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., dkk. 2020. The isolation of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from lontar (*Borassus flabellifer* L.) sap. *Iranlan Journal Of*

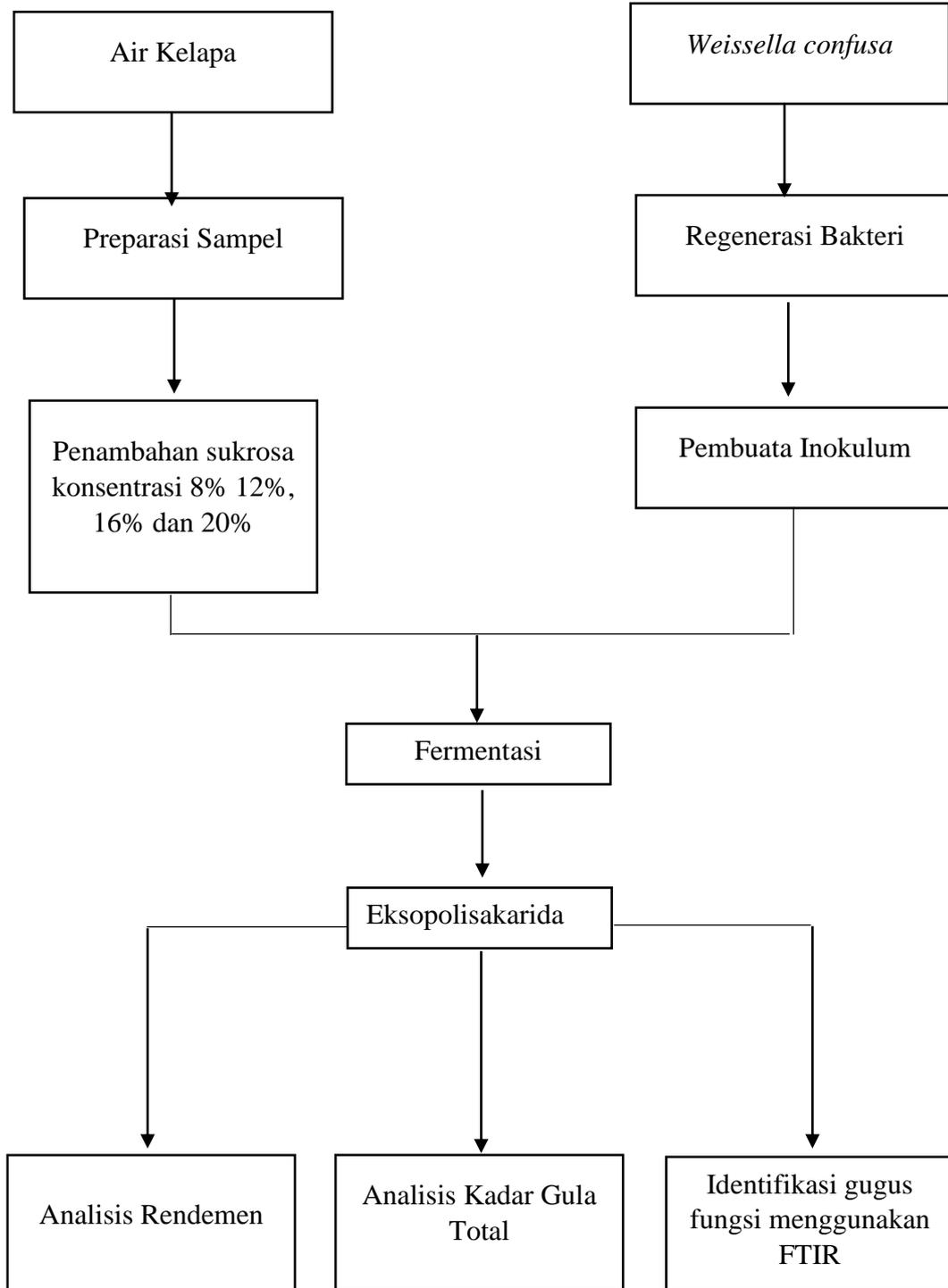
- Microbiology*. Vol. 12. No. 5. Mundiri, N. A., Megantara, I., & Anggaeni, T. T. K. (2020). Kajian Pustaka: Pemanfaatan Eksopolisakarida Bakteri Asam Laktat Probiotik Asal Produk Pangan Fermentasi sebagai Imunomodulator. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(5), 849–859.
- Nudyanto, A dan Zubaidah, E. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Kimchi. Jurusan teknologi hasil pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang. Vol.3 No 2 pp.743-748.
- Nurjannah, L., dkk. 2017. Produksi Asam Laktat Oleh *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* dengan Sumber Karbon Tetes Tebu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. Vol. 09, No. 01.
- Poedjiadi, A. dan Supriyanti, T. 2006. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : UI Press.
- Prastika, H. H., Laksmiwati, A. A. I. A. M., Ratnayani, K., & Puspawati, N. M. (2019). Penggunaan Enzim Pepsin untuk Produksi Hidrolisat Protein Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang Aktif Antioksidan. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 7(2), 180–188.
- Putri, Tiara. 2019. *Keampuhan Air dan Minyak Kelapa Bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Laksana.
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dan Fungi Endofit*. Malang : CV. Seribu Bintang.
- Romadhon dkk. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*. Vol. 8. No. 1.
- Presscott, S.C. dan Dunn, G. C. 1990. *Industrial Microbiology Third Edition*. New York: Mc. Graw Hill Book Company.
- Safitri, N. dkk. 2016. Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumber Daya Hayati*. Vol. 2 No. 2.
- 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
- Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Hanmoungjai, P., dan Techapun, C. 2011. Exopolysaccharide production by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 using coconut water as an alternative carbon source: the effect of peptone, yeast extract and beef extract. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 33 (4), 379-387.
- Seo, B.-J., Bajpai, V. K., Rather, I. A., & Park, Y.-H. (2015). Partially Purified Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YML009 with Total Phenolic Content, Antioxidant and Free Radical Scavenging Efficacy. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 49(4), 282–292.

- Setiaji, B., dkk. 2002. Peningkatan Nilai Tambah Krim Santan Kelapa Limbah Pembuatan Minyak Kelapa Sebagai Substrat *Nata de Coco*. *Indonesian Journal of Chemistry*. Vol. 2. No 3.
- Setianingsih, Tutik. 2020. *Spektroskopi Inframerah untuk Karakteristik Material Anorganik*. Malang : UB Press.
- Setyati, W. A., Martani, E., Triyanto, T., & Zainuddin, M. 2015. Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimun Jawa, Jepara. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol 20(3).
- Shivakumar, S., dan Vijayendra, S.V.N. 2006. Production of exopolysaccharides by *Agrobacterium* sp. CFR-24 using coconut water-a bioproduct of food industry. *Letters in Applied Microbiology*. ISSN 0266-6254.
- Socrates, George. 2004. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies*.
- Surono, Ingrid S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi Kesehatan*. Jakarta: PT. Tri Cipta Karya.
- Sutherland, I. W. 1998. Microbial Exopolysaccharides-Structural Subtleties and their consequences. *Pure and Application Chemical*. Vol.69 (9): 1911-1917.
- Tallon, R., P. Bressolier dan M.C. Urdaci. 2003. Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharide Produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Research in Microbiology*. 154, 705-712.
- Tayuan, Chintana. (2011). Growth and exopolysaccharide production by *Weissella* sp. from low-cost substitutes for sucrose. *African Journal of Microbiology Research*, 5(22), 3693–3701.
- Trabelsi, I., Ben Slima, S., Chaabane, H., Salah Riadh, B. 2015. Purification and Characterization of a Novel Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus* sp, Ca6. *International Journal of Biological Macromolecules* 74(2015) 541-546.
- Trenggono dan Sutardi. 1990. *Biokimia dan Teknologi Pasca Panen*. Yogyakarta: UGM Press.
- Van, H., Avishek, M dan Arun, G. 2002. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Indian Journal Microbiology*. 52(1) 3-12.
- Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1998. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., dan Mulyati S.2014. Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Journal of Biology & Biology Education*. vol. 6, no. 1
- Wongsuphachat, Wararat, dkk. 2010. Optimization of exopolysaccharides production by *Weissella confusa* NH 02 isolated from Thai fermented sausages. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 32 (1), 27-35.

- Wuryanti, W., Mulyani, N. S., Asy'ari, M., & Sarjono, P. R. (2012). Uji Ekstrak Bawang Bombay sebagai Anti Bakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram. *Bioma. Berkala Ilmiah Biologi*, 12(2), 68.
- Xu, R. H., dkk. 2010. Chemical Characterization and Antioxidant Activity of an Exopolysaccharide Fraction Isolated from *Bifidobacterium* Animals RH. *European Food Research and Technology*, 232, 231-241.
- Zubaidah, E., Liasari, Y dan Saparianti, E. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 9 No.1. 59-68.

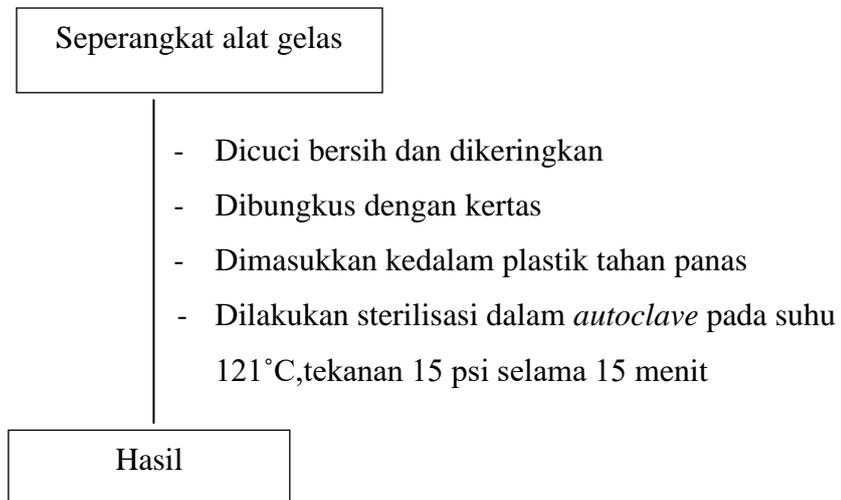
LAMPIRAN

Lampiran 1: Rancangan Penelitian

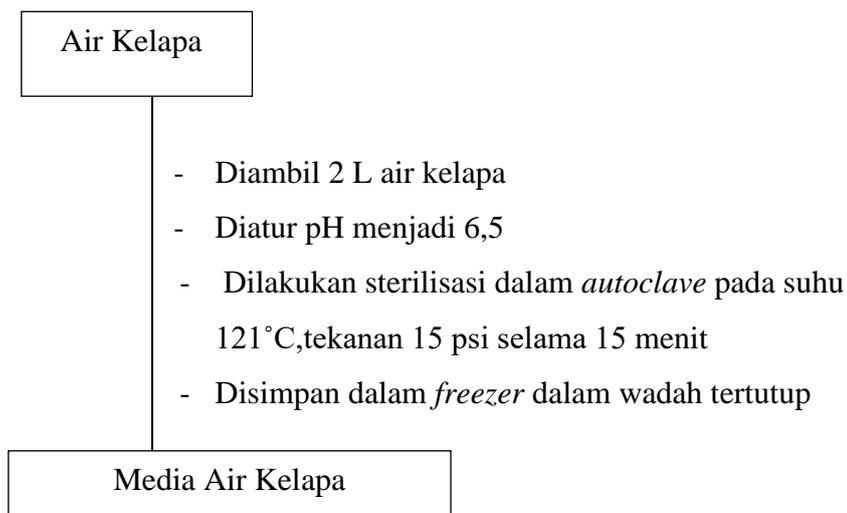


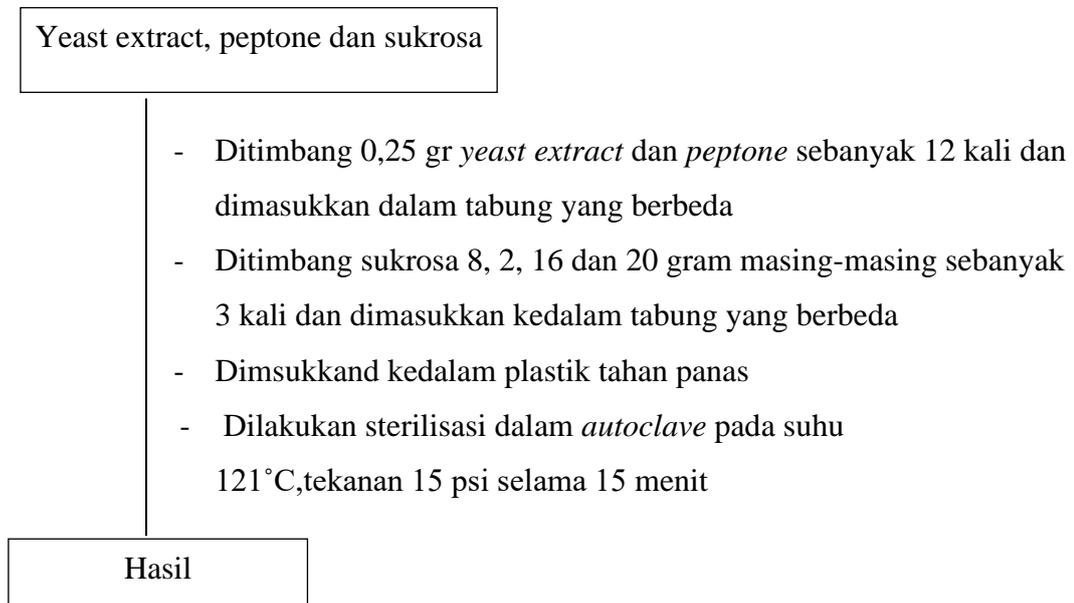
Lampian 2: Skema Kerja

➤ Sterilisasi Alat



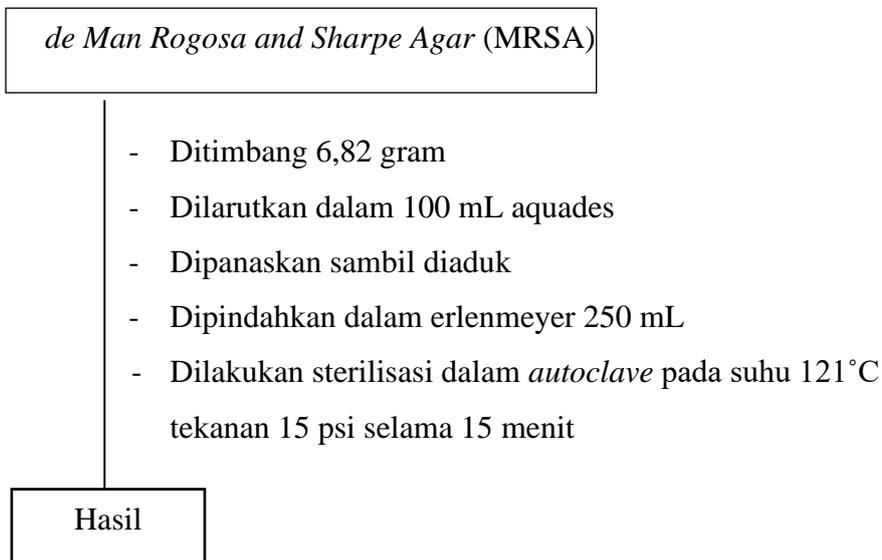
➤ Preparasi Media air Kelapa





➤ Pembuatan Media

- Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA)



- Media *de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB)

MRSB(*de Man Rogosa and Sharpe Broth*)

- Ditimbang sebanyak 5,515 gram
- Dilarutkan dalam 100 mL aquades
- Dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih
- Dipindahkan dalam erlenmeyer 250 mL
- Dilakukan sterilisasi dalam *autoclave* pada 121°C, tekanan 15 psi selama 15 menit

Hasil

- Regenerasi *Weissella confusa*

Weissella confusa

- Diambil 2 ose
- Diinokulasikan ke media MRSA
- Diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang

Hasil

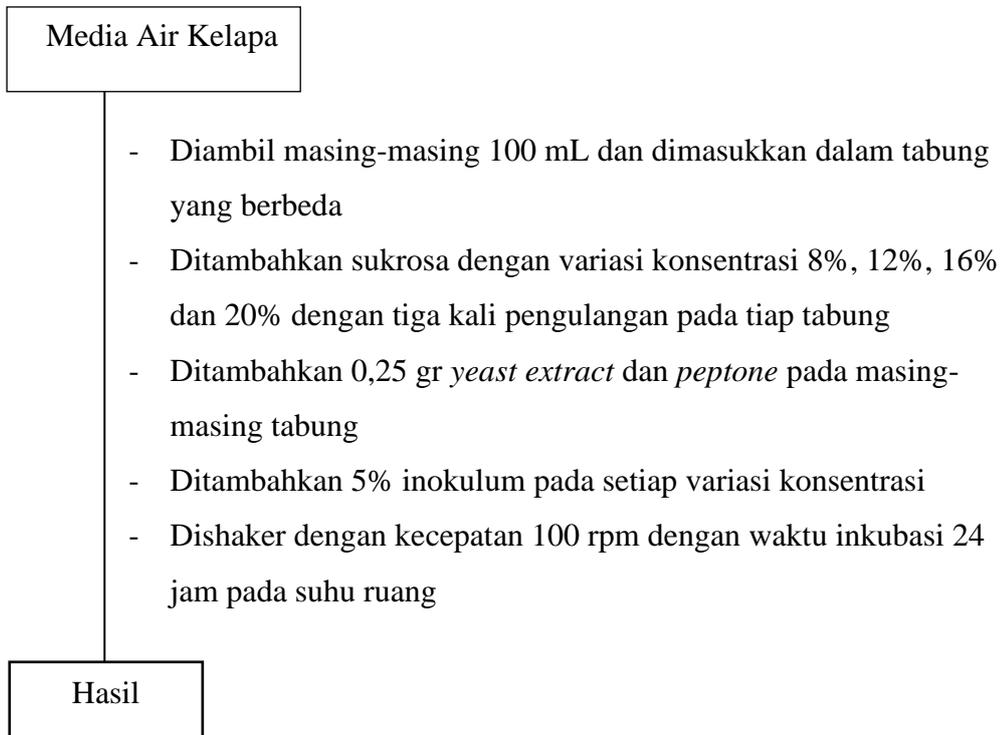
- Pembuatan inokulum

Weissella confusa

- Diambil 2 ose
- Dipindahkan ke dalam 10- mL media MRSB
- Di shaker selama 18 jam 100 rpm pada suhu 30°C
- Disetarakan nilai OD hingga 0,5
- Disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm 15 menit
- Dilakukan pencucian sel dengan aquades steril dan dibuang filtrat

Hasil

- Produksi Eksopolisakarida
 - Pengaruh Penambahan Sukrosa terhadap Produksi Eksopolisakarida dari Air Kelapa



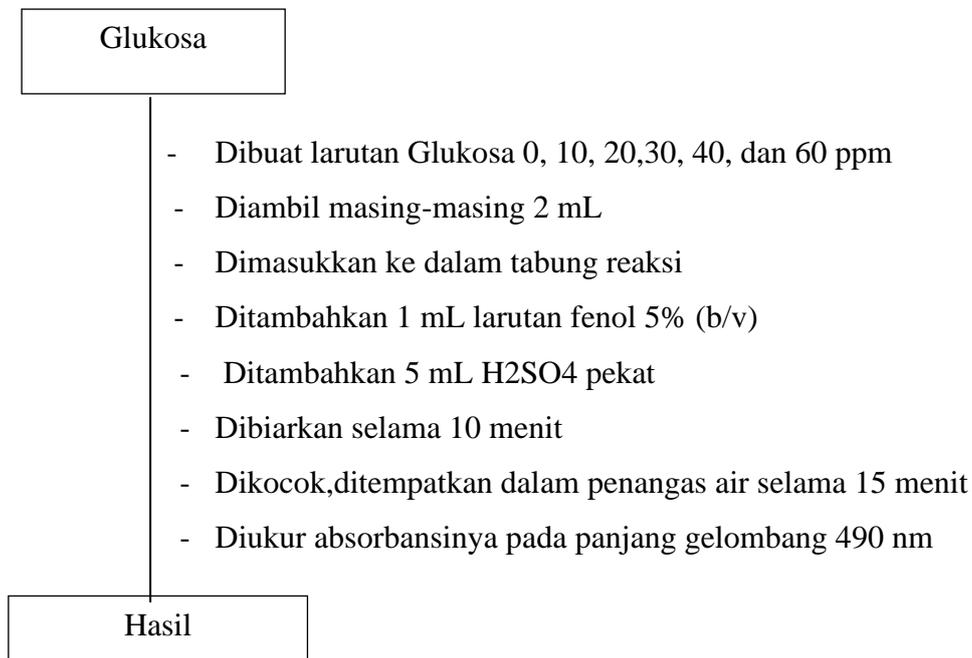
➤ Ekstraksi Eksopolisakarida dari Media Air Kelapa Hasil Fermentasi

Media Air Kelapa Hasil Fermetasi

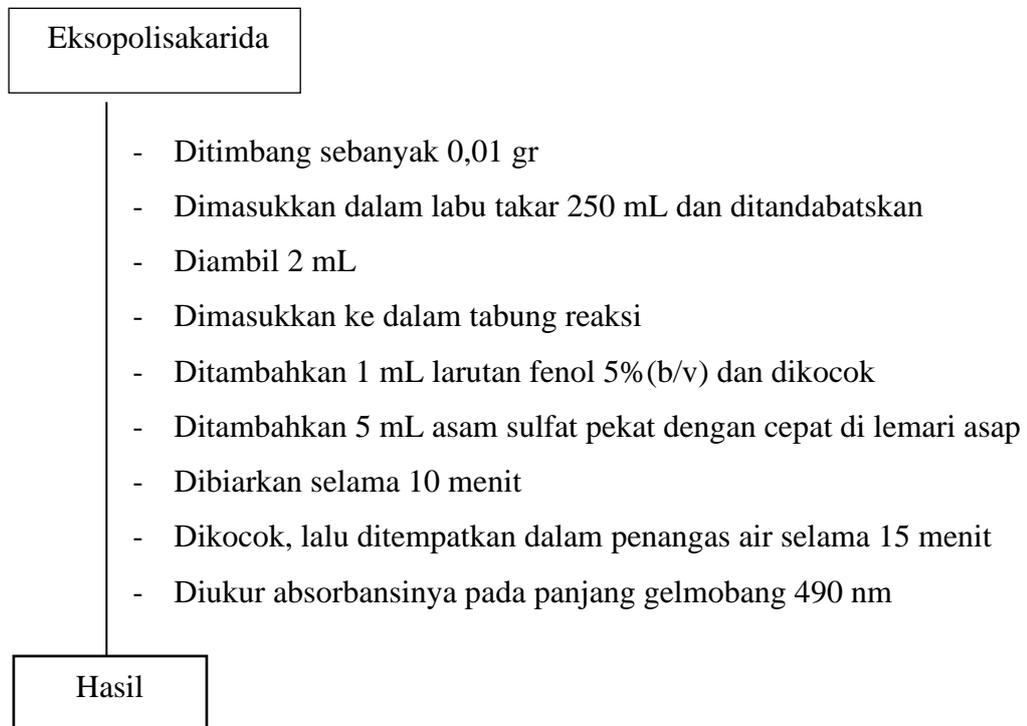
- Diambil 50 mL dan ditambahkan 10 % *trichloroacetic acid* (TCA)
- Dishaker dengan kecepatan 100 rpm selama 30 menit dalam suhu ruang
- Diambil 30 mL dan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit
- Disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit
- Diambil supernatan sebanyak 3 mL dan ditambahkan etanol dingin 96% sebanyak 60 mL
- Didiamkan selama 24 jam dalam lemari pendingin
- Pelet yang didapat dikeringkan pada suhu 60⁰ C
- Ditentukan berat eksopolisakarida kering dengan menggunakan persamaan 3.3

Hasil

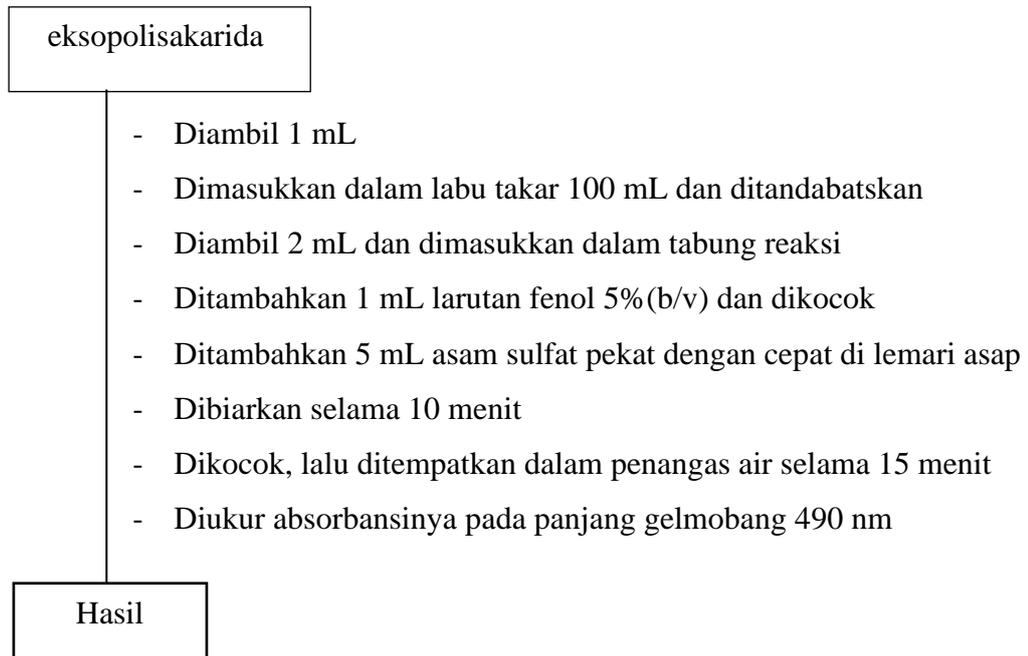
- Uji Kadar Gula Total dengan Metode Fenol H₂SO₄
 - Pembuatan Kurva Standar dengan metode Fenol H₂SO₄



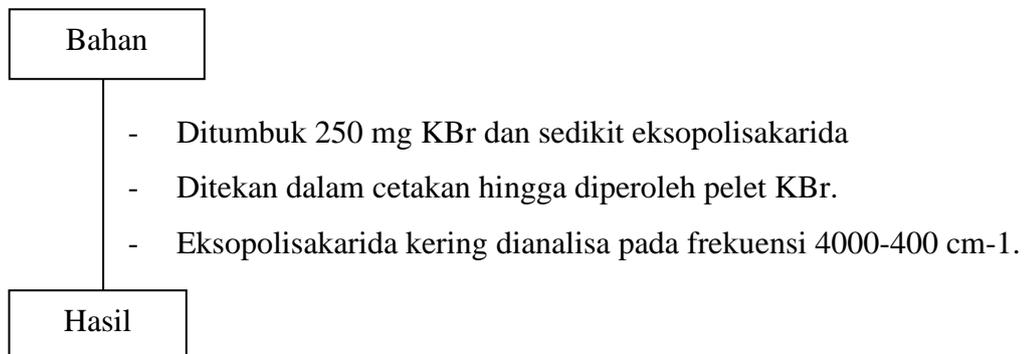
- Penetapan Kadar Gula Total dengan Metode Fenol H₂SO₄



- Penetapan Kadar Gula Total sampel dengan Metode Fenol H₂SO₄



➤ **Identifikasi Gugus Fungsi pada Eksopolisakarida menggunakan FTIR**



Lampiran 3. Perhitungan

1. Pembuatan Larutan NaOH 1N

$$\text{Normalitas} = M \times v$$

$$\begin{aligned} \text{Molaritas} &= \frac{\text{mol}}{\text{volume (L)}} \\ &= \frac{\text{massa}/Mr}{\text{volume (L)}} \times \text{Valensi} \end{aligned}$$

$$\text{Normalitas NaOH} = \frac{\text{massa NaOH}/Mr}{\text{volume (L)}} \times 1$$

$$1 \text{ N} = \frac{\frac{\text{masa}}{40 \text{ gr/L}}}{0,25 \text{ L}} \times 1 \text{ N}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa NaOH} &= 1 \text{ N} \times 0,25 \text{ L} \times 40 \text{ gr/L} \\ &= 10 \text{ gr} \end{aligned}$$

Cara pembuatan : sebanyak 10 gram NaOH ditimbang dan dimasukkan kedalam gelas beaker 100 ml, ditambahkan 50 ml aquades dan diaduk hingga larut. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, ditandabatkan dan dihomogenkan

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

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

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.

3. Pembuatan larutan NaCl 0,85 %

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

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.

4. Penentuan OD inokulum

Hasil penentuan OD₆₀₀ pada inokulum *Weissella confusa* diperoleh sebesar 1,7737. Kemudian disetarakan menjadi OD 0,5 yang digunakan sebagai inokulum kerja untuk produksi EPS.

Perhitungan OD 0,5:

a. Isolat B:

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

$$1,7737 \times V_1 = 0,5 \times 75 \text{ mL}$$

$$V_1 = 21,14 \text{ mL}$$

Sehingga cara pembuatan inokulum kerja OD 0,5 sebanyak 75 mL adalah dengan mengambil 21,14 mL dari inokulum stok dan tambahkan media MRSB sebanyak 53,86 mL.

5. Perhitungan Rendemen Eksopolisakarida

Hasil produksi eksopolisakarida dari fermentasi menggunakan media *de Man Rogosa and Sharpe broth* dengan penambahan sukrosa 2% ditunjukkan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Berat kering eksopolisakarida

Konsentrasi Sukrosa (%)	Berat Kering (gr)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
8	0,0592	0,0764	0,065
12	0,0702	0,0837	0,0739
16	0,0923	0,1021	0,0804
20	0,1077	0,0937	0,0877

Data pada Tabel 3.2 digunakan untuk menentukan rendemen eksopolisakarida menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen eksopolisakarida (gr/L)} = \frac{\text{Berat kering eksopolisakarida (gr)}}{\text{Filtrat eps (L)}}$$

Perhitungan rendemen digambarkan pada variasi 8% ulangan 1:

$$\text{Rendemen eksopolisakarida (mg/L)} = \frac{0,0592 \text{ g}}{0,03 \text{ L}} = \text{g/L}$$

Rendemen eksopolisakarida ditunjukkan pada tabel 3.3

Tabel 3.3 Rendemen rata-rata eksopolisakarida

Konsentrasi Sukrosa (%)	Rendemen (g/L)			Rata-rata (g/L)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
8	1,97	2,55	2,17	2,23
12	2,34	2,79	2,46	2,53
16	3,076	3,403	2,68	3,053
20	3,59	3,29	2,92	3,27

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

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

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

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$
$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$
$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

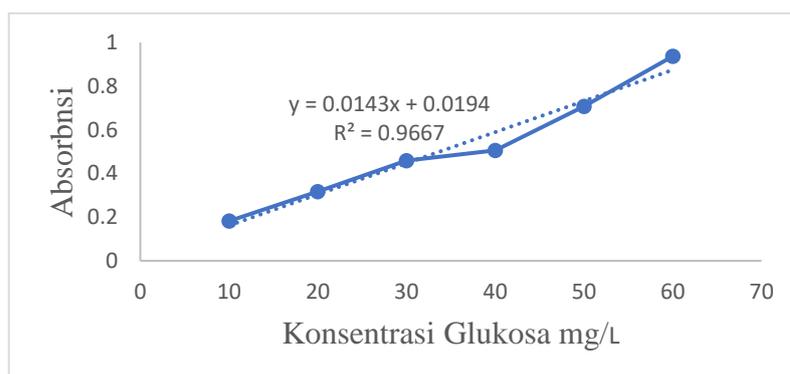
- f. Konsentrasi 60 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$
$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 60 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$
$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

7. Kurva Standar Glukosa

Tabel 3.4 Data absobansi glukosa

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,1821
20	0,3178
30	0,4598
40	0,5057
50	0,7074
60	0,9368



Gambar 3.1 Kurva Standar Larutan Glukosa

8. Analisis Kadar Gula Eksopolisakarida

Kadar gula total eksopolisakarida dilakukan dengan 0,01 mg EPS dilarutkan dalam aquades 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 3.5.

Tabel 3.5 Kadar Gula Total Eksopolisakarida

Konsentrasi Sukrosa (%)	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
8	0,5323	0,4547	0,4350
12	0,4142	0,5589	0,3999
16	0,5348	0,4967	0,4185
20	0,4893	0,5377	0,5031

Data absorbansi sampel setelah fermentasi tersebut diplotkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar glukosa yaitu $y = 0,0143x + 0,0194$ dengan y adalah absorbansi bahan baku dan x merupakan variabel yang dicari yaitu konsentrasi gula yang terkandung dalam bahan baku sebelum fermentasi. Perhitungan digambarkan seperti pada variasi sukrosa 8 % ulangan 1:

$$y = 0,0143x + 0,0194$$

$$0,5323 = 0,0143x + 0,0194$$

$$0,5323 - 0,0194 = 0,0143x$$

$$x = 35,97 \text{ ppm (Konsentrasi sesuai kurva)}$$

$$\text{Konsentrasi analisa} = \frac{10 \text{ mg}}{0,25 \text{ L}}$$

$$= 40 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar Gula (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi kurva} \times 100\%}{\text{Konsentrasi analisa}}$$

$$= \frac{23,66 \times 100\%}{40}$$

$$= 89,68$$

Kadar gula total eksopolisakarida dapat dilihat pada Tabel 3.6.

Tabel 3.6 Kadar gula total eksopolisakarida

Konsentrasi Sukrosa (%)	Kadar Gula Total (%)			Rata-rata (%)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
8	89,68	76,10	72,66	79,48
12	69,02	94,32	66,52	76,62
16	90,10	83,44	69,77	81,10
20	82,15	90,61	84,56	85,77

Lampiran 4. Hasil Analisis SPSS

4.1 Hasil Analisis Kadar EPS

Descriptives

produksi eps satuan g/L

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
8%	3	2.2300	.29462	.17010	1.4981	2.9619	1.97	2.55
12%	3	2.5300	.23302	.13454	1.9511	3.1089	2.34	2.79
16%	3	3.0530	.36205	.20903	2.1536	3.9524	2.68	3.40
20%	3	3.2667	.33561	.19376	2.4330	4.1004	2.92	3.59
Total	12	2.7699	.50430	.14558	2.4495	3.0903	1.97	3.59

ANOVA

produksi eps satuan g/L

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.028	3	.676	7.026	.012
Within Groups	.770	8	.096		
Total	2.798	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: produksi eps satuan g/L

Tukey HSD

(I) sukrosa	(J) sukrosa	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
8%	12%	-.30000	.25325	.652	-1.1110	.5110
	16%	-.82300*	.25325	.047	-1.6340	-.0120
	20%	-1.03667*	.25325	.015	-1.8477	-.2257
12%	8%	.30000	.25325	.652	-.5110	1.1110
	16%	-.52300	.25325	.243	-1.3340	.2880
	20%	-.73667	.25325	.076	-1.5477	.0743
16%	8%	.82300*	.25325	.047	.0120	1.6340
	12%	.52300	.25325	.243	-.2880	1.3340

	20%		-.21367	.25325	.833	-1.0247	.5973
20%	8%		1.03667*	.25325	.015	.2257	1.8477
	12%		.73667	.25325	.076	-.0743	1.5477
	16%		.21367	.25325	.833	-.5973	1.0247

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

produksi eps satuan g/L

Tukey HSD^a

sukrosa	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
8%	3	2.2300	
12%	3	2.5300	2.5300
16%	3		3.0530
20%	3		3.2667
Sig.		.652	.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

4.2 Hasil SPSS Kadar Gula Total EPS

Descriptives

totalgula

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
8%	3	79.4800	8.99936	5.19578	57.1244	101.8356	72.66	89.68
12%	3	76.6200	15.37953	8.87938	38.4151	114.8249	66.52	94.32
16%	3	81.1033	10.36447	5.98393	55.3566	106.8501	69.77	90.10
20%	3	85.7733	4.35856	2.51641	74.9461	96.6006	82.15	90.61
Total	12	80.7442	9.62931	2.77974	74.6260	86.8623	66.52	94.32

ANOVA

totalgula

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	132.085	3	44.028	.397	.759
Within Groups	887.875	8	110.984		
Total	1019.960	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: totalgula

Tukey HSD

(I) sukrosa	(J) sukrosa	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
8%	12%	2.86000	8.60172	.986	-24.6857	30.4057
	16%	-1.62333	8.60172	.997	-29.1691	25.9224
	20%	-6.29333	8.60172	.882	-33.8391	21.2524
12%	8%	-2.86000	8.60172	.986	-30.4057	24.6857
	16%	-4.48333	8.60172	.952	-32.0291	23.0624
	20%	-9.15333	8.60172	.719	-36.6991	18.3924
16%	8%	1.62333	8.60172	.997	-25.9224	29.1691
	12%	4.48333	8.60172	.952	-23.0624	32.0291
	20%	-4.67000	8.60172	.946	-32.2157	22.8757
20%	8%	6.29333	8.60172	.882	-21.2524	33.8391
	12%	9.15333	8.60172	.719	-18.3924	36.6991
	16%	4.67000	8.60172	.946	-22.8757	32.2157

totalgula

Tukey HSD^a

		Subset for alpha = 0.05	
sukrosa	N	1	
12%	3	76.6200	
8%	3	79.4800	
16%	3	81.1033	
20%	3	85.7733	
Sig.		.719	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 5. Dokumentasi



Gambar L.5.1 Air kelapa setelah sterilisasi



Gambar L.5.2 Pembuatan Media MRSA



Gambar L.5.3 Hasil fermentasi



Gambar L.5.4 Filtrat EPS



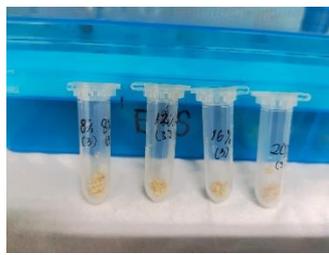
Gambar L.5.5 Ekstraksi EPS dengan etanol dingin 95%



Gambar L.5.6 Hasil ekstraksi dengan etanol dingin



Gambar L.5.7 Uji gula Total metode sulfat fenol



Gambar L.5.8 Eksopolisakarida kering



Gambar L.5.9 Media MRSB



Gambar L.5.9 Regenerasi
Weissella confusa



Gambar L.5.10 Inokulum
kerja OD 0,5