

**PENGARUH pH MEDIA TERHADAP PRODUKSI
EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN oleh *Weissella confusa***

SKRIPSI

**Oleh :
ZAINUL HASAN
NIM. 17630011**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH pH MEDIA TERHADAP PRODUKSI
EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN oleh *Weissella confusa***

SKRIPSI

**Oleh :
ZAINUL HASAN
NIM. 17630011**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) 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
2023**

**PENGARUH pH MEDIA TERHADAP PRODUKSI
EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN oleh *Weissella confusa***

SKRIPSI

Oleh :
ZAINUL HASAN
NIM. 17630011

Telah Disetujui dan Disahkan
Tanggal: 28 Juni 2023

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Dr. M. Mukhlis Fehrudin, M.S.I
NIFT. 20140201409

Mengetahui,

Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 2008012 010

**PENGARUH pH MEDIA TERHADAP PRODUKSI
EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN oleh *Weissella confusa***

SKRIPSI

Oleh :
ZAINUL HASAN
NIM. 17630011

**Telah Dipertahankan di depan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 28 Juni 2023**

Ketua Penguji : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

(.....)

Anggota Penguji I : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIDT. 19900906 20180201 2 239

(.....)

Anggota Penguji II : Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P
NIDT. 19760105 20180201 2 248

(.....)

Anggota Penguji III : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20140201409

(.....)

Mengetahui,

Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 1 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zainul Hasan

NIM : 176300011

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul penelitian : Pengaruh pH Media Terhadap Produksi Ekspolisakarida yang Dihasilkan 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-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, 28 Juni 2023

Yang membuat pernyataan,



10000
REPUBLIK INDONESIA
METERA
TEMPEL
90364AKX4B018000

Zainul Hasan

NIM. 17630011

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah hirabbil'alamin dengan mengucapkan syukur kepada **Allah SWT**.
Saya persembahkan skripsi ini kepada:

Nabi ku, **Nabi Muhammad SAW** sebagai panutan umat muslim yang penuh dengan kemuliaan memberiku motivasi tentang kehidupan dan mengajari ku hidup melalui sunnah-sunnahnya.

Kedua orang tua ku yang terbaik, tercinta, tersayang, dan terhebat **alm. Syaiful Kifli** (Ayah) dan **Latifah** (ibu) terima kasih atas segala doa yang selalu dipanjatkan, semangat yang selalu diberikan, raga yang selalu dipasang untuk menenangkan, dukungan dan motivasi yang selalu diberi agar tidak mudah menyerah dan selalu semangat menyelesaikan sesuatu yang telah dimulai. Serta lebih banyak lagi pengorbanan yang tidak bisa disebutkan dan tidak bisa membalasnya sampai kapanpun. Semoga proses pendewasaan diri selama proses perkuliahan ini dapat memberikan manfaat untuk alm.ayah dan ibu kedepannya.

Kemudian tidak lupa saya ucapkan terima kasih banyak kepada kakek **Masdin** dan **H.Salim**; Nenek **Shalehah** dan **Hj.Halimah** ; paman **Ahmad Halimi** serta kekasih tercinta **Ananda Devia Ayu Syafitri** dan semua keluarga yang turut mendukung dan memberi semangat untuk segera menyelesaikan pendidikan S-1 ini.

Dosen-dosen yang telah memberikan ilmu selama perkuliahan dan banyak hal tentang kehidupan. Kupersembahkan skripsi ini kepada bapak ibu dosen yang telah memberikan banyak ilmu bermanfaat, terkhusus Ibu **Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P** selaku dosen pembimbing skripsi yang sangat sabar dalam membimbing dan mengayomi saya, Bapak **Dr. M.Mukhlis Fahrudin M.S.I** selaku dosen pembimbing agama dan pemberi arahan, Ibu **Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P** dan Ibu **Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc** yang telah sabar membantu saya dalam proses penyusunan dan penulisan naskah menjadi lebih baik. Semoga semua arahan, nasehat dan motivasi selama perkuliahan ini dapat menjadi keberkahan dan menjadi ladang amal jariyah bagi bapak dan ibu sekalian, aamiin.

Sahabat-sahabat dan teman-temanku yang tersayang. Kupersembahkan skripsi ini kepada kalian yang selalu perhatian, motivasi, dukungan penuh, nasehat dan memberi semangat untuk terus berjuang. Khususnya untuk teman sebangunan Kurcaci, 4 Sekawan, Kimia A, Ini Grup dan Kimia Angkatan 17. Semoga Allah selalu membersamai kita dan menjaga tali silaturahmi ini dalam ketaatan di dunia hingga akhirat, aamiin.

MOTTO

**"JANGAN LIHAT SIAPA YANG MENYAMPAIKAN, TAPI LIHATLAH APA
YANG DISAMPAIKAN."**

~Ali bin Abi Thalib~

**"SEGALA SESUATU DALAM HIDUP INI MEMILIKI SOLUSI, KECUALI
KEMATIAN."**

~Pablo Escobar~

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT. yang maha pengasih lagi maha penyayang, atas segala nikmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh pH Media terhadap Produksi Ekspolisakarida yang Dihasilkan oleh *Weissella confusa*”** dengan sebaik mungkin. Selawat serta salam selalu penulis haturkan pada Nabi Muhammad SAW. 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. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rahcmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia serta seluruh dosen jurusan kimia dan laboran yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi penulis.
4. Ibu Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan banyak arahan, masukan, serta motivasi dalam membimbing penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Bapak Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I. selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan arahan, masukan, serta motivasi dalam membimbing penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

6. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P dan Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak arahan, masukan, serta motivasi dalam membimbing penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

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, Aamiin.

Malang, 28 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT.....	xvii
مستخلص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Eksopolisakarida (EPS).....	6
2.2 Biosintesis EPS.....	7
2.2.1 Homopolisakarida.....	8
2.2.2 Heteropolisakarida.....	10
2.3 Produksi EPS	12
2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi EPS	12
2.5 Bakteri Asam Laktat (BAL)	15
2.6 <i>Weissella confusa</i>	17
2.7 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat-Fenol.....	17
2.8 Analisis kadar protein.....	19

2.9 <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FT-IR)	20
2.10 Hewan (Bakteri) dan Pemanfaatannya dalam Perspektif Islam	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan	25
3.2.1 Alat	25
3.2.2 Bahan	25
3.3 Rancangan Penelitian	26
3.4 Tahapan Penelitian	26
3.5 Pelaksanaan Penelitian	27
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	27
3.5.2 Pembuatan Media	27
3.5.2.1 Media MRSA (<i>de Man Rogosa and Sharpe</i> Agar)	27
3.5.2.2 Media MRSB (<i>de Man Rogosa and Sharpe</i> Borth)	27
3.5.2.3 Media Produksi EPS.....	28
3.5.3 Regenerasi <i>Weissella confusa</i>	28
3.5.4 Pembuatan Inokulum <i>Weissella confusa</i>	28
3.5.5 Produksi EPS, Pengaruh pH media terhadap produksi EPS <i>Weissella confusa</i>	28
3.5.6 Ekstraksi EPS	29
3.5.7 Uji Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol.....	29
3.5.7.1 Pembuatan Kurva Standar dengan Metode Sulfat Fenol	29
3.5.7.2 Penetapan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol	29
3.5.8 Analisis kadar protein.....	30
3.5.8.1 Pembuatan kurva standart BSA.....	30
3.5.8.2 Analisis kadar protein EPS.....	30
3.5.9 Identifikasi gugus fungsi pada EPS menggunakan FTIR.....	30
3.5.10 Analisis data	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Pembuatan media.....	32
4.2 Regenerasi bakteri	33
4.3 Pembuatan inokulum	34
4.4 Pengaruh pH terhadap produksi EPS.....	35
4.5 Analisis kadar gula total EPS	38

4.6 Analisis kadar protein EPS	40
4.7 Analisis gugus fungsi EPS.....	41
4.6 Manfaat produksi EPS dalam perspektif islam.....	43
BAB V PENUTUP	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Biosintesis homopolisakarida	9
Gambar 2.2 Struktur homopolisakarida glukon	9
Gambar 2.3 Struktur homopolisakarida fruktan	10
Gambar 2.4 Biosintesis heteropolisakarida	11
Gambar 2.5 Reaksi terbentuknya hidroksimetil furfural	18
Gambar 2.6 Spektrum FTIR EPS dari <i>Weissella confusa</i>	21
Gambar 4.1 Hasil regenerasi <i>Weissella confusa</i>	34
Gambar 4.2 Hasil produksi EPS pH 7	36
Gambar 4.3 Kurva standar glukosa.....	39
Gambar 4.4 Kurva standar BSA	41
Gambar 4.5 Spektra FTIR EPS terpilih	42

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian tentang pengaruh pH media terhadap produksi EPS.....	15
Tabel 4.1 Pengaruh pH terhadap rendemen EPS	36
Tabel 4.2 Spektra FTIR EPS pH 7 dari <i>Weissella confusa</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan penelitian	58
Lampiran 2 Skema kerja	59
Lampiran 3 Perhitungan.....	65
Lampiran 4 Hasil analisis data produksi EPS	76
Lampiran 5 Dokumentasi.....	79

ABSTRAK

Hasan, Zainul. 2023. **Pengaruh pH Media Terhadap Produksi Eksopolisakarida Yang Dihasilkan Oleh *Weissella Confusa***. Skripsi. Program Studi Kimia. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P. Pembimbing II: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Kata kunci: Eksopolisakarida (EPS), *Weissella confusa*, pH media, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polisakarida atau polimer gula yang tersusun atas monomer gula pereduksi yang disekresi mikroorganisme ke luar sel. EPS mempunyai banyak kegunaan di bidang farmasi, sebagai antitumor, aktivasi makrofag dan mencegah gastritis, sedangkan dalam bidang pangan sebagai pelembut pada makanan peningkat cita rasa dan tekstur. *Weissella confusa* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang bisa memproduksi EPS dalam jumlah tinggi, salah satu parameter yang dapat mempengaruhi produksi EPS adalah pH media. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi pH terhadap produksi EPS serta identifikasi gugus fungsi dari EPS terpilih.

Tahapan memproduksi EPS oleh *Weissella confusa* meliputi pembuatan media, regenerasi bakteri, pembuatan inokulum, produksi EPS dengan variasi pH media 4, 5, 6, 7 dan 8, ekstraksi EPS, uji gula total, uji kadar protein, dan identifikasi gugus fungsi penyusun EPS menggunakan FTIR. Percobaan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu pH media.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pH media optimum *Weissella confusa* dalam memproduksi EPS adalah pH 7 yang menghasilkan EPS sebesar 16,7 g/L dan gula total 90,96%. Uji ANOVA menunjukkan adanya beda nyata pengaruh variasi pH media pada produksi EPS ($\text{sig} < 0,05$). Hasil identifikasi FTIR menunjukkan gugus fungsi OH pada panjang gelombang 3475,71 dan 3244,26 cm^{-1} , vibrasi C-H *stretching* pada panjang gelombang 2936,57 cm^{-1} , serapan pada bilangan gelombang 1641,41 cm^{-1} menunjukkan adanya *stretching* C=O *stretching*, setelah itu vibrasi -C-H, C-H₂ pada bilangan gelombang 1328,95 cm^{-1} dengan vibrasi bending, pada bilangan gelombang 1056,98 cm^{-1} menunjukkan vibrasi C-O-C *stretching* dan pada bilangan gelombang 997,19 cm^{-1} menunjukkan ikatan α 1-6 glikosidik.

ABSTRACT

Hasan, Zainul. 2023. **The Effect of pH Media on Exopolysaccharide Production by *Weissella Confusa***. Thesis. Chemistry Study Program. Faculty of Science and Technology Islamic State University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P. Supervisor II: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Keyword: Exopolysaccharide (EPS), *Weissella confusa*, pH of medium, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

Exopolysaccharide (EPS) is a polysaccharide or sugar polymer composed of reducing sugar monomers secreted by microorganisms to the outside of cells. EPS has many uses in the pharmaceutical field, as an antitumour, macrophage activation and preventing gastritis, while in the food field as a softener in food to improve taste and texture. *Weissella confusa* is one of the lactic acid bacteria that can produce high amounts of EPS, one of the parameters that can affect EPS production is the pH of the media. This study aims to determine the effect of pH variation on EPS production and identification of functional groups of selected EPS.

The stages of producing EPS by *Weissella confusa* include media preparation, bacterial regeneration, inoculum formation, EPS production with variations in media pH, EPS extraction, total sugar test, protein content test, and identification of EPS constituent functional groups with FTIR. Experiments in this study used a single-factor Completely Randomised Design (CRD), namely media pH which was varied 4, 5, 6, 7 and 8.

The results showed that the optimum media pH of *Weissella confusa* in producing EPS was pH 7 which produced EPS of 16.7 g/L and total sugar of 90.96%. ANOVA test showed a significant difference in the effect of media pH variation on EPS production ($\text{sig} < 0.05$). FTIR identification results showed OH functional groups at wavelengths of 3475.71 and 3244.26 cm^{-1} , C-H stretching vibrations at wavelengths of 2936.57 cm^{-1} , absorption at wave number 1641.41 cm^{-1} indicating the presence of C=O stretching, after that -C-H, C-H₂ vibrations at wave number 1328.95 cm^{-1} with bending vibrations, at wave number 1056.98 cm^{-1} showing C-O-C stretching vibrations and at wave number 997.19 cm^{-1} showing α 1-6 glycosidic bonds.

مستخلص البحث

الحسن، زين. ٢٠٢٣. أثر (pH) البواسطة على إنتاج عديد السكاريد الخارجي الذي يحصل (*Weissella Confusa*). بحثٌ أَلْمِمي. قسم الكيمياء بكلية العلوم و التكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة ١: الدكتور أنيك معونة الماجستير، المشرف ٢: الدكتور محمد مخلص فخر الدين الماجستير.

الكلمات المفتاحية: عديد السكاريد الخارجي (EPS)، (*Weissella confusa*)، (pH) البواسطة، *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

عديد السكاريد الخارجي (EPS) هو السكاريات أو البوليمر السكر التثكيل على مونومر السكر التخفيض الذي يفرز الحياة عليه إلى خروج الخلية. لدى (EPS) كثير المنافع في الصيدلة مثل مضاد للورم وتفعيل المكروفك ونحي المعوي المفاجيء. أما في الغذاء مثل المنقي في الطعام الإرتفاع المذاق والنسيج. (*Weissella confusa*) هو أحد البكتيريا الحماض اللاكتيك الذي يستطيع ان ينتج (EPS) في العدد العالي، إحدى العوامل التي تستطيع ان تؤثر نتاج (EPS) هي (pH) البواسطة. يهدف هذا البحث لمعرفة أثر لون (pH) على نتاج (EPS) وتعرف المجموعات الوظيفية من (EPS) المختار.

مرحلة إنتاج (EPS) عند (*Weissella confusa*) تتكون من إعداد البواسطة وتجديد البكتيريا وإعداد اللقاح وإنتاج (EPS) بلون (pH) البواسطة ٤,٥,٦,٧,٨ واستخراج (EPS) وإختبار السكاري الإجمالي وإختبار قياس البروتين وتعرف المجموعات الوظيفية التثكيل (EPS) باستخدام (FTIR). تستخدم التجربة في هذا البحث خطة الإعتباطي الكامل (RAL) العنصر المنفرد هو (pH) البواسطة. تدل هذه حصيلة البحث أن (pH) البواسطة الأمثل (*Weissella confusa*) في إنتاج (EPS) هي (pH) الذي يحصل (EPS) ١٦,٧ (g/L) وسكاري ٩٠,٩٦٪. يدل إختبار (ANOVA) موجود الغوص الواضح الأثر اللون (pH) البواسطة على إنتاج (EPS) >٠,٠٥ (sig). تدل حصيلة تعرف (FTIR) المجموعات الوظيفية (OH) على طول الموج ٣٤٧٥,٧١ و ٣٢٤٤,٢٦ س م^{-١}، إهتزاز (C-H stretching) على طول الموج ٢٩٣٦,٥٧ س م^{-١}، يدل الإمتصاص على عدد الموج ١٦٤١,٤١ س م^{-١} موجود (stretching C=O stretching)، بعد ذلك إهتزاز (-C-H, C-H₂) في عدد الموج ١٣٢٨,٩٥ س م^{-١} بإهتزاز (bending)، في عدد الموج ١٠٥٦,٩٨ س م^{-١} يدل الإهتزاز (C-O-C stretching) وفي عدد الموج ٩٩٧,١٩ س م^{-١} يدل رابط (α) ٦-١ جليكوسيديك.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eksopolisakarida (EPS) merupakan rantai polimer panjang dengan massa molekul tinggi yang hasil produksinya melalui sekresi oleh mikroorganisme termasuk bakteri, jamur dan alga biru-hijau (Guo dkk., 2013). EPS adalah penamaan secara umum untuk berbagai bentuk polisakarida yang dihasilkan oleh mikroba (Malaka, 2010). Penelitian tentang EPS telah banyak dilakukan karena potensinya dalam berbagai industri (Sanalibaba dan Cakmak, 2016).

Allah SWT. menciptakan segala sesuatunya sebagai rahmat untuk kemaslahatan umat manusia dan kita sebagai hamba Allah SWT. yang beriman, seharusnya senantiasa sadar bahwa kita diperintahkan untuk selalu berpikir serta mencari manfaat dari apa-apa yang diciptakan oleh Allah SWT. di muka bumi, karena penciptaan-Nya tidak ada yang sia-sia sebagaimana firman-Nya dalam Al-Qur'an pada surat Shaad ayat 27 dibawah ini:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِّلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ۗ ٢٧

Artinya : “Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya dengan sia-sia. Itu anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang yang kafir itu karena mereka akan masuk neraka”.

Dalam tafsir Al-Wajiz oleh Az-Zuhaili (1996) ayat tersebut menjelaskan bahwasannya "Allah SWT. tidak menciptakan langit dan bumi dan segala apa yang ada di antara keduanya hanya main-main dan sia-sia. Namun Allah SWT. menciptakan keduanya sebagai bukti atas kekuasaan Allah SWT. Sangkaan bahwa semua itu diciptakan hanya main-main dan tanpa tujuan juga tidak akan ada hari kiamat adalah sangkaan orang-orang kafir. Maka azab dan kebinasaan pada neraka

Jahannam adalah bagi mereka orang-orang kafir atas kekufuran mereka". Hikmah dari ayat ini kita dapat berpikir potensi akal yang diberikan Allah SWT. kepada manusia sehingga potensi ini benar-benar membuat manusia menjadi makhluk sempurna. Manusia dengan kemampuan akalnya ini mampu berpikir tentang langit dan bumi dengan segala isinya, baik yang tampak di permukaan ataupun yang tersimpan dalam perutnya, sangat besar artinya bagi kehidupan manusia. Semua itu diciptakan Allah SWT. atas kekuasaan dan kehendak-Nya sebagai rahmat yang tak ternilai harganya, seperti halnya EPS yang merupakan metabolit sekunder dengan berbagai manfaat untuk kehidupan manusia di mana proses produksinya melalui sekresi oleh mikroorganisme.

Pemanfaatan EPS secara luas pada bidang pangan, farmasi, kesehatan dan industri lainnya telah memberikan berbagai sumbangan positif pada masing-masing bidang. EPS diaplikasikan sebagai pengental, pembentuk gel, pembentuk emulsi dan pembentuk tekstur di berbagai industri pangan. EPS mampu mengikat air selama penyimpanan sehingga mempertahankan tekstur tetap lembut pada produk gel (Malik dkk., 2008). Di bidang farmasi atau pengobatan, EPS dilaporkan memiliki berbagai manfaat sebagai anti inflamasi, anti tumor dan anti infeksi (Halim dkk.,2013). Manfaat ini didasarkan pada kemampuan EPS untuk menempel dan berkolonisasi di permukaan usus sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. EPS juga memiliki aktivitas fisiologis sebagai antivirus, penghambat agregasi trombosit, sebagai penginduksi interferon dan pelumas (Anindita, 2020). EPS bisa dihasilkan dari berbagai sumber salah satunya yaitu bakteri asam laktat (BAL) (Dilna dkk., 2015).

BAL adalah bakteri Gram positif dan termasuk dalam kelompok mikroorganisme GRAS (*Generally Recognized As Safe*) (Silva dkk., 2019). Menurut Wiyana (2011) substrat dan lingkungan hidup BAL sangat luas baik di perairan, tanah, lumpur, batuan dan bisa juga menempel pada jasad hidup lain seperti tanaman, hewan serta manusia (Indriati, 2010). EPS yang diproduksi oleh BAL mempunyai banyak potensi untuk dikembangkan sebagai bahan makanan fungsional yang baik dan berguna bagi kesehatan (Amalia., 2012).

Salah satu spesies BAL yang dapat digunakan untuk produksi EPS yaitu *Weissella confusa*. *Weissella confusa* merupakan BAL, heterofermentatif dan biasanya menghasilkan EPS dengan penambahan sukrosa sebagai sumber karbonnya (Tayuan dkk., 2011). EPS diproduksi *Wiessella confusa* dalam kondisi kurang menguntungkan yang berfungsi sebagai bentuk perlindungan sel bakteri terhadap kondisi lingkungan ekstrim dan pertahanan diri dari sel lain serta bakteriofag (Nudyanto dan Zubaidah, 2015). Biosintesis EPS oleh *Weissella confusa* dipilih karena memiliki produktifitas EPS yang tinggi, hal ini tidak lepas dengan adanya faktor-faktor yang mendukung keberhasilan produksi EPS, salah satunya yaitu pH media (Zubaidah dkk., 2008).

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengkaji pengaruh pH media terhadap produksi EPS oleh *Weissella confusa* diantaranya Penelitian Wongsuphachat dkk., (2010) melaporkan bahwa *Weissella confusa* NH 02 dengan pH media 7 menghasilkan EPS sebesar 18,08 g/L. Tayuan dkk., (2011) melaporkan bahwa *Weissella confusa* PSMS4-4 dengan kondisi optimum pH 7 menghasilkan EPS sebesar 8,65 g/L. Penelitian lain juga menyebutkan tentang produksi EPS dari *Weissella confusa*, seperti penelitian Seesuriyachan dkk., (2014) melaporkan

bahwa *Weissella confusa* TISTR 1498 bisa menghasilkan EPS sebesar 63,8 g/L dengan kondisi pH media 5,53. Penelitian Dahunsi dkk., (2018) melaporkan bahwa produksi EPS oleh *Weissella confusa* OF126 dengan kondisi optimum yaitu pH 7 menghasilkan EPS sebesar 3 g/L.

EPS yang dihasilkan setiap strain *Weissella confusa* mempunyai karakteristik yang tidak sama, sehingga perlu dilakukan analisis kadar gula total untuk mengukur kandungan gula dalam EPS dan analisis kadar protein untuk mengetahui adanya kandungan protein yang terikat dalam EPS. Identifikasi profil gugus fungsi EPS perlu dilakukan untuk mengetahui struktur gugus fungsi penyusun EPS. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) merupakan alat yang efektif untuk mendeteksi struktur gugus fungsi penyusun EPS.

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan karena setiap strain *Weissella confusa* mempunyai kemampuan berbeda dalam memproduksi EPS, maka penelitian ini perludilakukan untuk mengkaji bagaimana pengaruh pH media terhadap produksi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pH media terhadap produksi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* ?
2. Bagaimana karakteristik EPS terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pH media terhadap produksi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.
2. Untuk mengetahui karakteristik EPS terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.

1.4 Batasan Masalah

1. Bakteri yang digunakan untuk produksi EPS adalah *Weissella confusa* hasil isolasi dari susu kacang tanah terfermentasi pada penelitian sebelumnya.
2. Variasi pH media yang digunakan adalah 4, 5, 6, 7 dan 8.
3. Karakteristik EPS terpilih meliputi uji gula total, uji kadar protein dan identifikasi profil gugus fungsi penyusun EPS menggunakan FTIR.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pH media optimum untuk produksi EPS oleh *Weissella confusa*.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai profil gugus fungsi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.
3. Hasil penelitian ini diharapkan bisa menjadi acuan pada penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eksopolisakarida (EPS)

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polisakarida atau polimer gula yang tersusun atas monomer gula pereduksi yang disekresi mikroorganisme ke luar sel (Patel dkk., 2012). EPS merupakan produk metabolit sekunder yang dikeluarkan saat lingkungan pertumbuhan mikroorganisme kurang menguntungkan (Mesomo dkk., 2009). EPS memiliki berat molekul sekitar 10^6 Da yang merupakan polimerisasi beberapa ratus sampai beberapa ribu tetra-heptasakarida (Malaka, 2010). EPS umumnya terdiri dari monosakarida dan biomolekul seperti asam nukleat, protein, zat humarat, lipid, dan mengandung substituen non karbohidrat seperti karboksilat, asetat, fosfat dan amino (Guibaud dkk., 2006). Monomer-monomer gula yang sering ditemukan pada EPS adalah glukosa, manosa, galaktosa, fruktosa, xilosa dan rhamnosa (Joruszuk dkk., 2015). EPS yang diproduksi dari mikroorganisme biasanya digunakan pada industri hal tersebut dikarenakan sifat fisiko-kimia yang serupa dengan polisakarida yang terdapat pada rumput laut dan tumbuhan (Nurhasanah dkk., 2020). EPS berperan dalam rasa di mulut, tekstur, dan persepsi rasa dari produk fermentasi (Zubaidah dkk., 2008). EPS juga digunakan dalam industri kesehatan yang berfungsi sebagai, antitumor, aktivasi makrofag, pengantar senyawa aktif insulin oral dan limfosit untuk meningkatkan ketahanan tubuh (Zubaidah dkk., 2008).

Mikroorganisme mampu mensintesis 3 jenis polisakarida berdasarkan letaknya. 1) Polisakarida intraseluler berfungsi sebagai tempat menyimpan karbon dan sumber energi. 2) Polisakarida yang terletak pada dinding sel penyusun asam

tekoat, peptidoglikan dan lipopolisakarida. 3) Polisakarida ekstraseluler (EPS) yang berfungsi untuk membentuk sekret pada permukaan sel atau medium pertumbuhan (Aziz dkk., 2012). Dua tahapan mekanisme sintesis EPS tergantung apakah heteropolisakarida atau homopolisakarida. Homopolisakarida disintesis oleh enzim yang spesifik, proses sintesis terjadi di luar sel seperti, dextran dan levan, sedangkan heteropolisakarida proses sintesisnya lebih kompleks di dalam sel membentuk unit berulang dan memiliki struktur yang kompleks seperti xantan dan gellan (Mahapatra dan Banerjee, 2013).

Faktor yang mempengaruhi produksi EPS antara lain sumber karbon, sumber nitrogen, pH, kandungan mineral, waktu fermentasi, dan suplai oksigen pada kultur (Mahapatra dan Banerjee, 2013). Karbon dan nitrogen merupakan nutrisi yang esensial bagi mikroorganisme untuk pertumbuhan sel, metabolisme dan pembentukan sekret pada medium fermentasi. Karbon yang biasanya digunakan yaitu dekstrosa, fruktosa, mannosa, glukosa. Bahan organik seperti yeast, pepton, urea, dan bahan anorganik seperti kalium sulfat, ammonium nitrat dan amonium sulfat biasanya digunakan sebagai sumber nitrogen. Proses produksi EPS secara respirasi aerob memerlukan oksigen dengan cara agitasi untuk menyalurkan oksigen pada medium (Anike dkk., 2015).

2.2 Biosintesis EPS

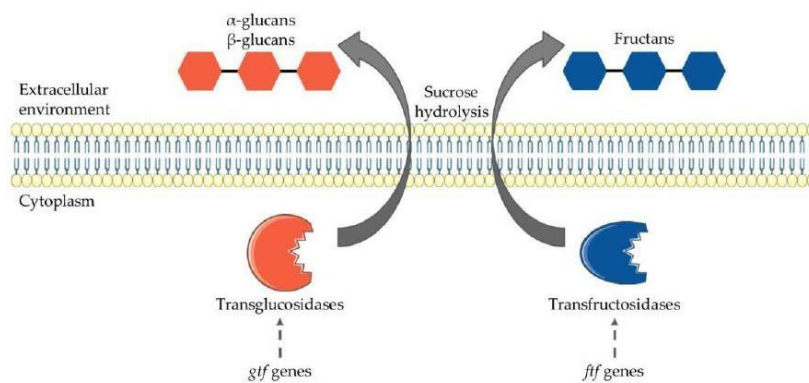
Biosintesis EPS dilakukan pada fase pertumbuhan yang berbeda tergantung jenis mikroorganismenya. EPS merupakan metabolit sekunder BAL yang disekresikan dalam kondisi lingkungan yang ekstrim. Berdasarkan komposisi monosakaridanya EPS dibagi menjadi homopolisakarida dan heteropolisakarida (Patel dkk., 2012). Homopolisakarida terdiri dari satu jenis monosakarida dan

disintesis dalam media ekstraseluler, sedangkan heteropolisakarida terdiri dari beberapa monosakarida yang disintesis dalam media intraseluler (Guerin dkk., 2020). Umumnya EPS tersusun atas monosakarida dan komponen non-karbohidrat, diantaranya suksinat, fosfat, piruvat dan asetat (Nouha dkk., 2018).

2.2.1 Homopolisakarida

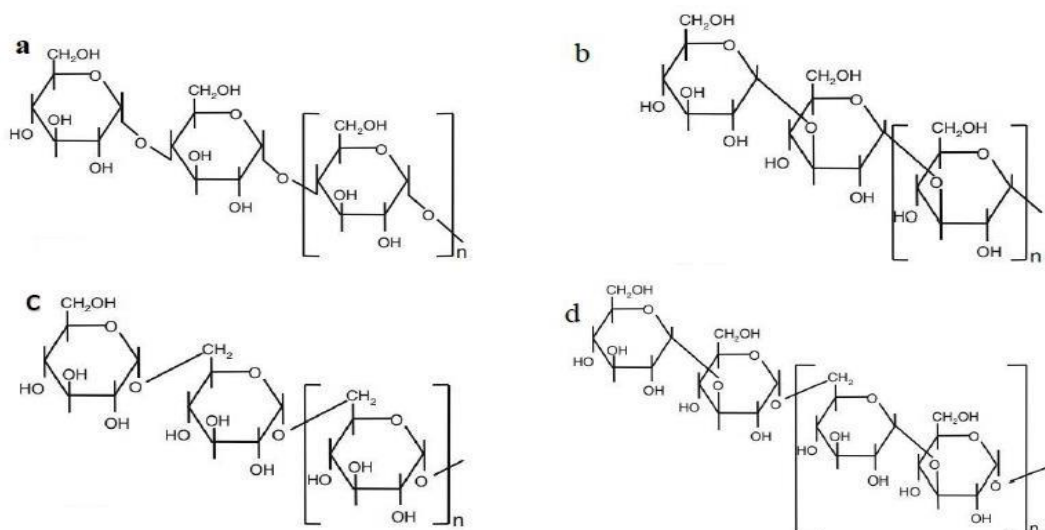
Homopolisakarida adalah polisakarida yang terdiri dari unit monosakarida yang sama. (Oleksy dkk., 2018). Bakteri yang mampu mensintesis homopolisakarida diantaranya adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Weissella* (Guerin dkk., 2020). Sintesis homopolisakarida pada bakteri dibantu oleh enzim ekstraseluler yaitu glukansukrase atau fruktansukrase (Juvonen dkk., 2015). Kedua enzim tersebut mentransfer monosakarida dari substrat spesifik dengan cara menghidrolisis monosakarida yang selanjutnya akan melekat pada rantai akseptor glikan, sehingga terbentuk rantai polisakarida (Zhou dkk., 2019). Glukansukrase dikendalikan oleh gen glikosiltransferase (gtf) sedangkan fruktansukrase dikendalikan oleh gen fruktosiltransferase (ftf). Glukansukrase termasuk dalam enzim amilase yang berperan dalam sintesis glukosa dan fruktan sebagai penghidrolisis ikatan glikosida (Guerin dkk., 2020).

Spesifitas reaksi glukansukrase dapat dilihat dari kemampuannya yaitu memecah ikatan α -glikosidik pada bagian glukosa dan unit monosakarida lain pada sisi katalitik enzim, spesifitas lain juga dapat dilihat pada susunan asam amino yang menyusunnya. Struktur tiga dimensi glukansukrase mengandung inti katalitik yang berisi 3 domain dengan 2 domain tambahan yang melekat yaitu domain IV dan V. Beberapa domain terdiri dari 2 bagian polipeptida yang terputus sehingga menghasilkan struktur berbentuk U (Leemhuis dkk., 2013).



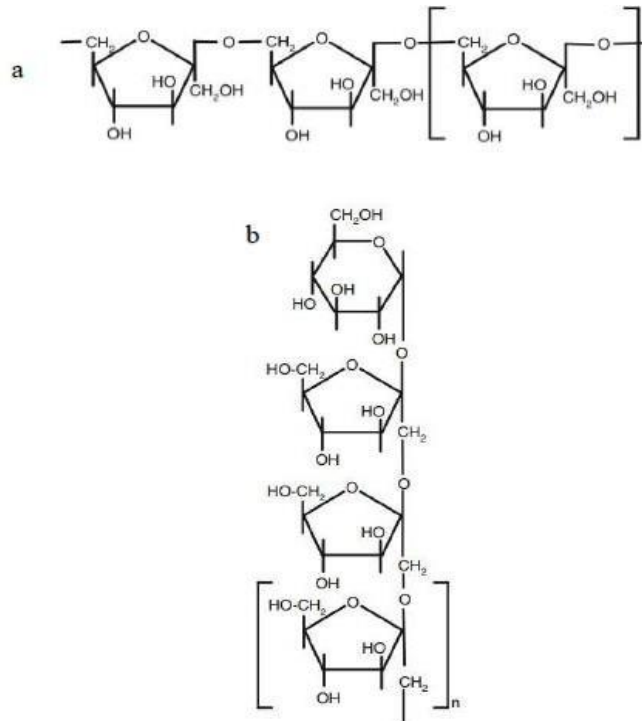
Gambar 2.1 Jalur Biosintesis Homopolisakarida (Guerin dkk., 2020)

Homopolisakarida dapat diklasifikasikan berdasarkan ikatan glikosidik, struktur polimer, panjang rantai dan berat molekul. Homopolisakarida terdiri dari glukosa dan fruktosa. Glukosa disintesis dari sukrosa oleh glukansukrase dan dicirikan oleh jumlah atom karbon pada ikatan α dan β . Berdasarkan jenis ikatan serta posisi karbon dalam ikatan, α -glukosa dibagi lagi menjadi dekstran (α -1,6), mutan (α -1,3), reuteran (α -1,4) dan alternan (α -1,3 dan α -1,6) (Daba dkk., 2021). Struktur homopolisakarida glukosa dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur Homopolisakarida Glukosa a. Reuteran, b. Mutan, c. Dekstran, d. Alternan (Daba dkk., 2021)

Fruktan terdiri dari fruktosa dan disintesis oleh β -fruktansukrase, contohnya adalah inulin dan levan. Fruktan mengandung ikatan β -(2,6) atau β -(2,1). Levan terdiri dari ikatan β -(2,6), sedangkan inulin terdiri dari ikatan β -(2,1) dan memiliki rantai cabang pada posisi β -(2,6) (Daba dkk., 2021). Struktur homopolisakarida fruktan dapat dilihat pada Gambar 2.3.



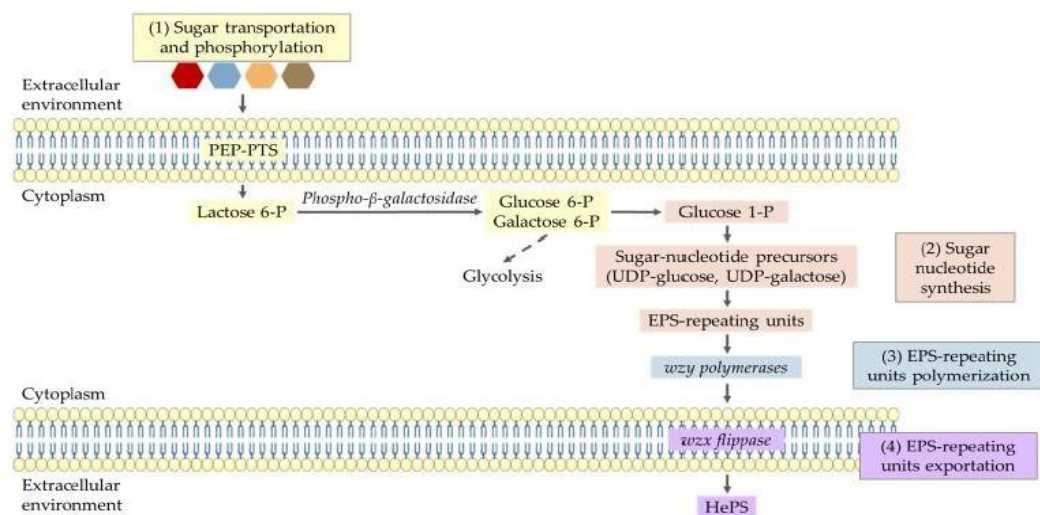
Gambar 2.3 Struktur Homopolisakarida Fruktan a. Levan, b. Inulin (Daba dkk., 2021)

2.2.2 Heteropolisakarida

Heteropolisakarida adalah polisakarida yang terdiri dari unit monosakarida yang berbeda. Heteropolisakarida biasanya terdiri dari 2 sampai 8 monosakarida dengan derajat polimerisasi yang berbeda-beda. Unit penyusun heteropolisakarida di antaranya adalah glukosa, rhamnosa, manosa, fruktosa dan galaktosa. Struktur heteropolisakarida bisa linier atau bercabang, tergantung oleh jumlah dan jenis monosakarida serta jenis ikatannya (Ripari., 2019). Berbagai strain BAL yang

berbeda diisolasi dari produk susu, sereal, dan minuman beralkohol mensintesis heteropolisakarida antara lain adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Bifidobacterium* (Laura dkk., 2012).

Heteropolisakarida disintesis melalui 4 tahap yaitu (1) transportasi gula ke dalam sel sitoplasma bakteri, (2) sintesis nukleotida, (3) polimerisasi EPS dan (4) EPS yang dihasilkan akan disekresikan keluar dari sel. EPS akan berbentuk polimer berlendir atau menempel di dinding sel berbentuk kapsul.



Gambar 2.4 Biosintesis Heteropolisakarida (Guerin dk., 2020)

Transportasi dan fosforilasi gula terjadi melalui sistem phosphoenolpyruvate-phosphotransferase (PEP-PTS), di mana protein menghubungkan residu gula ke molekul pembawanya dan bertanggung jawab atas transportasi antar membran dan fosforilasi gula. Pada tahap kedua akan disintesis nukleotida melalui hidrolisis Laktosa 6-P menjadi Glukosa 6-P dan Galaktosa 6-P oleh enzim Phospho-β-galactosidase. Glukosa 6-P dan Galaktosa 6-P diubah menjadi Glukosa 1-P yang selanjutnya diubah menjadi UDP-glukosa dan UDP-galaktosa secara intraseluler. UDP-glukosa dan UDP-galaktosa merupakan prekursor nukleotida yang akan berpolimerisasi membentuk heteropolisakarida.

Proses ini dikendalikan oleh gen glikosiltransferase (gtf), yang bertanggung jawab juga terhadap proses regulasi, penentuan panjang rantai, polimerisasi dan keluarnya EPS ke sel. Keanekaragaman heteropolisakarida yang dihasilkan BAL tergantung pada gen gtf. Pembentukan transportasi dan polimerisasi EPS terjadi melalui jalur Wzx/Wzy. Polimerisasi menjadi heteropolisakarida melalui jalur Wzy, kemudian disekresikan keluar sel oleh enzim flippase yaitu Wzx (Xu dkk., 2019).

2.3 Produksi EPS

Fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan atau tanpa akseptor elektron eksternal (Dirmanto, 2006). Kebanyakan fermentasi, menggunakan substrat yang sama sebagai reduktor dan oksidan. Polisakarida, protein, DNA dan lipid adalah polimer yang diserang oleh enzim ekstraseluler dan rusak menjadi lebih kecil yang diambil oleh degrader awal atau fermentor lainnya (Muller, 2001). Glukosa, fruktosa dan sukrosa merupakan karbohidrat yang sering digunakan dalam fermentasi untuk menghasilkan asam laktat, etanol, asam butirat, aseton dan hidrogen. Jaman dulu fermentasi dilakukan secara tradisional dengan proses yang relatif murah dan mudah menghasilkan produk-produk seperti tape, tempe, oncom dan lainnya (Nurhayani, 2000). EPS diproduksi oleh *Weissella confusa* dalam kondisi yang kurang menguntungkan, berbagai hal yang dapat mempengaruhi produksi EPS di antaranya adalah media, konsentrasi substrat, penambahan sukrosa, konsentrasi inokulum, pH, dan suhu.

2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi EPS

1. Jenis-jenis media

Jenis media yang dapat digunakan untuk mengoptimalkan proses fermentasi *Weissella confusa* dalam memproduksi EPS sangat beragam, karena rantai utama

EPS berupa glukosa. Bakteri memperoleh nutrisi yang diperlukan selnya untuk mensintesis protoplasma dari berbagai sumber nutrisi, seperti sumber karbon, sumber nitrogen, ion-ion anorganik tertentu, metabolit dan air (Volk dan Wheeler, 1988). Menurut Anindita (2020) BAL dapat memproduksi EPS pada media MRSB untuk starter *Weissella confusa*.

2. Konsentrasi Substrat

Umumnya konsentrasi substrat berbanding lurus dengan kecepatan suatu reaksi enzimatik, apabila konsentrasi substrat meningkat maka kecepatan reaksi akan meningkat. Peningkatan kecepatan reaksi secara bertahap akan semakin kecil pada saat titik batas sudah tercapai sehingga penambahan konsentrasi substrat tidak lagi berpengaruh (Lehninger, 1997). Kecepatan reaksi maksimum terjadi karena seluruh enzim telah membentuk ikatan kompleks dengan substrat (Trenggono dan Sutardi, 1990).

3. Penambahan Sukrosa

Sukrosa merupakan salah satu jenis karbohidrat yang penting dalam proses pembentukan EPS. Sukrosa bisa menjadi sumber karbon dalam media fermentasi sehingga dapat dimetabolisme oleh BAL menjadi senyawa asam laktat. Semakin besar jumlah sukrosa yang ditambahkan dalam media fermentasi maka rendemen EPS akan meningkat (Anindita, 2002).

4. Konsentrasi Inokulum

Teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media agar memungkinkannya tumbuh dengan agak berjauhan dari sesamanya, juga memungkinkan setiap selnya berhimpun membentuk koloni, yaitu sekelompok massa sel yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Bahan yang diinokulasikan

pada media disebut inokulum (Pelczar dkk., 2008). Hasil fermentasi dipengaruhi oleh kadar inokulum pada saat fermentasi, semakin besar konsentrasi inokulum akan mempercepat dan memperbanyak pembentukan EPS, tapi jika konsentrasi inokulum yang terlalu besar akan menyebabkan fermentasi tidak efisien (Franca, 2009).

5. Lama Fermentasi

Lama fermentasi sangat mempengaruhi hasil produksi EPS, hal ini disebabkan karena fermentasi merupakan tahap dalam pembentukan EPS. Lama fermentasi merupakan parameter yang sangat berpengaruh terhadap massa molekul, jenis gula penyusun, dan komposisi gula pada EPS (Lin dan Chien, 2005). Dalam penelitian Jin dkk., (2019) menunjukkan *Weissella confusa* VP30 menghasilkan EPS pada lama fermentasi 48 jam sebesar 59,99 g/L.

6. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang cukup penting dalam proses fermentasi *Weissella confusa* dalam memproduksi EPS. Bakteri memiliki suhu optimum yang berbeda-beda, suhu fermentasi yang terlalu tinggi akan berpengaruh terhadap mikroba dan enzim yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi protein dan enzim. Enzim dapat bekerja dengan lambat pada suhu di bawah titik beku dan kereaktifannya akan meningkat pada suhu 45 °C. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Haroun dkk., (2013) suhu optimum *Weissella confusa* dalam memproduksi EPS yaitu suhu 37 °C dengan hasil rendemen terbaik 59 g/L.

7. pH Media

pH merupakan salah satu parameter penting yang bisa mempengaruhi total EPS kasar yang dihasilkan (Zubaidah dkk., 2008). Setiap spesies bahkan strain memiliki nilai pH optimum yang spesifik, pH yang terlalu tinggi akan berpengaruh terhadap mikroba dan enzim yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri. Menurut Hardiningsih dkk., (2006) pH optimum yang dibutuhkan BAL untuk pertumbuhan adalah 6,5, sedangkan pH optimum untuk pertumbuhan isolat *Weissella confusa* adalah pada kondisi netral yaitu sekitar 7. Penelitian yang dilakukan oleh Jin dkk., (2019) melaporkan bahwa isolat *Weissella confusa* bekerja optimum untuk memproduksi EPS pada pH 7 dengan hasil EPS 59,99 g/L. Penelitian lain mengenai pengaruh pH terhadap produksi EPS dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Penelitian tentang pengaruh pH media MRSB terhadap produksi EPS

Penelitian	Variasi pH	Rendemen EPS
Wongsuphachat dkk., (2010)	5; 5,7; 6; 6,5; 7; 7,5	Hasil EPS tertinggi diperoleh pada pH 7 dengan rendemen EPS sebesar 18,08 g/L
Tayuan dkk., (2011)	4,5; 5; 6; 7; 8	Hasil EPS tertinggi diperoleh pada pH 7 dengan rendemen EPS sebesar 8,65 g/L
Seesuriyachan dkk., (2014)	3,4; 4; 5,5; 7; 7,6	Hasil EPS tertinggi diperoleh pada kondisi pH 5,53 dengan rendemen EPS sebesar 63,8 g/L
Dahunsi dkk., (2018)	6; 6,5; 7; 7,5; 8	Hasil EPS tertinggi diperoleh pada pH 7 dengan rendemen EPS sebesar 3 g/L

2.5 Bakteri Asam Laktat (BAL)

BAL adalah bakteri yang mampu memberikan pengaruh positif bagi kesehatan dengan cara menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba dan hasil metabolisme lain (Nurhasanah dkk., 2020). BAL adalah bakteri Gram

positif, tidak membentuk spora, bakteri katalase negatif yang tidak memiliki sitokrom. BAL dapat tumbuh di sekitar pH 3,5-10,0 serta suhu 5 °C-45 °C (Rahman dkk., 2013). Berdasarkan kebutuhan akan oksigen BAL merupakan bakteri non-aerob, tetapi masih toleran terhadap kondisi aerob dan memiliki toleransi terhadap asam, dan bersifat fermentatif ketat. Asam laktat adalah produk akhir utama yang dihasilkan dari fermentasi gula (Suskovic dkk., 2010). Morfologi koloni BAL secara makroskopis bentuknya sirkular, elevasi cembung, tepi rata, warna koloni kekuningan, dan putih dengan diameter koloninya 0,5-1 mm (Zakariah dkk., 2019). BAL termasuk dalam kelompok bakteri yang memenuhi standar GRAS (*Generally Recognized as Safe*) yaitu bakteri baik yang aman bagi manusia (Nasution, 2012). Mekanisme kerja BAL bekerja dengan cara memetabolisme berbagai jenis karbohidrat secara fermentatif menjadi asam-asam organik (Nasution, 2012).

Substrat dan lingkungan hidup BAL sangat luas, baik di perairan, tanah, lumpur, batuan, dan bisa juga menempel pada jasad hidup lain seperti tanaman, hewan, serta manusia (Indriati, 2010). BAL ditemukan di dalam tubuh manusia pada saluran gastrointestinal, saluran kemih, dan saluran vagina yang berfungsi untuk berkompetisi dengan mikroba patogen yang terdapat pada organ tersebut (Pasolli dkk., 2020).

Produk yang dihasilkan oleh BAL sangat banyak salah satunya yaitu EPS dengan cara dikultivasi pada suhu antara 30-37°C pada media *de Man Rogosa and Sharpe* (MRS), susu atau senyawa derivatifnya (Badel dkk., 2011). Senyawa derivatif MRS yang berbasis glukosa dan susu berbasis laktosa merupakan media utama yang disarankan dalam memproduksi EPS pada beberapa jenis BAL (Cerning dkk., 1992), contohnya *Lactobacillus plantarum* (Wang dkk., 2014),

Nostoc carneum (Hussein dkk., 2015), *Pleurotus eryngii* (Sun dkk., 2013), *Micrococcus luteus* (Asker dkk., 2014), *Lactobacillus rhamonus* (Berecka dkk., 2013), *Lactobacillus casei* (Tallon dkk., 2006) dan *Weissella confusa* (Anindita, 2020).

2.6 *Weissella confusa*

Weissella adalah BAL yang pada awalnya digolongkan ke dalam *Leuconostoc* atau *Lactobacillus*, namun Collins dkk., pada tahun 1993 mengidentifikasi ciri biokimia yang khas pada *Leuconostoc* atau *Lactobacillus* dan diklasifikasikan sebagai *Weissella*. *Weissella confusa* adalah salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam untuk produksi EPS (Jin dkk., 2019). *Weissella confusa* ditemukan dalam makanan fermentasi dan telah disarankan sebagai probiotik (Fairfax dkk., 2014). *Weissella confusa* menghasilkan dekstran dalam dedak gandum, yang bertindak sebagai hidrokoloid dan meningkatkan kualitas roti gandum berserat tinggi (Kajala dkk., 2015). Klasifikasi *Weissella confusa* sebagai berikut:

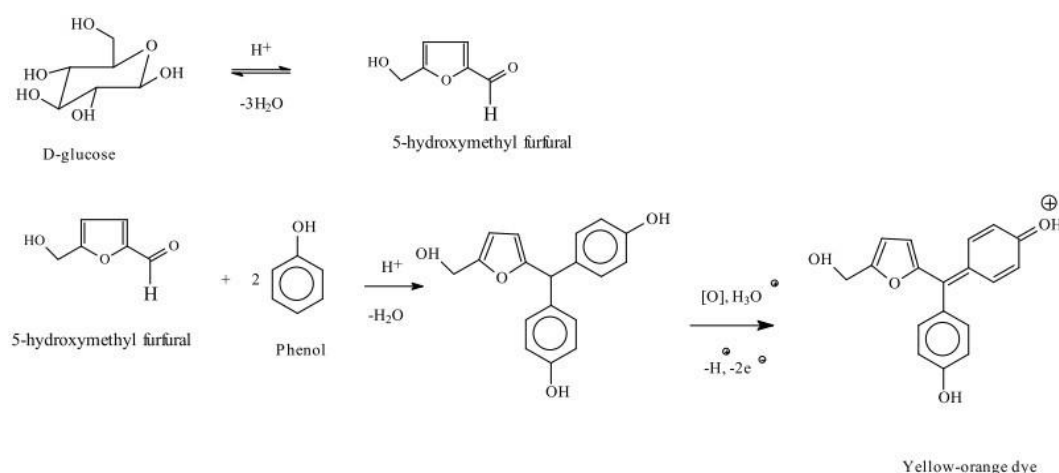
Kingdom	: Bakteri
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Basil</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Lactobacillaceae</i>
Genus	: <i>Weissella</i>
Spesies	: <i>Weissella confusa</i>

2.7 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat-Fenol

Metode sulfat-fenol merupakan metode klasik dengan sejarah yang panjang dalam penggunaannya. Metode sulfat-fenol adalah metode kimia yang diterapkan pada penentuan gula total. Metode sulfat-fenol dapat dimanfaatkan untuk menentukan kadar glukosa dalam sampel (Cui, 2005). Metode sulfat fenol bisa

mendeteksi secara virtual semua kelas karbohidrat termasuk mono-, di-, oligo- dan polisakarida, meskipun metode sulfat-fenol mendeteksi hampir semua karbohidrat absorptivitas tersebut dari karbohidrat yang berbeda bervariasi (Nielsen, 2010).

Gula reduksi dan gula non-reduksi merupakan golongan karbohidrat. Perubahan warna larutan glukosa dalam sampel dari tidak berwarna menjadi berwarna jingga kekuningan, hal ini dikarenakan asam sulfat pekat ketika direaksikan dengan fenol dan glukosa akan menghasilkan panas yang menyebabkan glukosa terhidrasi menjadi senyawa hidroksimetil furfural (Lailah dkk., 2017). 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 semakin tinggi pula tingkat kemurniannya (Widodo, 2021). Prinsip dasar dari metode ini adalah karbohidrat ketika didehidrasi melalui reaksi dengan asam sulfat pekat, menghasilkan turunan furfural. Reaksi selanjutnya antara turunan furfural dan fenol menghasilkan warna yang dapat dideteksi (Albalasmeh, 2013).



Gambar 2.5 Reaksi terbentuknya hidroksimetil furfural (Boahen dan Isaac., 2015)

Penentuan kadar gula pada EPS didasarkan pada kurva standar, karena yang akan dicari adalah kadar gula dalam EPS maka membutuhkan kurva standar. Untuk membuat kurva standar setidaknya dibutuhkan tiga konsentrasi senyawa, namun jika lima konsentrasi atau lebih banyak akan lebih ideal untuk kurva yang lebih akurat, konsentrasi harus dimulai tepat di atas dan di bawah konsentrasi sampel yang tidak diketahui. Kurva standar yang diolah dari data penelitian akan menghasilkan persamaan regresi linier dan nilai regresi berupa $y = ax - b$ dan R^2 , keselarasan model regresi dapat diterangkan dari nilai R^2 , ketika nilai tersebut mendekati satu maka seluruh variasi dalam variabel terikat (variabel Y) dapat diterangkan oleh model regresi, jika nilai $R^2 = 0$ maka tidak ada hubungan antara variabel bebas (variabel X) dan variabel terikat (variabel Y) (Pavan dan Andrew, 2020).

2.8 Analisis Kadar Protein EPS

Penentuan kadar protein EPS menggunakan metode Lowry, kadar protein termasuk senyawa yang tidak diinginkan sehingga perlu dipisahkan. Prinsip metode Lowry adalah reaksi antara Cu^{2+} dengan ikatan peptida dan reduksi asam fosfomoblidat dan asam fosfotungstat oleh tirosin dan triftofan (Apriyantono dkk., 1989). Pada metode Lowry menggunakan spektrofotometer untuk mengukur nilai absorbansi dari larutan. Neldawati., (2013) mengatakan bahwa nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung di dalam suatu sampel. Hal ini menandakan bahwa besarnya kadar protein dipengaruhi oleh hasil absorbansi. Nilai absorbansi yang didapatkan dipengaruhi oleh ikatan peptida pada protein yang berinteraksi dengan Cu^{2+} , di mana semakin banyak Cu^{2+} yang

dihasilkan akan berpengaruh pada semakin banyaknya reaksi reduksi antara reagen folin ciocalteau dengan Cu^{2+} .

Kadar protein dapat ditentukan dengan membaca kurva standar yang dibuat dengan larutan protein murni yang telah diketahui kadar proteinnya seperti *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang memiliki rentang konsentrasi tertentu, kemudian konsentrasi sampel berprotein berada pada rentang tersebut dengan konsentrasi yang semakin menaik (Sudarmadji, Slamet. Dkk., 1981).

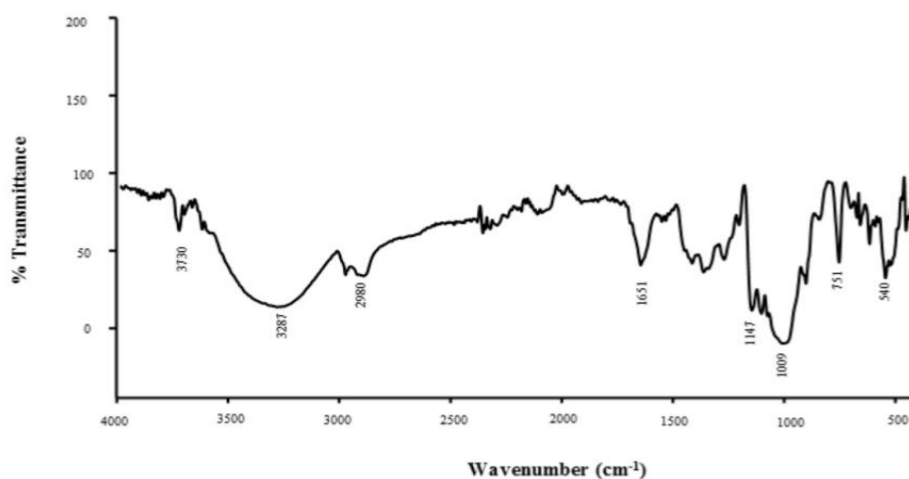
2.9 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

Analisis spektra menggunakan FTIR berfungsi untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat dalam EPS. Komponen utama spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yang mempunyai fungsi menguraikan (mendispersi) radiasi inframerah menjadi komponen-komponen frekuensi. Penggunaan interferometer Michelson tersebut memberikan keunggulan di antaranya adalah informasi struktur molekul dapat diperoleh secara tepat dan akurat (memiliki resolusi yang tinggi) dibandingkan metode spektroskopi inframerah konvensional maupun metode spektroskopi yang lain. Keuntungan yang lain dari metode ini adalah dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam berbagai fase (gas, padat atau cair) (Sankari, 2010).

Prinsip kerja teknik FTIR adalah interaksi antara radiasi IR dengan suatu molekul bervibrasi yang bermomen dipol, di mana saat radiasi IR (dengan frekuensi tertentu) dikenakan sampel maka sampel akan menyerap sinar tersebut. Di sisi lain sampel juga akan meneruskan gelombang IR yang dilewatkannya dan sinar yang diteruskan (transmisikan) tersebut akan terdeteksi dalam detektor, dengan begitu

akan dapat diketahui ikatan antar gugus fungsi senyawa melalui bilangan gelombang serta bentuk puncak yang timbul (Dachriyanus, 2004).

EPS dari BAL merupakan polisakarida kompleks yang mengandung gugus fungsional. Spektra FTIR menunjukkan gugus fungsi utama dan ikatan kimia yang terdapat pada sampel EPS seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3 (Dahuni dkk., 2018):



Gambar 2.6 Spektra FTIR EPS dari *Weissella confusa*

EPS mengandung gugus hidroksil (O-H) yang menunjukkan puncak serapan luas sekitar 3287 cm⁻¹ (Sarvanan dkk., 2016). Puncak pada daerah serapan ini menunjukkan bahwa EPS adalah karbohidrat khas (Wang dkk., 2010). Puncak pada 2980 cm⁻¹ berhubungan dengan vibrasi peregangan C-H. Puncak pada 1651 cm⁻¹ termasuk vibrasi peregangan dari gugus C=O dan karboksil (Wang dkk., 2008). Absorpsi kuat sekitar 1009 cm⁻¹ didominasi oleh cincin piranosa ikatan eter C-O-C.

2.10 Hewan (Bakteri) dan Pemanfaatannya dalam Perspektif Islam

Penciptaan makhluk hidup termasuk hewan (bakteri) sering dijelaskan dalam Al-Qur'an sebagai bukti kekuasaan Allah SWT. dalam perumpamaan untuk menyampaikan suatu hikmah. Selain itu, ada beberapa hewan yang disebutkan

secara jelas namanya dalam Al-Qur'an. Penyebutan nama hewan dalam Al-Qur'an tentu bukan tanpa maksud, pasti ada sebab dan tujuan dalam penyebutan tersebut.

Al-Qur'an telah menyebutkan dalam surah an-Nahl ayat 8:

وَالْحَيْثَلِ وَالْبِغَالِ وَالْحَمِيرِ لِتَرْكَبُوهَا وَزِينَةً ۚ وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ۝۸

Artinya: "Dan Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui"

Ayat ini menjelaskan bahwasannya Allah SWT. menciptakan makhluk-makhluk yang tidak kalian ketahui selain dari yang telah Dia sebutkan baik itu di darat maupun di laut, yang belum pernah dilihat dan didengar oleh manusia. Bisa juga yang dimaksud adalah bahwa Allah SWT. terus menciptakan makhluk-makhluk yang lain seperti sarana-sarana transportasi dan bahan-bahan untuk perhiasan yang belum diketahui oleh manusia. Hal ini menunjukkan bahwa Allah SWT. telah menciptakan keberadaan bentuk-bentuk kehidupan yang manusia sebelumnya tidak mengetahui. Manusia masih mengungkap ayat Al-Qur'an tentang keberadaan adanya kehidupan itu, baru kemudian setelah alat mikroskop ditemukan, manusia mulai dapat melihat dengan mata penglihatannya tentang makhluk hidup yang terkecil yaitu bakteri. Hal tersebut membuktikan bahwa sebelum adanya penemuan terkait bakteri, Al-Qur'an lebih dahulu menyebutkan di dalam ayat-ayatnya.

Pemanfaatan bakteri untuk memproduksi EPS yang membuktikan bahwa di muka bumi terdapat berbagai hal yang tidak diketahui oleh manusia. Manusia harus selalu belajar untuk memperoleh pengetahuan yang luas agar pengetahuan tersebut bermanfaat bagi orang lain dalam mengerjakan suatu kebaikan. Allah SWT. menciptakan semua alam dan seisinya sebagai rahmat bagi seluruh umat. Sebagaimana yang sudah dijelaskan Al-Qur'an bahwa seluruh kekayaan alam

berhak untuk dimanfaatkan secara proporsional sebagai wujud rasa syukur kepada Allah SWT. atas nikmat yang telah diberikan, seperti yang disebutkan dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah (2) ayat 164:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ١٦٤

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

Ayat ini dalam Tafsir Al-Madinah Al-Munawwarah menjelaskan bahwa Penciptaan tujuh langit yang luas; tujuh bumi beserta lautan, daratan, dan lapisan-lapisannya, perbedaan siang dan malam beserta pergantian keduanya, kapal-kapal yang berlayar di lautan untuk digunakan manusia bepergian dan berdagang, hujan yang Allah SWT. turunkan untuk menghidupkan bumi sehingga menjadi hijau setelah kekeringan, kemudian Allah SWT. menyebarkan berbagai jenis hewan, menghembuskan angin yang menjalankan awan yang ada di antara langit dan bumi, sungguh pada yang demikian itu merupakan bukti-bukti yang jelas atas kebesaran dan keesaan Sang Pencipta bagi orang-orang yang berpikir dan memahami bukti dan hak Allah SWT. untuk diesakan dalam peribadatan. Manusia perlu memperhatikan semua agar bertambah keimanannya terhadap keagungan dan kekuasaan-Nya, serta bertambah ilmu pengetahuan tentang alam semesta dan dapat dimanfaatkan. Segala jenis hewan telah diciptakan di muka bumi dengan berbagai bentuk dan ukuran, ada yang dapat dilihat dengan mata telanjang, ada yang harus

menggunakan alat bantu seperti mikroskop, salah satu di antara banyak hewan yang diciptakan adalah bakteri. Allah SWT. menciptakan hewan dengan berbagai manfaat, salah satunya adalah BAL yang dapat menghasilkan EPS. EPS mempunyai banyak manfaat untuk memenuhi kebutuhan manusia. Hal tersebut menunjukkan kekuasaan Allah SWT. yang Maha Agung dalam segala yang dikehendaki-Nya bagi orang-orang yang dapat memikirkan bukti-bukti serta memahami dalil-dalil dan tanda-tanda yang ada di muka bumi ini sebagai bahan untuk manusia selalu mempelajari agar mampu mendapatkan manfaat dalam kebaikan dari setiap yang diciptakan Allah SWT.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2022 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia 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 adalah beaker glass 250 mL, pipet ukur 5 mL dan 10 mL, pipet tetes, mikro pipet, gelas ukur 100 mL, Erlenmeyer 250 mL, labu ukur (10 mL, dan 100 mL), bola hisap, botol semprot, spatula, batang pengaduk, korek api, sumbat kapas, bunsen spiritus, jarum ose, cawan petri, penangas air, mikro pipet, blue tip, yellow tip, hot plate, tabung reaksi, rak tabung, tabung sentrifuge, sentrifuge, magnetic stirrer, autoklaf, shaker incubator, pH meter, lemari asam, oven, lemari es, laminar air flow, vortex, UV-Vis dan FTIR

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah *Weissella confusa*, media *De Man Ragosa dan Sharpe* (MSR) agar, *De Man Ragosa dan Sharpe* (MSR) broth, akuades, etanol absolut, fenol 5%, H₂SO₄ pekat, sukrosa, pepton, ekstrak ragi, K₂HPO₄, CaCl₂·2H₂O, MgSO₄·7H₂O, NaCl, KBr, HCl 2 N, NaOH 2 N, *bovine serum albumin* (BSA), folin 1 N, Na₂CO₃, KNaT, spiritus, aluminium foil, plastic wrap, plastik tahan panas, kertas label, blue tip, tisu, dan kapas.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH media terhadap produksi eksopolisakarida (EPS) oleh *Weissella confusa*. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu pH media terdiri dari pH (4, 5, 6, 7, dan 8). Analisis dalam penelitian ini meliputi rendemen EPS, kadar gula total dan kadar protein. EPS yang terpilih akan diidentifikasi profil gugus fungsinya menggunakan *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian kali ini yaitu:

1. Sterilisasi alat
2. Pembuatan Media
 - 2.1 MRSA
 - 2.2 MRSB
 - 2.3 Media produksi EPS
3. Regenerasi *Weissella confusa*
4. Pembuatan inokulum *Weissella confusa*
5. Produksi EPS, Pengaruh pH media terhadap produksi EPS *Weissella confusa*
6. Ekstraksi EPS
7. Uji kadar gula total dengan metode sulfat fenol
 - 7.1 Pembuatan Kurva Standar dengan Metode Sulfat Fenol
 - 7.2 Penetapan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol
8. Uji kadar protein
 - 8.1 Pembuatan Kurva Standar BSA
 - 8.2 Uji Kadar Protein

9. Identifikasi gugus fungsi pada EPS menggunakan FTIR

10. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Sebelum penelitian dilakukan seperangkat alat gelas dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan, yang selanjutnya akan dilakukan sterilisasi dengan cara dibungkus alat gelas dengan plastik tahan panas dan dimasukkan ke autoklaf selama 30 menit dengan suhu 121°C.

3.5.2 Pembuatan Media

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

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang MRS Agar sebanyak 6,82 g dan dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, kemudian media dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer, setelah homogen media dituangkan sebanyak masing-masing 5 mL ke dalam tabung reaksi dan ditutup memakai *cotton plug* (sumbat kapas) dan plastik wrap, setelah itu disterilisasi menggunakan autoklaf 121°C tekanan 15 psi, kemudian disimpan pada cetakan papan miring sampai memadat.

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

MRSB ditimbang sebanyak 5,22 g, dilarutkan ke dalam 100 mL akuades, dihomogenkan dengan hot plate dan magnetic stirrer sampai homogen dan mendidih. Larutan tersebut kemudian dituangkan sebanyak masing-masing 25 mL ke dalam botol kaca dan ditutup memakai cotton plug (sumbat kapas) dan plastik wrap, dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 psi.

3.5.2.3 Pembuatan Media Produksi EPS (Iqbal dkk., 2017 termodifikasi)

Media produksi EPS dibuat dengan mencampurkan sukrosa 12 g, pepton 0,5 g, ekstrak ragi 0,2 g, K_2HPO_4 2 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0,0025 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,001 g dan NaCl 0,001 g, kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades. Media tersebut, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi.

3.5.3 Regenerasi *Weissella confusa* (Kultsum, 2009)

Kultur *Weissella confusa* diambil 2-3 ose dan diinokulasikan pada 5 mL media MRSA padat posisi miring, kemudian kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Kultur tersebut dapat langsung digunakan dan diremajakan setiap dua minggu sekali. *Weissella confusa* yang telah diremajakan digunakan untuk pembuatan stok inokulum.

3.5.4 Pembuatan Inokulum *Weissella confusa* (Ma'unatin dkk., 2020)

Pembuatan inokulum dilakukan dengan memindahkan 8-9 ose biakan *Weissella confusa* ke dalam 25 mL media MRSB, kemudian di inkubasi pada kecepatan 100 rpm selama 16 jam pada suhu 37°C. Kekeruhan inokulum sel *Weissella confusa* yang digunakan disetarakan dengan *Optical Density* (OD) 0,5 pada panjang gelombang 600 nm.

3.5.5 Produksi EPS, Pengaruh pH Media terhadap Produksi EPS *Weissella confusa* (Seesuriyachan dkk., 2014 termodifikasi)

Produksi EPS menggunakan media yang sudah dibuat sebanyak 100 mL. Media produksi EPS dibuat dengan variasi pH 4, 5, 6, 7 dan 8 menggunakan HCl 2 N atau NaOH 2 N. Media ditambahkan inokulum *Weissella confusa* 10% (v/v). Media yang sudah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam.

3.5.6 Ekstraksi EPS (Ma'unatin dkk., 2020)

Media produksi hasil fermentasi diambil sebanyak 30 mL dan disentrifugasi pada suhu 4°C selama 20 menit dan kecepatan 5000 rpm. Supernatan yang mengandung EPS diambil dan ditambah etanol absolut dingin (2 kali volume supernatan) serta didiamkan pada suhu 4°C selama 24 jam. Supernatan disentrifugasi kembali pada suhu 4°C kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Endapan EPS yang didapat kemudian dipisahkan dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 6 jam. Rendemen EPS kering ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar EPS } \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{\text{Berast EPS kering (gram)}}{\text{Volume (L)}} \dots\dots\dots (3.1)$$

3.5.7 Uji Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol (Dubois dkk., 1956)

3.5.7.1 Pembuatan Kurva Standar dengan Metode Sulfat Fenol

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

3.5.7.2 Penetapan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol

Sampel EPS sebanyak 0,01 g dimasukkan ke dalam 250 mL akuades lalu dihomogenkan, diambil larutan yang telah homogen sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% (b/v), dikocok dan ditambahkan 5 mL asam sulfat pekat dengan cepat di lemari asam. Didiamkan selama 10 menit, divortek dan ditempatkan dalam penangas air

selama 15 menit dengan suhu 100°C dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.8 Uji Kadar Protein (Dahunsi dkk., 2018)

3.5.8.1 Pembuatan Kurva BSA

Ditimbang 30 mg BSA dan dilarutkan pada 5 mL akuabides, dibuat konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Diambil 1 mL masing-masing konsentrasi, ditambahkan 5 mL reagen lowry, divortek dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 0,5 mL folin 1N, diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm.

3.5.8.2 Uji Kadar Protein EPS

Analisa kadar protein EPS dilakukan menggunakan metode Lowry. Ditimbang 30 mg EPS, dilarutkan pada 5 mL akuades, diambil 1 mL EPS dan ditambahkan 5 mL reagen lowry, divortek dan dibiarkan selama 10 menit, ditambahkan 0,5 mL folin 1 N, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian diukur absorbansinya pada λ 660 nm.

3.5.9 Identifikasi gugus fungsi pada EPS menggunakan *Fourier Transform InfraRed (FTIR)* (Mishra dan Jha, 2009)

Untuk membuat sampel ditumbuk KBr sebanyak 25 mg, kemudian ditekan dalam cetakan hingga diperoleh pelet KBr. EPS kering ditekan sebanyak 20 mg dengan penekan hidrolik, dianalisis dengan FTIR pada frekuensi 4000 - 400 cm^{-1} . Melalui uji FTIR didapatkan data kuantitatif dan kualitatif, data kuantitatif berupa nilai absorbansi dari gugus fungsi yang terdeteksi, sedangkan kualitatif yang berupa informasi keberadaan gugus fungsional atau jenis ikatan tertentu pada bilangan gelombang tertentu yang diidentifikasi berdasarkan inframerah yang dihasilkan.

3.5.9 Analisis data

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

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil terbaik produksi eksopolisakarida (EPS) oleh *Weissella confusa* dalam media semi sintesis campuran diperoleh pada pH media 7 menghasilkan EPS sebesar 16,70 g/L dengan kadar gula total 90,96% dan kadar protein 0,626%.
2. Hasil identifikasi FTIR menunjukkan gugus fungsi O-H pada panjang gelombang 3475,71-3244,26 cm^{-1} , vibrasi C-H *stretching* pada panjang gelombang 2936,57 cm^{-1} , serapan pada bilangan gelombang 1641,41 cm^{-1} menunjukkan adanya *stretching* C=O *stretching*, vibrasi -C-H, C-H₂ pada bilangan gelombang 1328,95 cm^{-1} dengan vibrasi *bending*, pada bilangan gelombang 1056,98 cm^{-1} menunjukkan vibrasi C-O-C *stretching* pada bilangan gelombang 997,19 cm^{-1} menunjukkan ikatan α 1-6 glikosidik.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk optimasi produksi EPS pada faktor yang lain seperti suhu, lama fermentasi, jenis media, sumber karbon dan konsentrasi inokulum agar didapatkan hasil yang maksimal. Serta uji pemanfaatan EPS yang dihasilkan sebagai antioksidan dan antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Albalasmeh, A. A., Asmeret, A. B., Teamrat, A dan Ghezzehei. 2013. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentration using UV spectrophotometry. *Carbohydrate Polymer*. 97: 253-261.
- Amalia, R. D. 2012. Eksplorasi Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Sawi Asin (*Brassica juncea*) [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya.
- Anike F, Isikhuemhen OS, Blum D, Neda H, 2015. Nutrients Requirments and Fermentation Condition for Mycelia and Crude Exopolysaccharides Production by *Lentinus Squarrosulus*. *Bioscience and Biotechnology*. 6: 526-536.
- Anindita . 2002. Pembuatan Yakult Kacang Hijau. Kajian Tingkat Pengenceran dan Konsentrasi Sukrosa [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya.
- Anindita NS. 2020. Identifikasi glukosiltransferase (gtf) penyandi eksopolisakarida pada strain *Weisella confusa* probiotik asal air susu ibu (ASI). *J Pangan Agroindustri*. 8: 75–85. doi: 10.21776/ub.jpa.2020.008.02.3.
- Apriyantono, A.; D. Fardiaz; N.L. Puspitasari; Sedarnawati dan S. Budiyanto. (1989). Analisis Pangan. IPB Press. Bogor.
- Asker, M. M. S., Sayed, O. H. E., Mahmoud, M. G., & Ramadan, M. F. 2014. Chemical Structure and Antioxidant Activity of a New Exopolysaccharide Produced from *Micrococcus luteus*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 12(2), 121-126.
- Atlas, RM (2004). Buku Pegangan Media Mikrobiologis . London: CRC Press. hal. 1390.
- Aziz SM, Hamed HA, Foukia ME, 2012. Acidic pH shock Induces the production of An Exopolysaccharidde by the fungus *Mucor rouxii* utilization of beef molases. *New York Science Journal*. (2) : 5.
- Azizah, F. R. 2019. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides*. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Badel, S., Bernardi, T., & Michaud, P. 2011. New Perspectives for *Lactobacilli* Exopolysaccharides. *Biotechnology advances*. 29(1), 54-66.
- Bajpai VK, Rather IA, Majumder R, Shukla S, Aeron A, Kim K, Kang SC, Dubey RC, Maheshwari DK, L J, Park YH. 2016. Exopolysaccharide and lactic

acid bacteria: Perception, functionality and prospects. *Bangladesh Journal of Pharmacology*.11(1): 1-23.

- Berecka, Polak M., Wasko, A., Szwajgier, D., & Choma, A. 2013. Bifidogenic and Antioxidant Activity of Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus rhamnosus* E/N Cultivated on Different Carbon Sources. *Polish journal of microbiology*. 62(2), 81-189.
- Bintang, Maria. 2010. Biokimia Teknik Penelitian. Erlangga, Jakarta.
- Boahen, Y. O., & Isaac, A. (2015). Colorimetric Determination Of Carbohydrates In Some Brands Of Beer In Ghana As An Indication Of Their Glycemic Index In The Management Of Diabetes Type II. *African Journal of Food Science and Technology*, 6(7), 2141–5455.
- Bramhachari, P. V., & Dubey, S. K. 2006. Isolation and characterization of exopolysaccharide produced by *Vibrio harveyi* strain VB23. *Letters in applied microbiology*, 43(5), 571-577.
- Cerning, J., Bouillanne, C., Landon, M., & Desmazeaud, M. 1992. Isolation and Characterization of Exopolysaccharides from Slime-Forming Mesophilic Lactic Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science*. 75(3), 692-699.
- Chalim, Mohamad Abdul. 2021. Karakterisasi Eksopolisakarida yang Dihasilkan oleh *Weissella confusa* dan Potensinya sebagai Antibakteri Terhadap *Salmonella typhi*. Skripsi. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Chilmawati, D., & Suminto, S. 2008. Penggunaan Media Kultur Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. Saintek Perikanan: *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 4(1), 42-49.
- Collins, M.D., Samelis, J., Metaxopoulos, J., Wallbanks, S. 1993. Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: Description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *Journal of Applied Microbiology*. 75 (6): 595–603. doi:10.1111/j.1365-2672.1993.tb01600.x. ISSN 1364-5072. PMID 8294308.
- Cui, W.S. 2005. Food carbohydrates chemistry, physical properties, and application. E-book. 432-439. France: Taylor and francies group, LLC.
- Daba GM, Elnahas MO, Elkhateeb WA. 2021. Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *Int J Biol Macromol*. 173:79-89.
- Dachriyanus. 2004. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.

- Dahunsi, Adesulu A. T., Sanni, A. I., Jeyaram, K., Ojediran, J. O., Ogunsakin, A. O., dan Banwo, K. 2018. Extracellular Polysaccharide from *Weissella confusa* OF126: Production, Optimization, and Characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*. 111: 514-525.
- De Man, J. C., Rogosa, D., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of *lactobacilli*. *Journal of applied Bacteriology*, 23(1), 130-135.
- Dilna, Sasidharan Vasanthakumari., Surya, Harikumar., Aswathy, Ravindran Giriya., Varsha, Kontham Kulangara., Sakthikumar, Dasappan Nair., Pandey, Ashok., and Nampoothiri, Kasevan Madhavan. 2015. Characterization of an Exopolysaccharide with Potential Health-benefit Properties from a Probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4. *LWT-Food Science and Technology*. 64: 1179-1186.
- Dirmanto, 2006. Concise Handbook of Indigenous Fermented Foods in the ASCA Countries. Indonesian Institute of Sciences. Jakarta: Indonesian Institute of Sciences.
- Divya Chika Giyatno, dan Endah Retnaningrum. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Buah Kersen (*Muntingia calabura L.*). *Jurnal Sains Dasar*. 9 (2) : 42 -49.
- Dubey, Ashwini Kumar and Kadirvelu Jeevaratnam.2015. Structural Characterization and Functional Evaluation of an Exopolysaccharide Produced by *Weissella confusa* AJ53, an Isolate from Fermented Uttapam Batter Supplemented with Piper betle L. Leaves. *Food Sci. Biotechnol*. 24(6): 2117-2124.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical chemistry*. 28(3), 350-356.
- Fairfax M. R., Lephart P. R., Salimnia H. 2014. *Weissella confusa*: problems with identification of an opportunistic pathogen that has been found in fermented foods and proposed as a probiotic. *Front. Microbiol*. 5:254. 10.3389/fmicb.2014.00254
- Franca, A. J. 2009. Fundamental principles of bacteriology. E-Book. Kogakusha Company, Ltd. Tokyo. PP812-817.
- Goktepe I, Vijay KJ, & Mohamed A. 2005. Probiotics in Food Safety and Human Health. Boca Raton: CRC Press.
- Guibaud G, Hullebusch EV, Bordas F, 2006. Lead and cadmium biosorption by extracellular polymeric substances (EPS) extracted from activated sludges: pH-sorption edge tests and mathematical equilibrium modelling. *Chemosphere*. 64 : 1955–1962.

- Guo, Y., D. Pan, Y. Sun, L. Xin, H. Li, and X. Zeng. 2013. Anti-oxidant activity of phosphorylated exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis ssp. lactis*. *Carbohydr Polym.* 97:849–854.
- Halim C.N., Zubaidah E. (2013), Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*), *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 1, 129-137.
- Hardiningsih, R., R.N.R. Napitupulu dan T. Yulinery. 2006. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. *Biodiversitas.* 7(1) : 15-17.
- Haroun, Bakry M., El-Menoufy, Hassaan A., Amin, Hala A., dan El-Waseif, Amr A. 2013. Biosynthesis and Morphology of an Exopolysaccharide from a Probiotic *Lactobacillus plantarum* Under Different Growth Condition. *Journal of Applied Sciences Research.* 9(2): 1256-1265.
- Hussein, M. H., Abou-ElWafa, G. S., Shaaban-Dessuuki, S. A., & Hassan, N. I. 2015. Characterization and Antioxidant Activity of Exopolysaccharide Secreted by *Nostoc carneum*. *Int J Pharm.* 11(5), 432-439.
- Indriati, A.S. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Susu Formula Balita yang Berpotensi Menghasilkan Substansi Antimikroba [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Iqbal, Samina., Marchetti, Roberta., Aman, Afsheen., Silipo, Alba., Qader, Shah Ali Ul., dan Molinaro, Antonio. 2017. Enzymatic and Acidic Degradation of High Molecular Weight Dextran into Low Molecular Weight and its Characterizations Using Novel Diffusion-ordered NMR Spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules.* 103: 744-750.
- Jin, Hui., Jeong, Yunju., Yoo, Sang-Ho., Johnston, Tony V., Ku, Seockmo., dan Ji, Geun Eog. 2019. Isolation and Characterization of High Exopolysaccharide-Producing *Weissella confusa* VP30 from Young Children's Feces. *Microbial Cell Factories.* 18: 110.
- Juvonen, R.; Honkapää, K.; Maina, N.H.; Shi, Q.; Viljanen, K.; Maaheimo, H.; Virkki, L.; Tenkanen, M.; Lantto, R. The impact of fermentation with exopolysaccharide producing lactic acid bacteria on rheological, chemical and sensory properties of pureed carrots (*Daucus carota* L.). *Int. J. Food Microbiol.* 2015, 207, 109–118.
- Joruszuk MO, Wilkolazka AJ, Scisel JJ, 2015. Extracellular polysaccharides from Ascomycota and Basidiomycota: production conditions, biochemical characteristics, and biological properties. *World J Microbiol Biotechnol.* 31:1823–1844.

- Kajala, I., Shi, Q., Nyssölä, A., Maina, N. H., Hou, Y., Katina, K. 2015. Cloning and characterization of a *Weissella confusa* dextransucrase and its application in high fibre baking. *PLoS ONE*. 10:e0116418. doi: 10.1371/journal.pone.0116418
- Kavitake. D, P.B. Devi, S.P. Singh, P. H. Shetty. 2016. Characterization of a novel galactan produced by *Weissella confusa* KR780676 from an acidic fermented food. *Int. J. Biol. Macromol.* 86 : 681–689.
- Kojic. M, M. Vujcic, A. Banina, P. Cocconcelli, J. Cerning, L. Topisirovic, Appl. Environ. Microbiol. 58 (1992) 4086.
- 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.
- Lailah, R., Syauqi, A., & Santoso, H. 2017. Aktivitas Jamur *Trichoderma viride* Pada Substrat Pasta Tepung Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Menggunakan Tolok Ukur Glukosa. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. 3: 1-7.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Leemhuis, H.; Pijning, T.; Dobruchowska, J.M.; van Leeuwen, S.S.; Kralj, S.; Dijkstra, B.W.; Dijkhuizen, L. Glucansucrases: Three-dimensional structures, reactions, mechanism, α -glucan analysis and their implications in biotechnology and food applications. *J. Biotechnol.* 2013, 163, 250–272.
- Lin, T. Y dan Chien, M-F. Chang. 2005. Exopolysaccharides Production as Affected by Lactic Acid Bacteria and Fermentation Time. *Food Chemistry*. 100: 1419–1423.
- Ma'unatin, Anik., Harijono, Harijono., Zubaidah, Elok., dan Rifa'I, Muhaimin. 2020. The Isolation of Exopolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacteria from Lontar (*Borassus flabellifer L.*) sap. *Iranlan Journal of Microbiology*. 12(5): 347-444.
- Machmud, M. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin Agrobio*. 4(1); 24-32.
- Mahapatra S, Banerjee D, 2013. Fungal Exopolysaccharide: Production, Composition and Application. *Microbiology Insights*. 6: 1–16.
- Mahapatra S, Banerjee D, 2013. Optimization of a bioactive exopolysaccharide production from endophytic *Fusarium solani* SD5. *Carbohydrat Polymers*. 97: 627-634.

- Maier, R. M. 2009. *Environmental Microbiology* Second Edition. New York: Academic Press.
- Malaka, Ratmawati. 2010. Eksopolisakarida Bakteri Starter Kultur Susu Fermentasi Sebagai Sumber Polisakarida Harapan Di Masa Depan. *Prosiding*. DOI:10.13140/RG.2.2.23826.04803.
- Malik, Amalia, Donna M. Ariesranti, Anandayu Nurfachtiyanti, dan Arry Yanuar. 2008. Skrining Gen Glukonsiltransferase (GTF) Dari Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida. 2003. *Makara Sains*, Volume 12, No. 1.
- Mesomo, M., Silva, M. F., Boni, G., Padilha, F. F., Mazutti, M., Mossi, A., & Treichel, H. 2009. Xanthan Gum Produced by *Xanthomonas Campestris* from Cheese Whey: Production Optimisation and Rheological Characterisation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 89(14), 2440-2445.
- Mishra A, Jha B. 2009. Isolation and characterization of extracellular polymeric substances from microalgae *Dunaliella salina* under salt stress. *Bioresource Technology*. 100 : 3382-3386.
- Muller, V. 2001. Bacterial Fermentation. *Encyclopedia of Life Sciences*. doi:10.1038/npg.els.0001415.
- Mundiri, N A., Imam Megantara., dan Trianing Tyas Kusuma Anggaeni. 2020. Kajian Pustaka: Pemanfaatan Eksopolisakarida Bakteri Asam Laktat Probiotik Asal Produk Pangan Fermentasi sebagai Imunomodulator. *Indonesia Medicus Veterinus*. 9(5): 849-859.
- Nasution, F.S. 2012. Identifikasi dan Karakteristik Bakteri Asam laktat Pada Kotoran Ayam Broiler Sebagai Agensi Probiotik [Skripsi]. Medan: Universitas Negeri Medan.
- Neldawati, Ratnawulan, & Gusnedi. (2013). Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar Of Physics* , 2, 76.
- Nguyen Cong Nguyena , Hung Cong Duongb , Shiao-Shing Chenc , Hau Thi Nguyena , Huu Hao Ngod , Wenshan Guod , Huy Quang Le,c , Chinh Cong Duongc , Le Thuy Trange , Anh Hoang Lef,g , Xuan Thanh Buig,h , Phuoc Dan Nguyen. 2020. Water and nutrient recovery by a novel moving sponge – Anaerobic osmotic membrane bioreactor – Membrane distillation (AnOMBR-MD) closed-loop system. *Bioresource Technology*. 312 123573.
- Nielsen, S. S. 2010. Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates. *Food analysis laboratory manual* (pp. 47-53). Springer, Boston, MA.

- Nudyanto A, Zubaidah E. 2015. Isolasi BAL Penghasil Eksopolisakarida dari Kimchi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (2): 743-748.
- Nurhasanah, N., Fu'adah, I. T., Satria, H., & Yuwono, S. D. 2020. Analisis Eksopolisakarida dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kefir Kolostrum. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 5(1), 65-73.
- Nurhayani. 2000. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Biologi*. 6(1): 34-44.
- Oleksy, M.; Klewicka, E. Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* sp.: Biosynthesis and applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2018, 58, 450–462.
- Pasolli, E., Filippis, F. De, Mauriello, I. E., Cumbo, F., Leech, J., Cotter, P. D., Segata, Nicola., Ercolini, Danilo., Walsh, A. M. (2020). Bacteria from food with the gut microbiome. *Nature Communications*. 11(2610), 1–12.
- Patel, Seema., Majumder, Avishek., dan Goyal, Arun. 2012. Potentials of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *Indian J Microbiol.* 52(1):3–12.
- Pavan M. V. Raja and Andrew R. Barron. 2021. "UV-Visible Spectroscopy". [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_\(Barron\)/04%3A_Chemical_Speciation/4.04%3A_UV-Visible_Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_(Barron)/04%3A_Chemical_Speciation/4.04%3A_UV-Visible_Spectroscopy) diakses pada 19 Maret 2023 pukul 14.30.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., and Vyvyan, J.R., 2009, Introduction to Spectroscopy, 4th Edition, Brooks/Cole Cengage Learning, United State of America.
- Pelczar, M. J. 2008. Dasar-dasar Mikrobiologi Sistem Fermentasi Cair. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. Vol 1, No 1, Halm 139-149.
- Petrovici, A. R., Roșca, I., Dodi, G., Nicolescu, A., Avădanei, M., Varganici, C. D., & Ciolacu, D. 2017. Effects of culture medium composition on biosynthesis of exopolysaccharides. *Cellulose Chemistry and Technology*, 51(9–10), 821-830.
- Qalsum Umi, Anang Wahid Muhammad Diah dan Supriadi. 2015. Analisis Kadar Karbohidrat, Lemak dan Protein dari Tepung Biji Mangga (*Mangifera indica* L) Jenis Gadung. *J. Akad. Kim.* 4(4): 168-174.
- Rahman, Abdel M.A., Y. Tashiro, and K, Sonomoto. 2013. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnol. Adv.*, 31: 877–02.

- Ripari, Valery. 2019. "Techno-Functional Role of Exopolysaccharides in Cereal Based, Yogurt-Like Beverages" *Beverages* 5, no. 1:16.
- Ruiz, B., A. Chávez, A. Forero, Y. GarcíaHuante, A. Romero, and M. Sánchez. 2010. Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source. *Crit. Rev. Microbiol.*, 36: 146–167.
- Safitri, Nurlaela; Titi, Candra, Sunarti; dan Anja MEeryadini. (2016). Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*. Vol. 2 No. 2, hlm 31-38.
- Sanalibaba P, Cakmak GA. 2016. Exopolysaccharides Production by Lactic Acid Bacteria. *Applied Microbiology*. 2(2): 1–5.
- 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.
- Saravanan C, Shetty PKH. 2016. Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* KC117496 isolated from idli batter. *Int. J. Biol. Macromol*. 90 : 100–106.
- Seesuriyachan, Phisit., Kunyita, Ampit., Chaiyaso, Thanongsak., Hanmoungjai, Prasert., Leksawasdi, Noppol., dan Techapun, Charin. 2014. Enhancement and Optimization of Exopolysaccharide Production by *Weissella confusa* TISTR 1498 in pH Controlled Submerged Fermentation Under High Salinity Stress. *Chiang Mai J. Sci*. 41(3): 503-512.
- Seo, Byoung-Joo., Bajpai, Vivek Kumar., Rather, Irfan Ahmad., dan Park, Young-Ha. 2015. Partially Purified Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YM009 with Total Phenolic Content, Antioxidant and Free Radical Scavenging Efficacy. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 49(4).
- Shihab, M. Quraish. 2002. Tafsir Al-Misbah. Jakarta: Lentera Hati.
- Silva, Da, A., L., Neto, J.H.P.L., Cardarelli, H.R., 2019. Safety and probiotic functionality of isolated goat milk lactic acid bacteria. *Ann. Microbiol*. 69 (13), 1497–1505. doi:10.1007/s13213-019-01533-z.
- Socrates, George. 2004. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies.
- Sudarmadji, Slamet. dkk., 1981. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian.Liberty. Yogyakarta.

- Sun, X., Hao, L., Ma, H., Li, T., Zheng, L., Ma, Z., & Jia, M. 2013. Extraction and in Vitro Antioxidant Activity of Exopolysaccharide by *Pleurotus eryngii* SI-02. *Brazilian journal of microbiology*. 44(4), 1081-1088.
- Suskovic, J. Kos, B. Beganovic, J. Pavunic, A.L. Habjanic, K. Matosic, S. 2010. Antimicrobial Activity- The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. *Food Technol. Biotechnol* 48(3): 296-307.
- Tallon, R., P. Bressollier dan M.C. Urdaci. 2003. Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharide Produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Research in Microbiology*. 154, 705-712
- Tayuan, Chintana., Tannock, Gerald W., dan Rodtong, Sureelak. 2011. Growth and Exopolysaccharide Production by *Weissella sp.* from Low-Cost Substitutes for Sucrose. *African Journal of Microbiology Research*. 5(22): 3693-3710.
- Trenggono dan Sutardi. 1990. Biokimia dan Teknologi Pasca Panen. Yogyakarta: UGM Press.
- Vaningelgem. F, M. Zamfir, F. Mozzi, T. Adriany, M. Vancanneyt, J. Swings, L. De Vuyst, Appl. Environ. *Microbiol.* 70 (2004) 900.
- Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1998. Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. 2014. Characterization of a Novel Exopolysaccharide with Antitumor Activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International journal of biological macromolecules*. 63, 133-139.
- Wang. J, Q. Zhang, Z. Zhang, Z. Li. 2008. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *Biol. Macromol.* 42 : 127–132.
- Wang. Y, C. Li, P. Liu, Z. Ahmed, P. Xiao, X. Bai. 2010. Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet kefir, *Carbohydr. Polym.* 82 : 895–903.
- Wasser SP. 2011. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 89(5): 1323–1332.
- Widodo Adi. H. 2021. Pengaruh konsentrasi sukrosa pada air kelapa terhadap produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* [Skripsi]. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek UIN Malang.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., & Mulyati, S. 2014. Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 6(1), 24-28.

- Wiyana, A. 2011. Karakteristik ketahanan bakteri asam laktat *Indigenous* kefir sebagai kandidat bakteri probiotik pada kondisi saluran pencernaan in vitro. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wongsuphachat, Wararat., H-Kittikun, Aran., dan Maneerat, Suppsil. 2010. Optimization of Exopolysaccharides Production by *Weissella confusa* NH O2 Isolated from Thai Fermented Sausages. *Songklanakarin 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.
- Zakariah, M. A., Malaka, R., Laga, A., & Ako, A. (2019). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dangke a White Soft Traditional Cheese from ENrekang Regency. *International Journal of Recent Technology and Engineering*. 8(2), 4148–4151.
- Zhou, Y.; Cui, Y.; Qu, X. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydr. Polym.* 2019, 207, 317–332.
- Zubaidah, E., Liasari, Y., & Saparianti, E. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9(1): 59.

