

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI
TERHADAP PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

**Oleh :
SISI SUSILOWATI RAHMAH
NIM. 17630001**



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

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI
TERHADAP PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH *Weissella*
*confusa***

SKRIPSI

**Oleh :
SISI SUSILOWATI RAHMAH
NIM. 17630001**

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

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

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI
TERHADAP PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

Oleh :
SISI SUSILOWATI RAHMAH
NIM. 17630001

Telah Diperiksa dan Disetujui
Tanggal: 14 Juni 2023

Pembimbing I



Dr. 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. 19810811200801 2 010

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI
TERHADAP PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

**Oleh :
SISI SUSILOWATI RAHMAH
NIM. 17630001**

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

**Ketua Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002**

**Anggota Penguji I : Fadilah Nor Laili Lutfia, M. Biotech
LB. 63033**

**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. 20142011409**

(*Ghanaim*)

(*Lutfia*)

(*Anik*)

(*Mukhlis*)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Sisi Susilowati Rahmah
NIM : 17630001
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakaridan 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 di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan maka saya bersedia menerima konsekuensi atas perbuatan tersebut.



Malang, 23 Juni 2023

Sisi
x
Sisi Susilowati Rahmah
NIM. 17630001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmaanirrahim

Segala puji bagi Allah SWT. yang telah melimpahkan kasih dan sayang-Nya kepada penulis, selawat dan salam tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Karya ilmiah ini penulis persembahkan kepada,

Kedua orang tua tercinta yaitu Ayah Buhairi dan Ibu Buniah yang senantiasa dengan kerelaan hati dan kasih sayangnya mendoakan, memberikan motivasi, dan mendukung penulis dengan sepenuh hati dalam menuntut ilmu. Terima kasih atas segala sesuatu yang telah Ayah dan Ibu berikan, dan yang selalu mendoakan putrinya untuk mendapatkan takdir yang terbaik. Semoga engkau senantiasa diberikan kesehatan dan umur yang panjang. Terutama kepada Ibu terkasih yang telah melahirkan dan membesarkan penulis, terima kasih telah menjadi sosok perempuan yang kuat dan sangat luar biasa dalam merawat dan mendidik penulis hingga menjadi pribadi yang lebih baik. Terima kasih kepada keluarga besar Almh. Ny. Marlias, Bapak Juma'i yang telah memberikan dukungan doa, semangat dan motivasi kepada penulis, serta kepada adik tersayang Desy Aruna Dwi Sachi yang telah menjadi mini *support system* bagi penulis, semoga tumbuh menjadi perempuan yang salihah.

Kepada teman satu bimbingan 7 Kurcaci yaitu Intan, Zain, Afifatul, Jihan, Raihan, dan Dhema yang telah membantu penulis tanpa pamrih dalam penelitian, semoga kebaikan selalu membersamai kalian. Sahabat Ubur-ubur yaitu Bunbun Iim dan Bunbun Iyush, terima kasih telah mendukung penulis dan selalu memberikan semangat. Lalu kepada sahabat terbaik penulis yaitu Cicik, Mbak Istiq dan Ulfa yang telah memberikan doa dan semangat kepada penulis. Semua teman-teman seperjuangan Neon 17 dan teman kelas Kimia A Tayo yang telah membersamai penulis dalam menuntut ilmu.

Kepada diri sendiri yang telah berhasil di titik ini dan mampu bertahan dari kondisi yang buruk, penulis sangat bersyukur dikelilingi oleh orang-orang baik dan peduli kepada penulis. Terakhir, kepada seseorang terkasih yaitu sosok lelaki istimewa yang senantiasa memperhatikan penulis dalam memberikan dorongan semangat dan motivasi kepada penulis, terima kasih atas segala perhatian, waktu, dan dukungan yang tiada henti dicurahkan kepada penulis.

MOTTO

*“Siapa ingin menjadi bunga indah di Surga
diiringi berjuta do’a, maka taburlah
berjuta benih kebaikan selama di dunia.”*

–Emeril Kahn Mumtadz

*“... If you are feeling disheartened
that you are somehow not enough,
set your heart ablaze.”*

–Kyojuro Rengoku

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul **“Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Weissella confusa*”**. Selawat dan salam senantiasa tercurahkan dengan tulus kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya. Penyusunan naskah ini tidak lepas dari dukungan, motivasi, serta bimbingan yang tiada henti penulis dapatkan dari berbagai pihak. Izinkanlah penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P., selaku dosen pembimbing yang dengan sabar membimbing penulis dan memberikan arahan serta masukan dalam menyusun naskah skripsi.
5. Bapak Dr. M. Muhklis Fakhruddin M.S.I., selaku dosen pembimbing agama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan pengarahan, dan masukan dalam penulisan skripsi.
6. Bapak A. Ghanaim Fasya M.Si, dan Ibu Fadilah Nor Laili Lutfia M.Biotech, selaku penguji yang telah dengan sabar memberikan masukan dan arahan dalam penyempurnaan skripsi.

7. Seluruh Dosen dan Laboran Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, dan wawasannya bagi penulis.

Semoga kebaikan semua pihak yang telah membantu penulis mendapatkan imbalan pahala dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam naskah skripsi ini, sehingga penulis mengharapkan kritikan dan masukan yang bersifat membangun demi skripsi ini menjadi lebih baik. Semoga tulisan ini bisa bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Malang, 14 Mei 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
MOTTO.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Bakteri Asam Laktat.....	7
2.2 <i>Weissella confusa</i>	9
2.3 Eksopolisakarida	11
2.4 Biosintesis Eksopolisakarida.....	14
2.4.1 Biosintesis Homopolisakarida	15
2.4.2 Biosintesis Heteropolisakarida	16
2.5 Faktor-Faktor yang Memengaruhi Produksi Eksopolisakarida.....	18
2.6 Karakterisasi Eksopolisakarida	23
2.6.1 Analisis Kadar Gula Total Menggunakan Metode Asam Sulfat Fenol.....	23
2.6.2 Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida	25
2.6.3 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Terpilih Menggunakan <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR)	26
2.7 Prinsip Pengembangan Sains dan Teknologi dalam Islam.....	27
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	31
3.2 Alat dan Bahan	31
3.2.1. Alat	31
3.2.2. Bahan	31
3.3 Rancangan Penelitian	32
3.4 Tahapan Penelitian	32

3.5	Pelaksanaan Penelitian	33
3.5.1	Pembuatan Media.....	33
3.5.1.1	Media <i>de Mann Rogose and Sharpe Agar</i> (MRSA)	33
3.5.1.2	Media <i>de Mann Rogose and Sharpe Broth</i> (MRSB).....	33
3.5.1.3	Media Produksi Eksopolisakarida	34
3.5.2	Sterilisasi Alat dan Media`	34
3.5.3	Regenerasi <i>Weissella confusa</i>	34
3.5.4	Pembuatan Inokulum	34
3.5.5	Produksi Eksopolisakarida.....	35
3.5.6	Ekstraksi Eksopolisakarida	35
3.5.7	Karakterisasi Eksopolisakarida.....	36
3.5.7.1.	Analisis Gula Total Eksopolisakarida.....	36
3.5.7.1.1	Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....	36
3.5.7.1.2	Penentuan Kadar Gula Total Eksopolisakarida	36
3.5.7.2.	Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida	36
3.5.7.2.1	Pembuatan Kurva Standar <i>Bovine Serum</i> <i>Albumin (BSA)</i>	36
3.5.7.2.2	Penentuan Kadar Protein Eksopolisakarida	37
3.5.8	Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida Terpilih dengan <i>Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (FTIR)</i>	37
3.5.9	Analisis Data	38
BAB IV	PEMBAHASAN.....	39
4.1	Pembuatan Media.....	39
4.2	Regenerasi <i>Weissella confusa</i>	40
4.3	Pembuatan Inokulum <i>Weissella confusa</i>	41
4.4	Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh <i>Weissella confusa</i>	43
4.5	Analisis Kadar Gula Total Eksopolisakarida	48
4.6	Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida.....	50
4.7	Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan Spektrofotometer FTIR	51
4.8	Pembahasan Hasil Penelitian Menurut Perspektif Islam.....	54
BAB V	PENUTUP.....	60
5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	69

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rendemen rata-rata produksi eksopolisakarida oleh <i>Weissella confusa</i>	45
Tabel 4.2 Gugus fungsi EPS oleh <i>Weissella confusa</i> dari spektra FTIR	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bentuk sel <i>Weissella confusa</i>	10
Gambar 2.2 Kurva pertumbuhan <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	10
Gambar 2.3 Struktur dekstran	13
Gambar 2.4 Struktur gellan	13
Gambar 2.5 Jalur biosintesis HoPS	15
Gambar 2.6 Jalur biosintesis Heteropolisakarida	17
Gambar 2.7 Grafik ghubungan lama fermentasi terhadap pertumbuhan bakteri, produksi EPS, dan pH	20
Gambar 2.8 Reaksi dehidrasi karbohidrat	24
Gambar 2.9 Turunan Furan a) pentosa, b) heksosa, c) 6-dioksiheksosa, d) keto-heksosa	24
Gambar 2.10 Reaksi pembentukan kompleks fenol-furfural	25
Gambar 2.11 Spektra FTIR eksopolisakarida <i>Weissella confusa</i>	27
Gambar 4.1 Hasil regenerasi <i>Weissella confusa</i>	41
Gambar 4.2 Inokulum kerja <i>Weissella confusa</i>	42
Gambar 4.3 Eksopolisakarida yang dihasilkan oleh <i>Weissella confusa</i> pada 48 jam fermentasi menggunakan sukrosa 8% [A], 10% [B], dan 12 % [C]	44
Gambar 4.4 Kurva standar glukosa	49
Gambar 4.5 Kurva standar BSA	50
Gambar 4.6 Spektra FTIR eksopolisakarida <i>Weissella confusa</i>	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian.....	69
Lampiran 2 Skema Kerja.....	70
Lampiran 3 Perhitungan	75
Lampiran 4 Hasil Analisis SPSS Uji <i>Two Way</i> ANOVA	83
Lampiran 5 Dokumentasi	86

ABSTRAK

Rahmah, Sisi Susilowati. 2023. **Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida 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, *Weissella confusa*, konsentrasi sukrosa, lama fermentasi.

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polimer gula pereduksi hasil sekresi mikroorganisme. EPS yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat termasuk dalam kategori aman dikonsumsi atau *Generally Recognized As Safe* (GRAS). *Weissella confusa* merupakan bakteri asam laktat yang dapat memproduksi eksopolisakarida dalam jumlah tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* dan karakterisasi serta identifikasi EPS terpilih.

Produksi EPS oleh *Weissella confusa* dilakukan menggunakan media alternatif semi sintesis. Percobaan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktor yaitu variasi konsentrasi sukrosa 8, 10, dan 12% dan lama fermentasi 48 dan 72 jam. Penambahan sukrosa diperlukan sebagai sumber karbon dan fermentasi dilakukan dengan penambahan 10% inokulum kerja. Analisis telah dilakukan meliputi rendemen EPS, kadar gula total, kadar protein, dan identifikasi gugus fungsi EPS terpilih menggunakan FTIR.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi sukrosa 10% dan lama fermentasi 48 jam adalah kondisi tertinggi *Weissella confusa* memproduksi EPS dengan rendemen sebesar 17,84 g/L. Karakterisasi EPS menghasilkan kadar gula total sebesar 75% dan kadar protein sebesar 0,83%. Uji ANOVA menunjukkan tidak adanya beda nyata pada pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi EPS ($\text{sig} > 0,05$). Hasil identifikasi FTIR menunjukkan bahwa EPS mengandung gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang $3413,99 \text{ cm}^{-1}$, C-H pada $2939,50 \text{ cm}^{-1}$, C=O pada $1649,13 \text{ cm}^{-1}$, $\text{CH}_2/\text{C-OH}$ pada $1456,25 \text{ cm}^{-1}$, C-O-C pada 1056 cm^{-1} , ikatan glikosidik pada $1107,13 \text{ cm}^{-1}$, dan ikatan α -glikosidik pada $993,33 \text{ cm}^{-1}$ dan $927,75 \text{ cm}^{-1}$.

ABSTRACT

Rahmah, Sisi Susilowati. 2023. **The Effect of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Exopolysaccharide Production by *Weissella confusa***. Thesis. Study Program of Chemistry. 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

Key words: Exopolysaccharide, *Weissella confusa*, sucrose concentration, fermentation time.

Exopolysaccharide (EPS) is a polymer of reducing sugars resulting from the secretion of microorganisms. EPS produced by lactic acid bacteria is categorized as Generally Recognized As Safe (GRAS). *Weissella confusa* is a lactic acid bacteria that can produce high amounts of exopolysaccharide. This study aims to determine the effect of sucrose concentration and fermentation time on exopolysaccharide production by *Weissella confusa* and the characterization and the identification of selected EPS.

EPS production by *Weissella confusa* was carried out using semi-synthetic alternative media. The experiment was performed using a two-factor Randomized Group Design (RGD), which varied the sucrose concentration of 8, 10, and 12% and the fermentation time of 48 and 72 hours. The addition of sucrose was required as a carbon source and fermentation was completed by the injection of 10% inoculum. The analysis was done including EPS yield, total sugar content, protein content, and identification of functional groups of selected EPS using FTIR.

The results showed that 10% sucrose concentration and 48 hours fermentation time are the highest condition for *Weissella confusa* to produce EPS with the yield is 17.84 g/L. The characterization is resulting the total sugar content is 75%, and the protein content is 0.83%. ANOVA tests showed no significant difference in the effect of sucrose concentration and fermentation time on EPS production ($\text{sig} > 0.05$). FTIR identification showed EPS contains the functional group of O-H at wave number 3413.99 cm^{-1} , C-H at 2939.50 cm^{-1} , C=O at 1649.13 cm^{-1} , CH₂/C-OH at 1456.25 cm^{-1} , C-O-C at 1056.98 cm^{-1} , glycosidic bonds at 1107.13 cm^{-1} , and α - glycosidic bonds at 993.33 cm^{-1} , and 927.75 cm^{-1} .

مستخلص البحث

رحمة، سيبي سوسيلواتي. ٢٠٢٣. أثر إكترات السكروز وطول الإختمار على إنتاج العديد السكاريد الخارجي عن ويسيلا كونفوسا. البحث العلمي. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة ١: الدوكتورة أنيك معونة الماجستير، المشرف ٢: الدوكتور محمد مخلص فخر الدين الماجستير.

الكلمات المفتاحية: العديد السكاريد الخارجي، ويسيلا كونفوسا، إكترات السكروز، طول الإختمار.

العديد السكاريد الخارجي (EPS) هو بوليمر السكر منخفض حصىلة الإفراز الحىة عليه. (EPS) الذى يحصل بكتيريا الحماض اللاكتيك يتضمن إلى طبقة الأمن الفناء أو تعرف بشكل عام على أنها أمنة. ويسيلا كونفوسا هو بكتيريا الحماض اللاكتيك الذى يستطيع ان ينتج العديد السكاريد الخارجي عاليا. يهدف هذا البحث لمعرفة أثر إكترات السكروز وطول الإختمار على إنتاج العديد السكاريد الخارجي عن ويسيلا كونفوسا وتمثيل وتعرف (EPS) المختار.

يفعل إنتاج (EPS) عن ويسيلا كونفوسا ان يستخدم بواسطة الخبار النصف الصناعى. يفعل الإختبار ان يستخدم تخطيط الإعتباطى الفرقة العنصرين هما لون إكترات السكروز ٨،١٠، ١٢ وطول الإختمار ٤٨ و٧٢ ساعة. يحتاج زياد السكروز مصادر الكربون الإختمار يفعل بزياد ١٠٪ اللقاح العمل. فعل التحليل يتكون من أثمر (EPS) وقياس السكر العديد وقياس البروتين وتعرف القوة الوظيفة (EPS) المختار باستخدام (FTIR).

تدل هذه حصىلة البحث أن إكترات السكروز ١٠٪ وطول الإختمار ٤٨ ساعة هما حال الأعلى ويسيلا كونفوسا ينتج (EPS) بأثمر ١٧،٨٤ (g/L). يحصل تمثيل (EPS) قياس السكر العديد ٧٥٪ وقياس البروتين ٠،٨٣٪. يدل إختبار (ANOVA) عدم الإختلاف الظاهر لأثر إكترات السكروز وطول الإختمار على إنتاج (EPS) ($sig>0,05$). تدل حصىلة التعرف (FTIR) أن (EPS) يحمل القوة الوظيفة (O-H) فى عدد الموج ٣٤١٣،٩٩ ج م^{-١}، (C-H) على ٢٩٣٩،٥٠ ج م^{-١}، (C=O) على ١٦٤٩،١٣ ج م^{-١}، (CH₂/C-OH) على ١٤٥٦،٢٥ ج م^{-١}، (C-O-C) على ١٠٥٦ ج م^{-١}، إرتباط الجليكوسيد على ١١٠٧،١٣ ج م^{-١}، وإرتباط (α -glikosidik) على ٩٩٣،٣٣ ج م^{-١} و ٩٢٧،٧٥ ج م^{-١}.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polisakarida yang terbentuk dari monomer gula pereduksi melalui sekresi ekstraseluler mikroorganisme (Sanlibaba dkk., 2016; Sun dkk., 2013). Eksopolisakarida memiliki banyak manfaat di bidang industri pangan dan kesehatan atau farmasi. Eksopolisakarida yang digunakan dalam bidang industri di antaranya *β -glukan*, *β -mannan*, *curdlan*, *dekstran*, *gellan* dan *xanthan* (Malik dkk., 2008). Eksopolisakarida dapat diaplikasikan pada makanan yang berfungsi sebagai stabilisator, pengental, pembentuk gel dan memiliki kemampuan yang sangat baik mempertahankan tekstur makanan (Amalia, 2012). Adapun manfaat EPS dalam industri kesehatan dan farmasi di antaranya sebagai antitumor, limfosit untuk ketahanan tubuh, pengantar senyawa aktif insulin oral, aktivasi makrofage, dan probotik (Anindita, 2002). Salah satu mikroorganisme yang dapat memproduksi EPS adalah bakteri asam laktat (Dilna dkk., 2015).

Bakteri asam laktat merupakan salah satu bakteri Gram positif yang memiliki ciri berbentuk bulat atau batang, tidak membentuk spora, bersifat anaerob dan tahan terhadap asam (Surayot, dkk., 2014; Widodo, dkk., 2019). Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang non-patogen dan termasuk dalam kelompok mikroorganisme GRAS (*Generally Recognized As Safe*). Bakteri asam laktat memiliki kemampuan yang tinggi dalam memproduksi EPS. Eksopolisakarida yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat memiliki potensi

untuk dimanfaatkan secara luas karena aman dan baik untuk dikonsumsi (da Silva dkk., 2019; Sanlibaba dkk, 2016).

Allah menyebutkan di dalam Al-Qur'an bahwa syarat sesuatu yang dikonsumsi harus memenuhi syarat halal dan baik, sebagaimana terdapat pada QS. Al-Baqarah ayat 168:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا
خُطُوتِ الشَّيْطَانِ ۚ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِينٌ [١٦٨]

Artinya, “Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan, karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu.” (QS. Al-Baqarah: 168)

Allah menegaskan pada surah Al Baqarah ayat 168 mengenai sesuatu yang *halalan tayyiban* serta memperingati manusia untuk menjauhi perbuatan maksiat. Al-Qurtubi menjelaskan dalam tafsirnya bahwa pada ayat tersebut, kata *halalan* diartikan sebagai *haal* (keterangan) dan sebagai objek yang bermakna dilepaskan atau dibebaskan larangan yang mengikatnya (Puspita, 2019). Tafsir Al-Misbah karya M. Quraish Shihab (2002), memaparkan bahwa makanan yang halal belum tentu baik. Makna kata *tayyiban* (yang baik) hanya bersifat sebagai penekanan terhadap arti halal. Makanan sangat berkaitan dengan jasmani dan rohani manusia, maka seringkali digunakan setan untuk memperdaya manusia. Ayat tersebut mengingatkan kepada manusia agar tidak mengikuti langkah setan bermakna menjauhi perbuatan yang maksiat, setiap makhluk yang berakal semestinya berhati-hati dalam bertindak sesuatu. Allah menciptakan segala sesuatu dengan tidak sia-sia, hal ini dibuktikan oleh ayat Al-Qur'an dalam QS. Ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ
 لِأُولِي الْأَبْصَارِ [١٩٠] الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ
 جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ
 هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ [١٩١]

Artinya, “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan semua ini sia-sia, Maha suci Engkau, lindungilah Kami dari azab neraka.”* (QS. Ali Imran: 190-191)

Allah memberikan uraian pada surah Ali Imran ayat 190-191 mengenai penciptaan-Nya serta memerintahkan agar memikirkannya. Quraish Shihab menjelaskan dalam Tafsir *Al-Misbah* Jilid 2 bahwa pada surah Ali Imran ayat 190, manusia diajak untuk berpikir karena dalam penciptaan tersebut terdapat tanda-tanda keagungan, ketuhanan, dan ketauhidan Allah bagi *ulul albab* yaitu orang-orang yang memiliki akal murni. Adapun ayat 191 menjelaskan sebagian dari siapa orang-orang terpilih tersebut, yaitu orang yang selalu mengingat Allah, terdapat objek zikir yaitu Allah dan objek pikir adalah seluruh makhluk ciptaan-Nya. Berdasarkan tafsir tersebut, Allah menyiratkan agar manusia menggunakan kebebasan akalnya untuk berpikir bahwa segala ciptaan Allah bermanfaat dan tiada yang sia-sia. Bakteri merupakan makhluk mikroskopik yang memiliki banyak manfaat, salah satunya yaitu bakteri asam laktat.

Bakteri asam laktat yang biasa digunakan dalam produksi eksopolisakarida salah satunya adalah *Weissella confusa* yang berpotensi memiliki produktivitas eksopolisakarida tinggi. Produksi eksopolisakarida dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis sumber gula, lama fermentasi, konsentrasi substrat, pH, dan suhu. Salah satu sumber gula yang digunakan dalam produksi eksopolisakarida

oleh *Weissella confusa* yaitu sukrosa (Tayuan dkk., 2011). Wongsuphachat (2010), menyatakan bahwa sukrosa merupakan sumber karbon yang baik untuk produksi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa*, sehingga penelitian ini menggunakan sukrosa sebagai sumber gula.

Produksi EPS oleh *Weissella confusa* banyak dilakukan menggunakan *de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) sebagai media produksi, Tayuan dkk., (2011) menunjukkan bahwa produksi EPS oleh *Weissella confusa* menggunakan media MRS dengan sukrosa 5% dan lama fermentasi 48 jam menghasilkan rendemen sebesar 8,65 g/L, sedangkan penelitian Tinzi-Malang dkk., (2015) menggunakan media MBM (*malt base medium*) dengan sukrosa sebesar 6% dan lama fermentasi 24 jam menghasilkan rendemen sebesar 12,9 g/L. Beberapa penelitian yang menggunakan media MRSB untuk produksi EPS oleh *Weissella confusa* di antaranya penelitian Adesulu-dahunsi dkk., (2018) menggunakan penambahan sukrosa 2,4% dan lama fermentasi 48 jam oleh *Weissella confusa* OF126 dihasilkan rendemen EPS sebesar 3 g/L, penelitian Jin dkk., (2019) dengan sukrosa sebesar 10% dan lama fermentasi 48 jam oleh *Weissella confusa* VP30 menghasilkan rendemen sebesar 59,99 g/L, serta penelitian Zhao dkk., (2021) dengan sukrosa 8% dan lama fermentasi 48 jam oleh *Weissella confusa* XG-3 dihasilkan rendemen EPS sebesar 97,5 g/L.

Berdasarkan penelitian yang telah diuraikan, menunjukkan bahwa konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi mempengaruhi produksi eksopolisakarida oleh berbagai strain *Weissella confusa*. Selain itu perlu dilakukan pembaharuan produksi EPS oleh *Weissella confusa* menggunakan media lain sebagai alternatif yang lebih terjangkau. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui potensi produksi eksopolisakarida oleh

Weissella confusa menggunakan variasi konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi.

Eksopolisakarida tersusun oleh berbagai jenis monomer struktur gula seperti fruktosa, glukosa, mannososa, dan galaktosa. Senyawa polisakarida EPS memiliki gugus fungsi yang dapat diidentifikasi menggunakan *fourier transform infra-red* (FTIR). Gugus fungsi teridentifikasi dalam spektra IR, polisakarida umumnya memiliki spektra IR pada vibrasi daerah kerangka karbohidrat di bawah panjang gelombang 800 cm^{-1} , ikatan glikosidik $1200\text{-}800\text{ cm}^{-1}$, vibrasi gugus simetri lokal yaitu CH_2 dan C-OH pada $1500\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, regangan ikatan rangkap *doublet* COO- pada $1800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, dan vibrasi regangan OH pada $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$, (Hong dkk., 2021). Oleh karena itu, penelitian ini juga akan mempelajari karakterisasi gugus fungsi eksopolisakarida terpilih menggunakan *fourier transform infrared* (FTIR).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*?
2. Bagaimana karakterisasi dan identifikasi eksopolisakarida terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.

2. Untuk mengetahui karakterisasi dan identifikasi eksopolisakarida terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.

1.4 Batasan Masalah

1. *Weissella confusa* yang digunakan merupakan hasil isolasi sari kacang tanah terfermentasi dari penelitian sebelumnya.
2. Konsentrasi sukrosa yang digunakan yaitu 8%, 10%, dan 12%.
3. Lama fermentasi yang digunakan yaitu 48 jam dan 72 jam.
4. Media fermentasi yang digunakan yaitu media semi sintetik.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai produksi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.
2. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai pengaruh variasi konsentrasi penambahan sukrosa terhadap produksi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.
3. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi gugus fungsi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan suatu kelompok bakteri Gram positif, tidak berspora, mikroaerofilik, berbentuk *cocci* (bulat) ataupun batang, memerlukan substrat karbohidrat sebagai sumber energi yang menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir utama fermentasi. Aktivitas bakteri asam laktat dapat mengkonversi karbohidrat menjadi asam laktat dan gas karbondioksida serta asam organik lainnya secara anaerobik (Diana, 2018). Bakteri asam laktat (BAL) dikenal sebagai mikroorganisme *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang aman untuk dikonsumsi atau yang tidak beresiko terhadap kesehatan (Pinarria, 2017).

Generally Recognized As Safe (GRAS) adalah penentuan keselamatan dan kepatuhan terhadap peraturan di lingkungan yang diatur secara ketat (Burdock dkk., 2004). Menurut Mattia dkk., (2008) parameter penentuan GRAS untuk mikroorganisme, FDA mempertimbangkan aspek umum keselamatan (misalnya, paparan dan metode pembuatan), serta taksonomi, patogenisitas, potensi produksi toksin, potensi resistensi antibiotik, riwayat penggunaan yang aman dalam makanan, laporan efek samping, pertimbangan metabolik, keberadaan lingkungan, dan informasi lain yang dianggap relevan dengan penilaian keamanan.

Koriasih dkk., (2019) menjelaskan bahwa BAL yang ditambahkan dalam bahan pangan tidak menimbulkan toksin. BAL banyak digunakan untuk menghasilkan makanan fermentasi, bakteri asam laktat dapat menghambat

pertumbuhan bakteripatogen yang dapat merusak makanan atau membahayakan kesehatan manusia, sehingga keamanan makanan lebih terjamin. Bakteri asam laktat juga banyak digunakan sebagai bahan pengawet alami (*biopreservative*) untuk mengawetkan bahan makanan. Salah satu keuntungan dari kultur BAL adalah kemampuannya dalam menghasilkan EPS. Eksopolisakarida terdapat dalam beberapa jenis bahan pangan seperti susu, yoghurt dan produk *dairy food* lainnya. Eksopolisakarida yang diproduksi oleh BAL berfungsi sebagai bentuk perlindungan sel bakteri terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim dan bentuk pertahanan diri dari sel lain dan bakteriofag (Pinar, 2017). Polimer EPS merupakan zat yang terdapat dalam makanan yang termasuk dalam definisi aditif makanan, tetapi dapat menjadi bagian dari makanan secara tidak sengaja. Bahan probiotik yang dimasukkan ke dalam makanan tradisional dapat dikategorikan sebagai bahan GRAS. Penggunaan zat GRAS dalam makanan memiliki catatan keamanan yang terbukti secara ilmiah dan penggunaan (Mattia dkk., 2008).

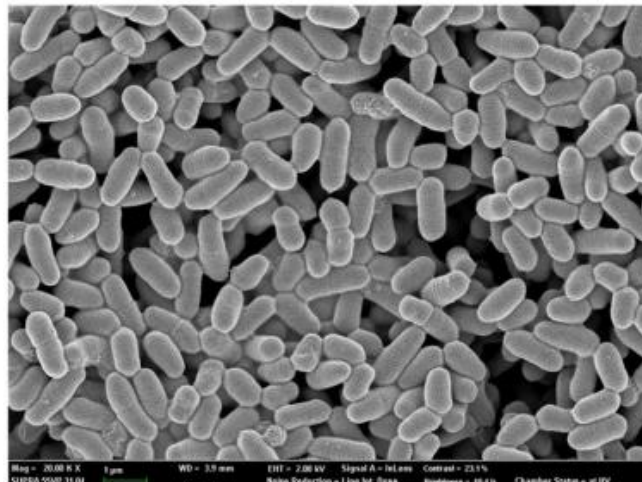
Bakteri asam laktat terbagi menjadi dua jenis, yaitu bakteri homofermenter dan bakteri heterofermenter. Homofermenter dapat mengkonversi gula terutama menjadi asam laktat, sedangkan heterofermenter dapat menghasilkan sekitar 50% asam laktat, lebih 25% asam asetat, dan etil alkohol, dan 25% gas karbon dioksida (Diana, 2018). Sebagian besar BAL yang telah diteliti untuk produksi EPS seperti *Weissella confusa*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus casei* (Tallon, dkk., 2003). Genus *Weissella* adalah kelompok bakteri anaerob fakultatif Gram positif yang memiliki metabolisme fermentatif. Strain genus ini telah salah satunya

dihasilkan dari berbagai jenis makanan sereal yang difermentasi (Hernandez dkk., 2021). Genus *Lactobacillus* termasuk bakteri yang tumbuh dengan baik di bawah tekanan oksigen rendah. *Lactobacillus* tersebar luas di lingkungan, terutama pada hewan, produk makanan dan sayur-sayuran. Bakteri dari genus *Leuconostoc* telah diisolasi dari berbagai sumber. Beberapa strain telah diisolasi dari rumput, silase, sampah, anggur (*wine*). Spesies *Leuconostoc* tidak membentuk dekstran dari sukrosa (Lutfiah, 2015).

2.2. *Weissella confusa*

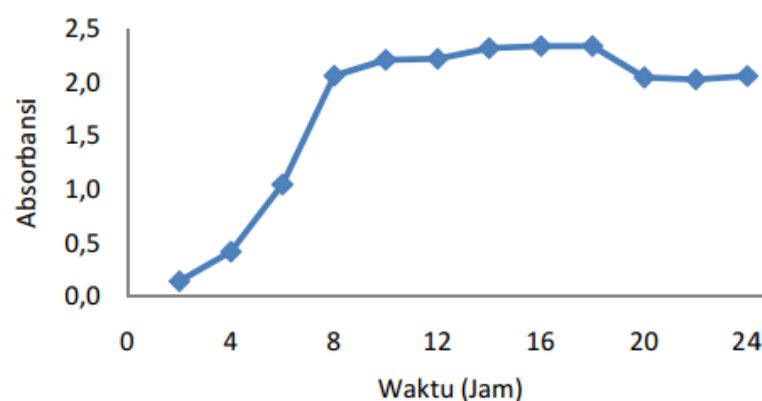
Weissella digolongkan sebagai *Leuconostoc* atau *Lactobacillus*. Identifikasi ciri khas dari *Leuconostoc* atau *Lactobacillus* dilakukan oleh Collins dkk. pada tahun 1993 kemudian direklasifikasi sebagai *Weissella*. Salah satu jenis BAL dari genus *Weissella* yaitu *Weissella confusa*, *Weissella confusa* merupakan bakteri Gram positif, katalase negatif, dan bakteri non endospora dengan morfologi bentuk *coccoid* atau batang. *Weissella confusa* merupakan mikroorganisme yang dapat digunakan untuk produksi eksopolisakarida (Jin dkk., 2019). Bentuk sel *Weissella confusa* disajikan pada Gambar 2.1. *Weissella confusa* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria
Divisi : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Lactobacillales
Famili : Leuconostocaceae
Genus : *Weissella*
Spesies : *Weissella confusa*



Gambar 2.1 Bentuk sel *Weissella confusa* (Jin, dkk., 2019)

Penelitian Adriana dkk. (2021) melaporkan laju pertumbuhan bakteri *Weissella ciberia* berlangsung setelah 4 jam masa inkubasi dan memasuki fase stasioner hingga jam ke 48. Berdasarkan penelitian Karlinda (2020), bakteri *Leconostoc mesenteroides* mengalami fase eksponensial awal setelah 2 jam inkubasi dan meningkat hingga jam ke 18 inkubasi. Kemudian memasuki fase stasioner hingga jam ke 24. Adapun kurva pertumbuhan BAL dalam media MRSB disajikan pada Gambar 2.2 berikut.



Gambar 2.2 Kurva pertumbuhan *Leconostoc mesenteroides* (Karlinda, 2020)

2.3. Eksopolisakarida

Eksopolisakarida adalah suatu polisakarida yang diproduksi dan dieksresikan oleh mikroba. EPS telah lama dilaporkan memiliki potensi untuk aplikasi di bidang industri farmasi, kesehatan dan pangan. Beberapa EPS yang telah banyak digunakan dalam bidang kesehatan diantaranya adalah β -glukan, β -mannan, xanthan, curdlan, gellan dan dekstran. Xanthan dan dekstran adalah dua contoh EPS yang telah menjadi produk komersial sejak bertahun-tahun yang lalu (Malik dkk., 2008). EPS dalam industri makanan, diproduksi oleh BAL dan digunakan sebagai pengental, penstabil, pengemulsi, atau bahan pembentuk gel untuk mengubah sifat reologi dan tekstur produk. Beberapa contoh adalah xanthan, acetan, dan gellan, masing-masing diproduksi oleh bakteri *Xanthomonas campestris*, *Acetobacter xylinum*, dan *Sphingomonas paucimovilis*, sedangkan dekstran dihasilkan oleh strain dari *Leuconostoc mesenteroides* (Pinaría, 2017).

EPS yang dihasilkan oleh mikroorganisme banyak digunakan pada bidang industri karena mempunyai sifat fisiko-kimianya hampir mirip dengan polisakarida dari tanaman (selulosa, pektin, dan pati) dan rumput laut (alginat dan keraginan). Polimer ini merupakan salah satu polimer yang dapat disintesis oleh BAL karena EPS umumnya terdiri dari monosakarida dan beberapa substituen non-karbohidrat seperti asetat, piruvat, suksinat, dan fosfat. Selain itu juga biomolekul seperti protein, asam nukleat, lipid, dan fosfat (Diana, 2018).

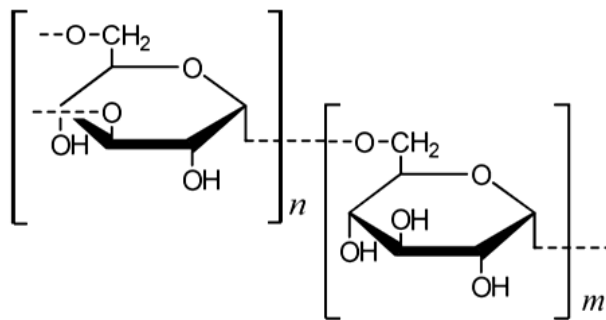
Eksopolisakarida dengan struktur bercabang termasuk dextrans, curdlan, dan pullulan, tetapi eksopolisakarida dengan struktur linier termasuk levan, curdlan, dan pullulan. Salah satu biopolimer pertama yang dibuat secara industri, yaitu dekstran yang digunakan baik dalam makanan maupun non-

makanan. Dextran digunakan sebagai emulsifier, pemisah, dan plasma (Karlinda, 2020). EPS dapat berperan dalam industri pangan yang bermanfaat sebagai pengental sehingga meningkatkan tekstur, stabilisator, emulgator, pembentuk gel, dan memiliki kemampuan mengikat air yang baik sehingga dapat mempertahankan tekstur agar tetap lembut selama penyimpanan (Nudyanto dan Elok, 2015). Selain itu, EPS berkontribusi pada kesehatan manusia karena memiliki aktivitas antitumor, antiulcer, anti-inflamansi, anti infeksi, dan meningkatkan sistem imun tubuh (*imunostimulator*) (Zahro, 2014).

Homopolisakarida adalah jenis eksopolisakarida yang dihasilkan dari konversi substrat ekstraseluler dengan bantuan enzim seperti dextransukrase atau levansukrase. Sebaliknya, heteropolisakarida terdiri dari berbagai jenis gula seperti glukosa, rhamnosa, mannosa, N-asetil glukosa, galaktosa, dan asam glukoronat. Heteropolisakarida dibuat di luar sel dengan bantuan enzim glikosiltransferase lalu disekresikan (Karlinda, 2020). Adapun macam-macam EPS adalah sebagai berikut:

1. Dekstran

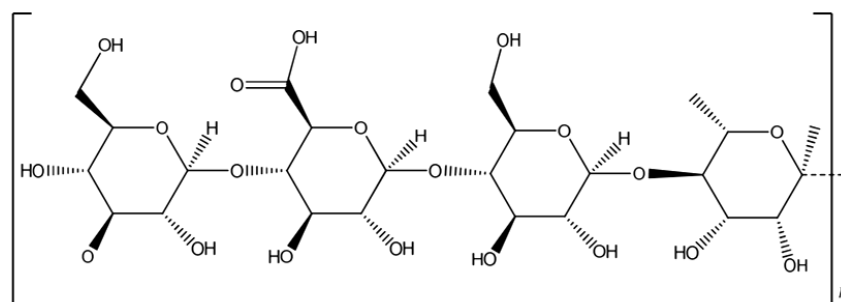
Dekstran merupakan homopolisakarida yang tersusun atas monomer glukosa. Dekstran merupakan non ionik eksopolisakarida yang mengandung cabang sekitar 52% α -(1 \rightarrow 6), dan 40% α -(1 \rightarrow 3). Dekstran merupakan turunan dari glucan yang berasal dari polimerisasi α -D-glucopyranosyl dengan pengulangan unit pada ikatan (1 \rightarrow 6) dan dikatalisis oleh enzim dextransukrase (Karlinda, 2020). Struktur dextran ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur dekstran (Karlinda, 2020)

2. Gellan

Gellan disebut juga dengan xanthan, senyawa ini dapat diendapkan dengan penambahan 2-propanol. Gellan digunakan sebagai pengental dalam bidang industri, biasanya digunakan pula sebagai bahan permen karet, serta memberikan tambahan rasa dalam makanan. Gellan memiliki struktur yang mengandung dua gugus ester yakni asetil dan gliseril pada unit glukosil yang sama (Karlinda, 2020). Molekul dari gellan berbentuk linear dan tersusun atas β -D-glucopyranosyl, β -D-glucuropyranosyl dan α -L-rhamnopyranosyl dengan molar rasio 2:1:1. Struktur Gellan ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur gellan (Karlinda, 2020)

3. Kefiran

Bakteri *Lactobacillus* dapat menghasilkan kefir saat mengolah produk susu yang dinamakan kefiran. Senyawa ini terdiri dari monomer D-glukosa atau heteropolisakarida D-galaktosa yang mengalami percabangan pada dua atau

delapan unit rantai masing-masing. Dalam bidang kesehatan, kefirin dapat digunakan sebagai anti bakteri, anti jamur, dan anti anti kanker (Vu, 2009).

4. Curdlan

Salah satu jenis eksopolisakarida yang dapat diproduksi oleh *Agrobacterium biovar* adalah currdlan. Molekul ini tidak memiliki cabang atau substituen. Struktur curdlan terdiri dari glucan, dengan unit diulang pada ikatan (1→3). Curdlan biasanya terdiri dari campuran struktur *single helix* atau *triple helix* dan kaku saat berbentuk gel. Keunikan curdlan adalah kestabilan termalnya, yang berarti bahwa ketika curdlan telah membentuk gel, tidak akan mencair lagi saat dipanaskan atau didinginkan. Curdlan digunakan untuk melembutkan tekstur dan perasa produk susu. Curdlan digunakan dalam industri untuk melunakkan daging dan mengurangi penyusutan saat didinginkan. (Karlinda, 2020).

2.4. Biosintesis Eksopolisakarida

Biosintesis eksopolisakarida dilakukan pada fase-fase pertumbuhan yang berbeda tergantung jenis mikroorganismenya. Proses sintesis dapat dibedakan menjadi dua prinsip dasar yaitu tempat dan prekursor alami, misalnya sintesis di luar dinding sel atau pada membran sel. Sintesis heteropolisakarida berbeda dengan sintesis monosakarida yang biosintesis pada membran sitoplasma dengan memanfaatkan prekursor yang terbentuk intraseluler (Cening, dkk., 1990).

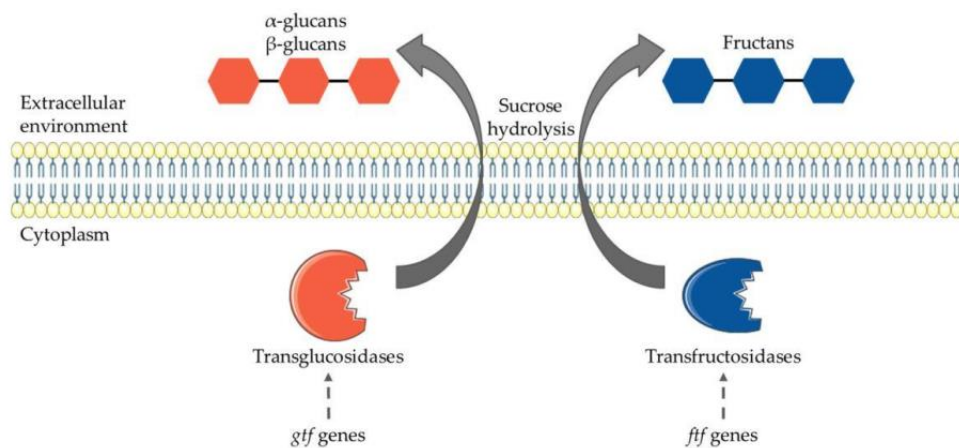
Eksopolisakarida disintesis oleh bakteri Gram-positif atau Gram-negatif dengan mekanisme yang berbeda. (Vanhooren dkk., 1998). Proses sintesis eksopolisakarida terbagi menjadi dua tempat, yaitu tempat sintesis dan

prekursor alami pada luar dinding sel atau membran sel (Cerning, 1990). Biosintesis eksopolisakarida dengan bakteri Gram-positif seperti dextran, prosesnya terjadi secara ekstraseluler, sedangkan bakteri Gram-negatif mensintesis eksopolisakarida seperti xanthan, gelam, selulosa, suksinoglikan secara intraseluler (Vanhooren dkk., 1998; Shutherland, 2001).

2.4.1 Biosintesis Homopolisakarida

Jalur biosintesis homopolisakarida melibatkan lima langkah umum: 1) pengambilan subunit gula dan aktivitasnya dengan ikatan yang berenergi tinggi melalui konversinya menjadi nukleotida gula; 2) perakitan unit monosakarida berulang pada pembawa lipid isoprenoid melalui transfer berurutan monosakarida dari nukleotida gula oleh glikosiltransferase; 3) penambahan gugus asil; 4) polimerisasi unit berulang; 5) sekresi polisakarida dari membran sel ke lingkungan ekstraseluler. (Kambourova, dkk., 2015).

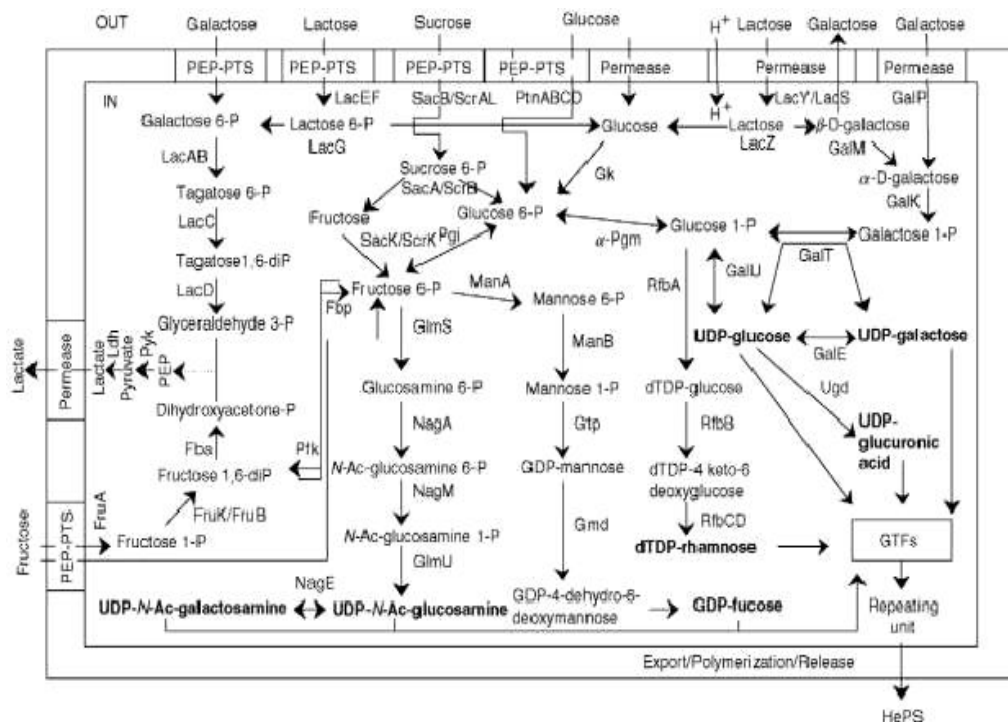
Berdasarkan pada Gambar 2.5, biosintesis ini dibantu oleh enzim ekstraseluler glukansukrase atau fruktansukrase, enzim tersebut mentransfer monosakarida dari substrat spesifik pada pertumbuhan rantai polisakarida, residu monosakarida yang dihasilkan akan melekat pada rantai aseptor glikan. Enzim-enzim ini termasuk dalam kelompok glikosiltransferase (GTF, EC 2.4xy) dan mengkatalisis hidrolisis gula, dan dapat dikategorikan menjadi transglukosidase (EC 2.4.1.y; glukon-ter-sintesis dekstran sukrases, mutansukrases, dan reuteransukrases) dan transfruktosidase (EC 2.4.1.y atau 2.y; fruktan-terkatalis transfruktosidase levansucrase dan inulosukrase) (Guerin. M, dkk., 2020).



Gambar 2.5 Jalur biosintesis HoPS (Guerin, dkk., 2020)

2.4.2 Biosintesis Heteropolisakarida

Proses biosintesis heteropolisakarida berlangsung seperti pada gambar 2.1 yang diawali dengan jalur *Phosphoenolpyruvatephosphotransferase* system (PEP-PTS) di mana gula masuk melalui fosfotransferase sistem spesifik (PEP-PTS dan permease). Gula berupa sukrosa akan diubah menjadi sukrosa 6-P dengan aktivitas enzim SacB/ScrAL. Sukrosa 6-P kemudian terpecah menjadi monomernya berupa fruktosa dan glukosa 6-P oleh enzim SacA/ScrB (sukrosa 6-fosfat hidrolase). Fruktosa dan glukosa 6-P akan diubah menjadi gula nukleotida melalui pembentukan fruktosa 6-P dengan bantuan enzim SacK/ScrK (6-fruktokinase). Fruktosa 6-P akan diubah menjadi glukosamin 6-P oleh GlnS (glutamin-fruktosa 6-fosfat transaminase), glukosamin 6-P kemudian diubah menjadi -Ac-glukosamin 6-P dengan bantuan enzim NagA (N-asetilglukosamin 6-fosfat deasetilase), -Ac-glukosamin 6-P dirubah menjadi -Ac-glukosamin 1-P dengan bantuan NagM (N-asetilglukosamin fosfomutase). Selanjutnya pembentukan gula nukleotida UDP- --Ac-glukosamin akan terjadi dengan bantuan enzim GlnU(UDP-N-asetilglukosamin pirofosforilase). Jalur biosintesis heteropolisakarida ditunjukkan pada Gambar 2.6 berikut.



Gambar 2.6 Jalur biosintesis heteropolisakarida (De Vusyst, 2007)

Biosintesis HePs berlangsung dengan pengubahan fruktosa 6-P menjadi mannosa 6-P oleh katalis enzim MannA (mannosa 6-fosfat isomerase), kemudian mannosa 6-P menjadi mannosa 1-P dikatalisis oleh enzim MannB (fosfomannomutase), mannosa 1-P menjadi GDP-mannosa dikatalisis oleh enzim Gtp (mannosa 1-fosfat guaniltransferase), GDP-mannosa menjadi GDP-4-dehidro-6-deoksimannosa dikatalisis oleh enzim Gmd (GDP-mannosa-4,6-dehidratase), GDP-4-dehidro-6-deoksimannosa menjadi GDP fukosa dikatalisis oleh enzim GDP-fukosa sintase kemudian nukleotida gula berupa GTF (glikosiltransferase) berperan untuk menggabungkan monosakarida yang melakukan pengulangan unit hingga membentuk HePs. Glikosiltransferase (GTF) pada membran periplasmik sel mentransfer gula nukleosida difosfat (NDP) untuk membentuk pengulangan unit melekat pada lipid pembawa glikosil. Makromolekul dipolimerisasi dan disekresikan dalam bentuk EPS.

(Kumar, dkk., 2014).

2.5. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Produksi Eksopolisakarida

Berikut adalah beberapa faktor yang dapat memengaruhi produksi eksopolisakarida, di antaranya: (Diana, 2018)

2.5.1 Konsentrasi Substrat

Kecepatan reaksi enzimatik, 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.

2.5.2 Lama Fermentasi

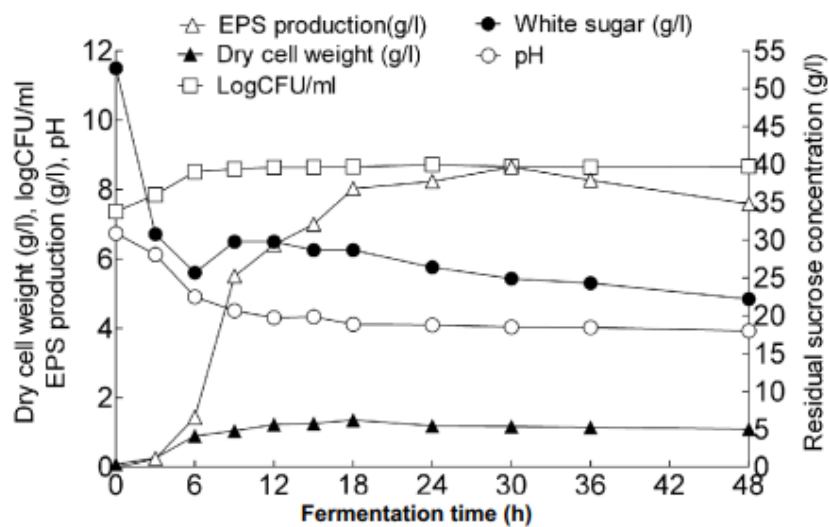
Fermentasi merupakan tahap dalam pembentukan eksopolisakarida sehingga waktu fermentasi sangat mempengaruhi hasil dari produk eksopolisakarida. Lama fermentasi berkaitan dengan fase pertumbuhan bakteri. Fase pertumbuhan bakteri meliputi empat fase, di antaranya: (Brock, dkk., 1991)

1. Fase lag atau adaptasi, bakteri akan menyesuaikan dengan kondisi lingkungan di sekitarnya ketika dipindahkan ke dalam media tertentu. Lama fase adaptasi dipengaruhi oleh media, jenis lingkungan, dan jumlah inokulum.
2. Fase log atau eksponensial, bakteri akan membelah dengan cepat dan konstan sesuai kurva logaritmik. Kecepatan pertumbuhan bakteri pada fase

log akan menurun karena nutrisi di dalam media sudah berkurang. Menurut Setyati dkk., (2015) fase eksponensial bakteri dicapai pada waktu inkubasi 16-18 jam.

3. Fase stationer, jumlah sel bakteri pada fase ini tetap karena jumlah sel yang tumbuh sebanding dengan jumlah sel yang mati. Sel kekurangan nutrisi dan kemungkinan mempunyai komposisi yang berbeda dengan sel pada fase log. Keadaan ini dimanfaatkan untuk menimbulkan stress lingkungan dengan penambahan variasi konsentrasi sukrosa sebagai sumber gula sekaligus memicu sel bakteri memproduksi EPS.
4. Fase kematian, beberapa sel bakteri akan mengalami kematian yang disebabkan oleh energi cadangan di dalam sel atau nutrisi di dalam media sudah habis.

Hasil penelitian Jin, dkk (2019) menunjukkan bahwa bakteri *Weissella confusa* menghasilkan EPS dengan jumlah tertinggi pada lama fermentasi 48 jam dengan total EPS yang dihasilkan sebesar 59 g/L. Tayuan dkk., (2011) melaporkan pertumbuhan *Weissella sp.* dalam produksi EPS menggunakan media MRSB termodifikasi sukrosa 5% dengan fermentasi 48 jam. EPS yang dihasilkan meningkat seiring dengan bertambahnya lama fermentasi. Jumlah bakteri yang tumbuh meningkat pada fermentasi setelah 6 jam dan terus berlangsung hingga jam ke 24 sesuai pada Gambar 2.7 berikut.



Gambar 2.7 Grafik hubungan lama fermentasi terhadap pertumbuhan bakteri, produksi EPS, dan pH (Tayuan dkk., 2011)

2.5.3 Konsentrasi Inokulum

Teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media agar memungkinkannya tumbuh dengan agak berjauhan dari sesamanya, serta memungkinkan setiap selnya berkelompok membentuk koloni, yaitu sekelompok massa sel yang dapat dilihat dengan mata secara langsung. Bahan yang diinokulasikan pada medium merupakan inokulum (Pelezar, *et al.*, 1993). Kadar inokulum pada fermentasi menunjukkan pengaruh terhadap produk fermentasi. Seiring bertambahnya inokulum maka kerja bakteri makin cepat untuk mengubah gula menjadi asam laktat. Semakin banyak inokulum yang ditambahkan semakin besar asam laktat yang dihasilkan dan kadarnya pun semakin tinggi, akan tetapi konsentrasi inokulum yang semakin besar juga tidak efisien ketika proses fermentasi (Franca *et al.*, 2009). EPS dengan variasi inokulum 1,0, 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).

2.5.4 Media

Penggunaan media dalam produksi eksopolisakarida sangat beragam dan dapat memengaruhi hasil produksi karena polimer EPS memiliki rantai utama berupa glukosa. Beberapa jenis media yang sering digunakan dalam produksi EPS yaitu MRS dan media campuran semi-sintetis. Media MRS memiliki kandungan berupa glukosa, tripton, *yeast extract*, *beef extract*, KH_2PO_4 , natrium asetat anhidrat, ammonium sitrat, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, dan Tween 80 (Du dkk., 2017). Berdasarkan penelitian Jin, dkk., (2019) media MRSB dengan penambahan sukrosa 10% dapat menghasilkan rendemen EPS sebesar 59,99 g/L dari isolat *Weissella confusa* VP30.

Media semi-sintetis merupakan media campuran yang dapat digunakan sebagai media fermentasi untuk produksi EPS. Berdasarkan penelitian Dharmik dan Narkhede (2020), komposisi media yang digunakan yaitu pepton 5 g/L, ekstrak ragi 5 g/L, K_2HPO_4 15 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,05 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g/L, NaCl 0,01 g/L dan sukrosa 100 g/L (10%). Media ini mengandung sukrosa yang dapat dimodifikasi jumlahnya, sukrosa berfungsi sebagai sumber karbon yang digunakan untuk memproduksi EPS.

2.5.5 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. penelitian Tayuan dkk., (2011) menunjukkan bahwa produksi eksopolisakarida tertinggi oleh *Weissella confusa* pada media MRS dengan penambahan sukrosa sebesar 5% dihasilkan rendemen eksopolisakarida sebesar 8,65 g/L.

2.5.6 Suhu

Suhu merupakan faktor yang sangat penting dalam kehidupan mikroba, suhu juga merupakan faktor abiotik yang berperan dalam keberhasilan fermentasi. Selama proses fermentasi, suhu akan mengalami peningkatan yaitu dari suhu rendah menjadi lebih tinggi karena reaksi eksotermis dan kemudian mengalami penurunan kembali seperti semula setelah reaksi selesai. Kondisi ini disebabkan oleh kerja khamir (ragi) dalam metabolisme media. Pada umumnya enzim bekerja sangat lambat pada suhu di bawah titik beku dan keaktifannya akan meningkat sampai suhu 45 °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.

2.5.7 Kondisi pH

Kebanyakan enzim memiliki pH yang memungkinkan untuk melakukan aktifitas secara maksimal, di bawah atau di atas kondisi pH optimum aktivitas enzim akan mengalami penurunan. Fermentasi alkohol, khamir memerlukan media dengan suasana asam, yaitu antara pH 5-6. Pada pH 3 khamir (ragi) sebenarnya masih dapat melakukan fermentasi, tetapi agak lambat. Karena sangat pentingnya pH maka sebagian besar proses fermentasi pH diatur dengan suatu sistem pengendalian pH. Hasil penelitian Dahunsi, dkk., (2018)

menunjukkan bahwa produksi EPS oleh *Weissella confusa* OF126 pada pH 7,0 menghasilkan jumlah EPS tertinggi yakni 3 g/L.

2.6 Karakterisasi Eksopolisakarida

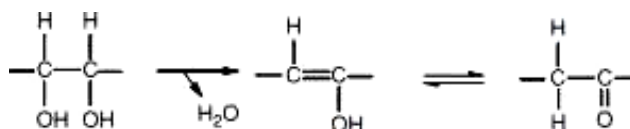
Karakterisasi eksopolisakarida dilakukan secara fisika dan kimia. Karakterisasi secara fisika bertujuan untuk menentukan sifat EPS yang didasarkan pada sifat kelarutannya terhadap jenis pelarut, daya ikat air, dan kadar kelarutan EPS. Konstanta dielektrik pelarut memengaruhi kelarutan EPS, nilai konstanta dielektrik yang semakin besar, maka kepolaran pelarut dan kemampuannya untuk melarutkan EPS juga semakin tinggi (Mao dan Zhongsong, 2016). Kelarutan EPS berhubungan dengan kerangka struktur ikatannya, seperti struktur tersier dan sekunder, susunan rantai glikosidik, panjang rantai utama dan cabang, serta adanya struktur matriks yang berpori dapat menahan sejumlah air karena ikatan hidrogen (Zhou, dkk., 2017). Hal ini menyebabkan EPS bersifat dapat mengikat air dan mampu larut dalam air (Ma'unatin, dkk., 2020).

Karakterisasi secara kimia EPS bertujuan untuk menentukan sifat EPS secara kimiawi yang didasarkan pada kandungan gula total dan protein EPS. Karakterisasi EPS juga dilakukan dengan mengidentifikasi gugus fungsi yang dimiliki EPS.

2.6.1. Analisis Kadar Gula Total Menggunakan Metode Asam Sulfat Fenol

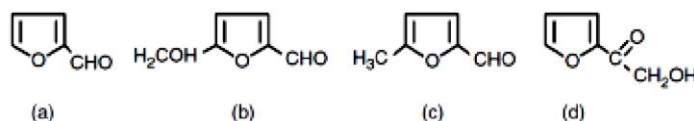
Metode asam sulfat-fenol digunakan untuk mengukur konsentrasi sebenarnya dari monosakarida, oligosakarida, polisakarida dan dua gula pereduksi yaitu pentosa atau heksosa. Gula merupakan karbohidrat yang dapat mengalami reaksi pembentukan derivat furan seperti furanaldehid dan

hidroksimetil furaldehida ketika ditambahkan asam kuat dan dipanaskan. Asam sulfat pekat bersifat panas sehingga mampu menghidrolisis ikatan glikosidik dari karbohidrat. Reaksi diawali dengan dehidrasi kemudian disertai dengan pembentukan turunan furan (Brummer, dan Cui., 2005).



Gambar 2.8 Reaksi dehidrasi karbohidrat (Brummer, 2005)

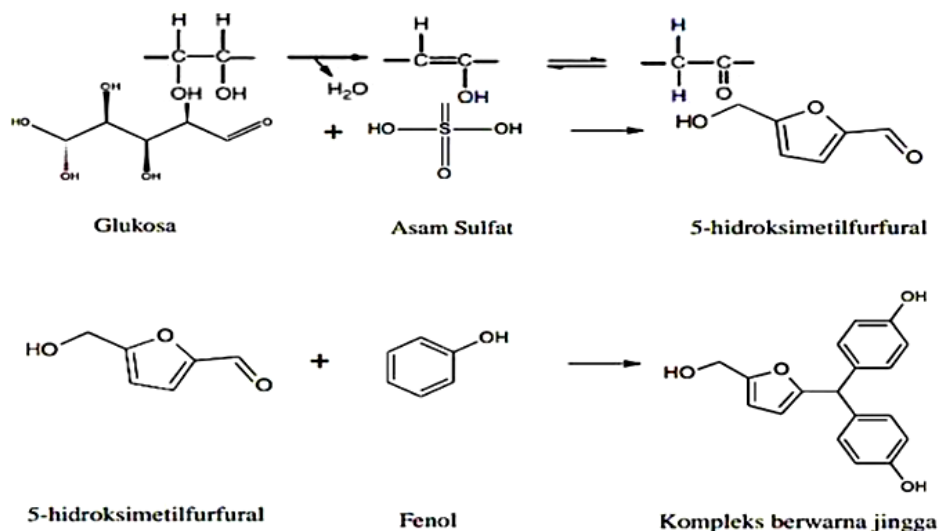
Turunan furan kemudian secara kuantitatif bereaksi dengan fenol dan menghasilkan warna jingga kekuningan yang dideteksi menimbulkan absorbansi panjang gelombang 490 nm oleh spektrofotometer UV-Vis (Albalasme, dkk., 2013).



Gambar 2.9 Turunan furan a) pentosa, b) heksosa, c) 6-dioksiheksosa, d) keto-heksosa (Brummer, 2005)

Penentuan konsentrasi gula dalam eksopolisakarida menggunakan hasil kurva kalibrasi yang sesuai. Kurva kalibrasi akan menghasilkan persamaan regresi linear yaitu $y = ax + b$ dan nilai regresi yang dapat menentukan kadar glukosa. Nilai regresi R^2 menjelaskan keselarasan model regresi, ketika nilai regresi dari persamaan linear mendekati satu, maka dapat dijelaskan seluruh variasi pada variabel terikat (variabel Y). Prinsip dasar dari metode ini adalah karbohidrat akan menghasilkan turunan furfural ketika didehidrasi melalui reaksi dengan asam sulfat pekat. Reaksi selanjutnya antara turunan furfural dan

fenol menghasilkan warna yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer UV- Vis (Albalasmeh, 2013). Reaksi yang terjadi seperti pada Gambar 2.10 berikut.



Gambar 2.10 Reaksi pembentukan kompleks fenol-furfural (Brummer, 2005)

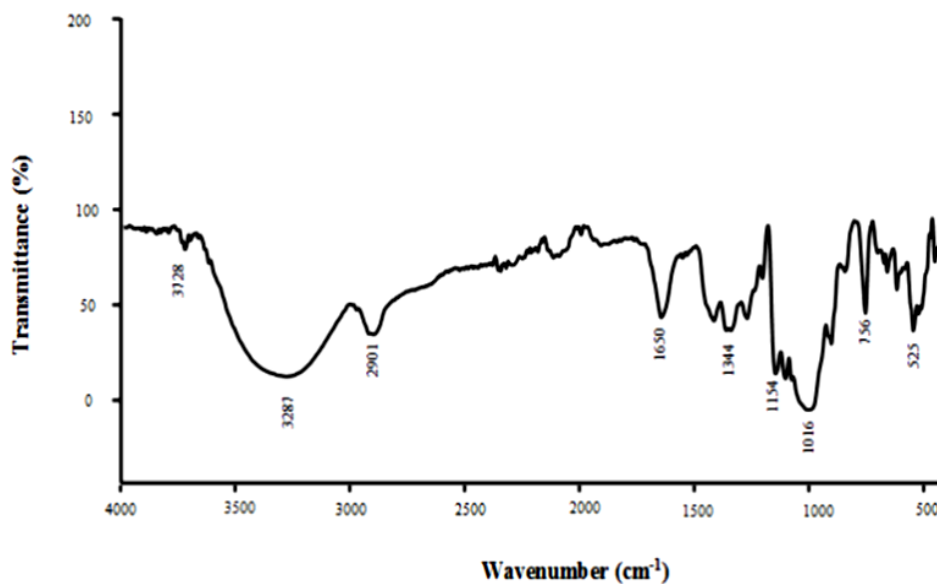
2.6.2. Analisis Kadar Protein Ekspolisakarida

Penentuan konsentrasi protein EPS menggunakan metode Lowry. Prinsip dasar metode Lowry adalah protein akan menghasilkan residu oksidasi ketika direduksi menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu mampu mendeteksi gugus fenolik, reaksi antara gugus fenolik dan reagen ini menghasilkan residu oksidasi. Ikatan peptida akan mereduksi ion tembaga divalen (Cu^{2+}) menjadi ion tembaga monovalen (Cu^+) dalam keadaan basa (Bintang, 2010). Gugus fenolik mereduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat dalam reagen menjadi moliden dan tungsten berwarna biru yang menimbulkan absorbansi pada panjang gelombang 660 nm. Penentuan kadar protein dalam EPS dapat melalui pembuatan kurva standar. Kurva standar protein menggunakan protein murni berupa *Bovine Saline Aga* (BSA) dengan variasi rentang konsentrasi yang telah diatur.

2.6.3. Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Penentuan struktur eksopolisakarida dapat dilakukan dengan FTIR dengan mengetahui gugus fungsi khas pada struktur dengan menggunakan sinar infra merah. Komponen utama spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yang mempunyai fungsi menguraikan (mendispersi) radiasi inframerah menjadi komponen-komponen frekuensi sehingga diperoleh informasi struktur molekul secara cepat dan akurat. Metode ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam berbagai fase (gas, padat atau cair) (Sankari, 2010).

Prinsip kerja instrumen FTIR adalah mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Ketika sinar inframerah mengenai molekul maka akan terjadi interaksi vibrasi ikatan kimia yang menyebabkan perubahan polaritas dengan medan listrik gelombang elektromagnetik. Pita absorpsi khas muncul karena interaksi sinar infra merah dan gugus fungsi, pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sankari, 2010). Identifikasi menggunakan FTIR berfungsi untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung di dalam sampel. Adanya gugus fungsi ditandai dengan adanya puncak serapan yang dapat diidentifikasi jenis senyawanya dengan menghitung dan membandingkan panjang gelombang pada tiap puncak. Menurut Sankari (2010) tiap senyawa memiliki pola absorbansi yang berbeda-beda, sehingga senyawa tersebut dapat dibedakan dan dikuantifikasikan masing-masing.



Gambar 2.11 Spektra FTIR eksopolisakarida *Weissella confusa*

Penelitian Adesulu-Dahunsi, dkk., (2018) menunjukkan spektra FTIR eksopolisakarida pada *Weissella confusa* (Gambar 2.7), dapat diketahui bahwa hasil identifikasi gugus fungsi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* yang khas di antaranya gugus O-H hidroksil pada 3287 cm⁻¹, C-H *stretching* pada pita serapan 2980 cm⁻¹, C=O pada pita serapan 1651 cm⁻¹, C-O-C *stretching* pada pita serapan 1009 cm⁻¹, α -glikosidik pada pita serapan 914 cm⁻¹.

2.7 Prinsip Pengembangan Sains dan Teknologi dalam Islam

Kehidupan manusia menjadi lebih mudah dan lebih baik karena kemajuan sains dan teknologi. Teknologi, ilmu pengetahuan dan Islam berkaitan erat satu sama lain. Ilmu pengetahuan adalah sumber teknologi yang memungkinkan berbagai penemuan, ide, dan rekayasa. Teknologi adalah aplikasi ilmu yang dapat menghasilkan hasil yang lebih canggih dan mendorong manusia untuk berkembang. Islam adalah landasan dalam melakukan pengkajian ilmu sains menggunakan teknologi yang berpedoman pada al-Qur'an.

Manusia sebagai makhluk di bumi memerlukan sumber daya alam yang digunakan untuk mencukupi kebutuhan. Kegiatan-kegiatan manusia dalam mengolah dan memanfaatkan sumber daya harus dilakukan dengan penuh tanggung jawab dan tidak berlebihan, karena manusia ditugaskan sebagai khalifah di bumi, karena segala ciptaan Allah di bumi memiliki manfaat bagi kehidupan manusia, maka seyogyanya manusia menggunakan sumber daya tersebut dengan melakukan penemuan-penemuan terhadap fenomena alam yang telah Allah SWT. ciptakan sesuai dengan kehendak-Nya.

Ahmad Musthafa Al-Maraghi menjelaskan bahwa karunia Allah terhadap hamba-hambanya-Nya begitu banyak, dan bahwa sewajibnya mereka bersyukur kepada Allah, dengan senantiasa takut kepada-Nya dan tidak bermaksiat kepada-Nya, dan bahwa sedikit saja diantara hamba-hamba-Nya yang bersyukur, maka Allah melanjutkan dengan mengingatkan mereka (Diana, 2018). Pengetahuan Allah meliputi segala urusan dan segala perbuatan mereka yang ada pada semua kerajaan langit dan bumi. Allah SWT. berfirman dalam Q.S. Yunus ayat 61:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْءَانٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا
 كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ ۗ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ
 فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ

مُبِينٍ [٦١]

Artinya, “Dan tidaklah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu ayat Al- Qur’an serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikitpun dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah, baik di bumi ataupun di langit. Tidak ada sesuatu yang lebih

kecil dan yang lebih besar daripada itu, melainkan semua tercatat dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfudz)” (Q.S. Yunus : 61).

M. Quraish Shihab mengungkapkan dalam *Tafsir al-Mishbah* (2002), kata *dzarrah* dapat dipahami dalam beberapa arti, seperti semut yang sangat kecil, dan debu yang beterbangan. Ilmu modern telah membuktikan bahwa *dzarrah* digambarkan sebagai sesuatu yang terkecil, yaitu sesuatu yang sebesar biji atom ternyata memiliki banyak manfaat bagi keberlangsungan hidup manusia. Mikroorganisme merupakan makhluk hidup yang paling kecil salah satunya yaitu bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat banyak digunakan secara tradisional sebagai kultur starter untuk fermentasi. Bakteri ini berperan penting dalam proses fermentasi untuk memperoleh produk akhir dengan tingkat konsentrasi yang tinggi, salah satunya adalah eksopolisakarida (EPS).

EPS memiliki banyak manfaat dalam industri makanan, kesehatan dan farmasi. Setiap penciptaan-Nya mempunyai manfaat bagi kehidupan manusia karena penciptaan-Nya tidak ada yang sia-sia. Sebagaimana dijelaskan dalam Al-Qur'an bahwa seluruh kekayaan alam berhak untuk dipelihara dan dimanfaatkan guna meningkatkan kesejahteraan, serta sebagai wujud rasa syukur kepada Allah SWT. seperti yang tertulis dalam Q.S. Shad (38) ayat 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ
[٢٧] كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

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

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

senantiasa menyembah dan mengesakan-Nya. Allah SWT menciptakan langit, bumi, dan seisinya berupa berbagai makhluk yang menakjubkan, beraneka ragam, dan penuh ketelitian. Allah telah memberikan amanat yang besar untuk menjaga dan memanfaatkan alam semesta demi kesejahteraan umat manusia. Sumber daya alam yang Allah telah ciptakan merupakan faktor penting dalam keberlangsungan hidup. Salah satu motivasi yang dapat dilakukan untuk memanfaatkan sumber daya alam sekitar yaitu menciptakan produk bioteknologi berupa EPS yang diproduksi oleh bakteri asam laktat.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2022 hingga Januari 2023 di Laboratorium Biokimia dan Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya gelas ukur 10 mL dan 100 mL, gelas beaker 100 mL dan 250 mL, Erlenmeyer 250 mL, labu ukur 10 mL dan 100 mL, pipet volume 1 mL dan 5 mL, *hot plate*, mikro pipet, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, spatula, batang pengaduk, bola hisap, botol semprot, penangas air, korek api, bunsen, pipet tetes, *magnetic stirrer*, *blue tip*, tabung sentrifugasi, *sentrifuge* dingin, timbangan analitik, *autoclave*, *shaker incubator*, *laminar air flow*, *vortex*, inkubator, oven, lemari asap, lemari pendingin, spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer FTIR.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya kultur bakteri asam laktat *Weissella confusa* dari stok laboratorium Bioteknologi jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, sukrosa (HiMedia), *de Man Rogose Sharpe Agar* (MRSA) (Merck), *de Man Rogose Sharpe Broth* (MRSB) (Merck), akuademin, etanol PA 95% (Merck), NaOH (Merck), alkohol

70%, H₂SO₄ 96% (Mallinckordt), fenol 5%, akuades, kapas, aluminium foil, plastik *wrap*, plastik tahan panas.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratik yang dilakukan secara kuantitatif untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*. Hasil EPS dikarakterisasi secara kimia terdiri dari analisis kadar total gula, kadar protein, dan gugus fungsi eksopolisakarida. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi sukrosa dengan variasi 8%, 10%, dan 12% serta lama fermentasi 48 jam dan 72 jam. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

3.4. Tahapan Penelitian

1. Pembuatan media
 - 1.1. Media *de Man Rogose Sharpe Agar* (MRSA)
 - 1.2. Media *de Man Rogose Sharpe Broth* (MRSB)
 - 1.3. Media produksi eksopolisakarida
2. Sterilisasi alat dan media
3. Regenerasi *Weissella confusa*
4. Pembuatan inokulum
5. Produksi eksopolisakarida
6. Ekstraksi eksopolisakarida
7. Karakterisasi eksopolisakarida
 - 7.1 Pembuatan kurva standar glukosa

- 7.2 Analisis kadar total gula eksopolisakarida
 - 7.3 Pembuatan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA)
 - 7.4 Analisis kadar protein eksopolisakarida
 - 7.5 Identifikasi gugus fungsi eksopolisakarida terpilih menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)
8. Analisa data

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pembuatan Media

3.5.1.1 Media *de Mann Rogose and Sharpe Agar* (MRSA)

Media MRSA ditimbang sebanyak 6,82 gram dan dilarutkan 100 mL akuades ke dalam Erlenmeyer 250 mL, dipanaskan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer* hingga mendidih agar larut dan homogen. Media ditutup dengan kapas dan dibungkus plastik tahan panas, kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit. Media untuk regenerasi *Weissella confusa*, dibuat larutan MRSA sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam 12-14 tabung reaksi, setelah disterilisasi kemudian didinginkan dalam suhu ruang dengan keadaan miring hingga memadat.

3.5.1.2 Media *de Mann Rogose and Sharpe Broth* (MRSB)

Media MRS broth ditimbang sebanyak 5,52 gram, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan akuades sebanyak 100 mL. Larutan dipanaskan menggunakan *hot plate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen. Media ditutup dengan kapas, dibungkus plastik tahan panas kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media ini digunakan dalam pembuatan inokulum

3.5.1.3 Media Produksi Eksopolisakarida (Dharmik dan Narkhede, termodifikasi, 2020)

Media produksi eksopolisakarida dibuat dengan ditimbang sebanyak 0,001 gram NaCl, 0,001 gram MgSO₄.7H₂O, 0,0025 gram CaCl₂.2H₂O, 2 gram K₂HPO₄, 0,2 gram ekstrak ragi, dan 0,5 gram pepton, dan sukrosa dengan variasi konsentrasi 8%, 10%, dan 12% (b/v). Media dilarutkan dengan 100 mL akuades lalu distirer dan dipanaskan hingga mendidih agar larut. Media dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 mL dan ditutup kapas, dibungkus plastik kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Media

Alat gelas yang digunakan dicuci bersih lalu dikeringkan. Alat yang telah kering ditutup menggunakan alumunium foil kemudian dibungkus plastik tahan panas. Alat gelas dan media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

3.5.3 Regenerasi *Weissella confusa* (Kultsum, termodifikasi, 2009)

Kultur *Weissella confusa* diremajakan secara aseptik di dalam *laminar air flow*. Biakan *Weissella confusa* diambil sebanyak 2-3 ose dan digoreskan pada media MRSA padat dengan posisi miring, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Isolat *Weissella confusa* yang telah diremajakan digunakan untuk pembuatan stok inokulum.

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

Bakteri *Weissella confusa* yang telah diregenerasi diambil sebanyak 3 ose, diinokulasikan ke dalam 50 mL media MRS *broth*, ditutup dengan kapas dan plastik *wrap*. Media kemudian dishaker pada kecepatan 100 rpm pada suhu

ruang selama 16 jam sampai fase eksponensial. Kekeruhan inokulum sel disetarakan dengan *optical density* (OD) 0,5 dengan UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm.

3.5.5 Produksi Eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* (Seesuriyachan dkk., termodifikasi, 2014)

Inokulum *Weissella confusa* sebanyak 10 mL (10% v/v) dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifuse dingin pada suhu 4 °C selama 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Pelet sel bakteri diambil menggunakan mikro pipet secara aseptis, dan dimasukkan dalam 100 mL media produksi steril. Media hasil inokulasi diinkubasi menggunakan *shaker* inkubator pada suhu ruang dengan kecepatan 100 rpm selama variasi waktu fermentasi 48 dan 72 jam.

3.5.6 Ekstraksi Eksopolisakarida (Joo Seo dkk., termodifikasi, 2015)

Media hasil fermentasi diambil 40 mL kemudian disentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Supernatan diambil 30 mL dan ditambah etanol dingin 95% 60 mL, kemudian didiamkan pada suhu 4°C selama 24 jam. Endapan EPS disentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Pelet yang diperoleh dikeringkan pada suhu 60 °C selama 5-6 jam lalu ditimbang. Rendemen EPS ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Rendemen EPS } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = \frac{\text{berat eksopolisakarida kering (g)}}{\text{volume media bebas sel (L)}} \dots\dots\dots (3.1)$$

3.5.7 Karakterisasi Eksopolisakarida

3.5.7.1. Analisis Gula Total Eksopolisakarida

3.5.7.1.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa (Dubois dkk., 1956)

Dibuat larutan glukosa standar dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Larutan glukosa masing-masing sebanyak 2 mL dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan sebanyak 1 mL fenol 5% (b/v) lalu divorteks. Larutan ditambahkan sebanyak 5 mL H₂SO₄ pekat secara cepat di dalam lemari asap. Kemudian dibiarkan selama 10 menit lalu divorteks agar homogen. Ditempatkan dalam penangas air pada suhu 100 °C selama 15 menit. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 490 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan ditentukan nilai regresinya.

3.5.7.1.2 Penentuan Kadar Gula Total Eksopolisakarida (Dubois dkk., 1956)

Penentuan kadar gula total EPS dilakukan menggunakan metode sulfat-fenol. EPS terpilih ditimbang sebanyak 0,01 gram, ditambahkan akuades 250 mL dan ditandabatkan. Larutan diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan 1 mL fenol 5% (b/v) lalu divorteks. Kemudian ditambahkan sebanyak 5 mL H₂SO₄ pekat secara cepat di dalam lemari asap. Dibiarkan selama 10 menit lalu divorteks agar homogen. Ditempatkan dalam penangas air pada suhu 100°C selama 15 menit dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.7.2. Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida

3.5.7.2.1 Pembuatan Kurva Standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Adesulu-dahunsi, dkk., 2018)

Padatan BSA ditimbang sebanyak 30 mg dan dilarutkan dalam 10 mL ke dalam tabung reaksi. Larutan standar dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Larutan standar masing-masing diambil 1 mL dan ditambahkan 5

mL reagen Lowry kemudia divorteks. Larutan dibiarkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan sebanyak 0,5 mL reagen folin 1N dan diinkubasi selama 20 menit dalam kondisi ruang gelap. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 660 nm.

3.5.7.2.2 Penentuan Kadar Protein Eksopolisakarida (Adesulu-dahunsi, dkk., 2018)

Penentuan kadar protein EPS dilakukan menggunakan metode Lowry. EPS terpilih ditimbang sebanyak 0,02 gram dan dilarutkan dalam 5 mL akuabides, lalu ditandabatkan pada labu ukur 5 mL. Larutan EPS diambil 1 mL dan ditambahkan reagen Lowry sebanyak 5 mL kemudian divorteks. Larutan dibiarkan selama 10 menit, selanjutnya ditambahkan sebanyak 0,5 mL folin 1N dan diinkubasi dalam kondisi ruang gelap selama 20 menit. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.5.8 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida Terpilih dengan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) (Adesulu-dahunsi dkk., 2018)

Sebanyak 2 mg sampel EPS terpilih dihaluskan lalu dihomogenkan dengan 250 mg padatan KBr. Selanjutnya ditekan di dalam cetakan hingga diperoleh pelet KBr. Pelet dianalisis menggunakan FTIR pada rentang 4000-500 cm^{-1} . Data yang diperoleh berupa gugus fungsional dari EPS pada bilangan gelombang tertentu.

3.5.9 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah rendemen eksopolisakarida dianalisis dengan ragam varian *Two Way* ANOVA SPSS 25. Apabila terdapat adanya pengaruh, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan signifikansi 5%.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil rendemen tertinggi produksi eksopolisakarida dalam media semi sintetis diperoleh pada konsentrasi sukrosa 10% dan lama fermentasi 48 jam menghasilkan eksopolisakarida sebesar 17,84 g/L.
2. Hasil karakterisasi EPS terpilih pada analisis kadar total gula diperoleh sebesar 75% dan kadar protein 0,83%. Hasil identifikasi FTIR eksopolisakarida menunjukkan gugus fungsi OH pada bilangan gelombang $3413,99\text{ cm}^{-1}$, CH *stretching* pada $2939,50\text{ cm}^{-1}$, C=O pada $1649,13\text{ cm}^{-1}$, gugus simetri lokal CH₂/C-OH pada $1456,25\text{ cm}^{-1}$, ikatan glikosidik pada $1107,13\text{ cm}^{-1}$, $993,33\text{ cm}^{-1}$, dan ikatan α -glikosidik pada $927,75\text{ cm}^{-1}$.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai variasi pada konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi dengan jarak konsentrasi yang lebih jauh dan waktu fermentasi yang lebih beragam, agar didapatkan hasil EPS optimum yang signifikan.
2. Perlu dilakukan inovasi penambahan TCA pada ekstraksi EPS agar didapatkan hasil kemurnian gula total yang lebih tinggi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada faktor yang memengaruhi produksi eksopolisakarida lainnya seperti variasi suhu, pH, dan konsentrasi inokulum.

DAFTAR PUSTAKA

- Abid, Yousra., Casilo, Angela., Gharsallah, Houda., Joulak, Ichrak., Lanzatta, Rosa., Corsaro, Maria Michela., Attia, Hamida., dan Azabou, Samia. 2017. Production and Structural Characterization of Exopolysaccharides from Newly Isolated Probiotic Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108: 719-728.
- Adriana, MS. Misael, CR. Guillermo, CL. Fernando, OS. Liliana SC. 2021. Optimization of the reproduction of *Weissella ciberia* in a fermentation substrate formulated with agroindustrial waste. *Biotechnology Report*. 32, e00671.
- Adesulu-Dahunsi, 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.
- Albalashmesh, A. A., Asmeret A. B., dan Teamrat A. G. 2013. A New Method for Rapid Determination Of Carbohydrate and Total Carbon Concentration Using UV Spectroscopy. 97, 253-261.
- Amalia, R. D. 2012. Eksplorasi Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Sawi Asin (*Brassica juncea*). *Skripsi*. Universitas Brawijaya Malang.
- Aman, A., Nadir N. S., dan Shah A. U. Q. 2012. Characterization and Potential Application of High Molecular Weight Dextran Produced by *Leuc. mesenteroides* AA1. *Carbohydrate Polymers*. 87, 910-915.
- Anaukwu, C. G., Franklin C. N., Onydeika I. O., Chinyere C. E., Chinedu C. O., Kingsley C. A. dan Etim J. A. 2015. Microbiological Analysis of Burukutu Beverage Produced in southern Part Of Nigeria. *Experimental Biology*. 5 (8) :18 – 22.
- Anindita. 2002. Pembuatan Yakult Kacang Hijau. Kajian Tingkat Pengenceran dan Konsentrasi Sukrosa. *Skripsi*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Azizah, F.R. 2019. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides*. *Skripsi*. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Brummer, Y., dan Cui, W. 2013. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Application. France: Taylor and Francies Group, LLC. Carcho, M., Ferreira, I. C. Food and Chemical Toxicology. 51, 15-25.

- Burdock, G. A., Carabin I. G. 2004. generally recognized as safe (GRAS): history and description. *Toxicology Letters*. 150: 3-18
- 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 Unisersitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Cheng, X., Huang L., Li K. 2019. Antioxidant Activity Changes of Exopolysaccharides with Different Carbon Source from *Lactobacillus plantarum* LPC-1 and Its Metabolomic Analysis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 35:68 hlm. 1-13.
- Da Silva, L. A., Neto J. H. P, L., dan Cardarelli H. R. 2019. Safety and Probiotic Functionality of Isolated Goat Milk Acid Bacteria. *Annals of Microbiology*. 69:1497-1505.
- Dharmik, P., & Narkhede, S. (2020). *Effect of Nitrogen Sources and Sucrose Concentration on Dextran Production by Leuconostoc mesenteroides NRRL-B-512F*. 8(9), 160–162.
- Diana, Bidari M. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Tempoyak. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Dilna, H., Surya, R.G., Aswathy, K.K., Varsha, D.N., Sakthikumar, A., Pandey, K.M., dan Nampoothiri. 2015. Characterization of an Exopolysaccharide with Potential Health-Benefit Properties from a Probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4. *LWT-Food Sci.Technol*. 64(2), 1179–1186.
- Elzeini, H. M., Ali A. A., Nasr N. F., Elenany Y. E., dan Hassan A. A. M. 2020. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from The Intestinal Tracks of Honey Bees, *Apis mellifera*, in Egypt. *Journal of Apicultural Research*. 1-10.
- Fashogbon, R. Oluwayemisi. Adebayo-Tayo, Bukola. Sanusi, Jadesola. Optimization of Extracellular Polysaccharide Substance from Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Dairy Products. *Microbiology Journal*. 11: 1-11.
- Feizabadi, F., Sharifa A., dan Tajabadi N. 2020. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Stored *Apis mellifer* Honey. *Journal of Apicultural Research*. 1-7.
- Ferdiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan. E-Book*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

- Fifendy, M., Eldini dan Indrawati. 2013. Pengaruh Pemanfaatan Molase terhadap Jumlah Mikroba dan Ketebalan Nata pada Teh Kombucha. *Prosiding Seminar Bidang Biologi*. ISBN-978-602-98559-2-0.
- Fitria, A. 2017. Pengaruh Suhu Dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarid dari Tetes Tebu oleh *Lactobacillus plantarum* dan Identifikasi Senyawa Gula Penyusun. *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Franca, A.J. 2009. *Fundamental Principles of Bacteriology*. Kogakusha Company, Ltd. Tokyo. PP812-817.
- Goktepe I, Vijay KJ, & Mohamed A. 2005. *Probiotics in Food Safety and Human Health*. Boca Raton: CRC Press.
- Heperkan, ZS. D. Bolluk, M. Bulbul, S. 2020. Structural analysis and properties of dextran produced by *Weissella confusa* and the effect of different cereals on its rheological characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*. 143: 305-313.
- Hernandez O. D., Lopez S. R., Lozano, L., Wachter R. C., Segovia L., Munguia A. L. 2021. Diversity of *Weissella confusa* in Pozol and Its Carbohydrate Metabolism. *Frontiers in Microbiology*. 12: 629449.
- Hong, T., Yin, J., Nie, S., & Xie, M. (2021). Food Chemistry : X Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis : Progress, challenge and perspective. *Food Chemistry: X*, 12(October), 100168
- Jin, H., Jeong, Y., 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*. (2019) 18.110.
- Joo Seo, B. Bajpai, V. K., Rather, I. A., dan Ha Park, Y. 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 hlm. 282-292.
- Karlinda, N. W. D. 2021. Pengaruh dan Penambahan Jenis dan Konsentrasi Gula terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides* pada Media Air Kelapa. *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Khairunnisa, F. dan Pato, U. 2016. Perbandingan Aktivitas Antibakteri antara *Lactobacillus casei* subs R-68 dan *Lactobacillus casei* komersial 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 Mannoooligosaccharides from Subcritical

Water-Treated Coconut Meal Hydrolysate. *Food and Bioprocess Technology*, 12(7), 1197–1204.

- Koriasih, P., Jannah, S. N., Raharjo, B. 2019. Isolasi bakteri asam laktat dari tape ketan dan potensinya sebagai agen antikapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus*. *NICHE Journal of Tropical Biology*. 2(2): 7-13.
- 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.
- Kumar, Muthusamy., Anandapandian, Kanaphathi Thangavel Kasirajan., dan Parthiban. 2011. Production and Characterization of Exopolysaccharides (EPS) from Biofilm Forming Marine Bacterium. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(2): 259-265.
- Kuswanto, R. K dan Sudarmadji, Slamet. 1989. *Proses Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: UGM.
- Lakra, Avinash Kant., Domli, Latha., Tilwani, Younus Mohd., dan Arul, Venketesan. 2020. Physicochemical and functional characterization of mannan exopolysaccharide from *Weissella confusa* MD1 with bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143: 797-805.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Lewkowski, J. 2001. Synthesis, Chemistry and Application of 5-hydroxymethylfurfural and Its Derivatives. *ARKIVOC*. Hlm. 17-54
- Lin, T. Y., dan Chien, M. F. C. (2007). Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. *Food Chemistry*, 100(4), 1419–1423.
- Lule, V. K., Singh, R., Pophaly, S. D., Poonam, & Tomar, S. K. 2016. Production and structural characterisation of dextran from an indigenous strain of *Leuconostoc mesenteroides* BA08 in Whey. *International Journal of Dairy Technology*, 69(4), 520–531.
- Lutfiah, A. N. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Susu Kambing Saneen. *Skripsi*. Progran Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Maier, R. M. 2009. *Edvironmental Microbioplogy Second Edition*. New Yoyk: Academic Press.
- Malik *et al.* 2008. Skrining Gen Glukosiltransferase (GTF) dan Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida. *Makara Sains*. 12(1): 1-6.
- Mattia, A., dan Merker R. 2008. Regulation of Probiotic Substances as Ingredients in Foods: Premarket Approval or “Generally Recognized as Safe” Notification. *Regulation of Probiotics as Ingredients*. 46(2): 115-118.
- Ma'unatin, A., Harijono, H., Zubaidah, E., Rifa'i, M. 2020. The Isolation of Exopolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacteria from Lontar (*Borassus flabellifer* L.) Sap. *Iranian Journal of Microbiology*. 12:5 hlm. 437-444.
- Ma'unatin, A., Harijono, Zubaidah, E., dan Rifa'i, M. 2022. Dextran Production using *Leuconostoc mesenteroides* Strains Isolated from *Borassus flabellifer* sap. *Biodiversitas*. 23:2 hlm. 1154-1158.
- Melia, S. Ramadhanti, N. Hellyward, J. Purwati, E.2021. Characteristic of lactic acid bacteria isolated from palm sugar from West Sumatra, Indonesia and their potential as a probiotic. *Biodiversitas*. 22(5): 2610-2615.
- Mustikasari, Dhiah. 2014. Manfaat Madu dalam Kajian Hadits dan Perspektif Ilmu Kesehatan. *Skripsi*. Kurusan Tafsir Hadits Fakultas Ushuluddin Institut Agama Islam Negeri Walisongo Semarang.
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., Ragadhita, R. 2019. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopie of Organic Material. *Indonesian Journal of Science & Technology*. 4(1): 97-118.
- Netsopa, Siwames. Niamsanit, Suwanna. Sakloetsakun, Duangkamon. Milintawisaman, Nipa. 2018. Characterization anf Rheogical Behaviour of Dextran from *Weissella confusa* R003. *International Journal of Polymer Science*. Vol. 2018.
- Nouha, K. Hoang, NV. Song, Y. Tyagi, RD. Surampalli, RY. 2015. Characterization of Extracellular Polymeric Substances (Eps) Produced by *Cloacibacterium normanense* Isolated from Wastewater Sludge for Sludge Settling and Dewatering. *Civil &Environmental Engineering*. 5(6): 1-8.
- Nudiyanto, A. dan Elok, Z. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Kimchi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3: 743-748.
- Pavia, D.L., Lampman GM., Kriz GS., dan Vyvyan JR. 2013. *Introduction of Spectroscopy, 5th edition*, Books/Cole Cengage Learning, United State of America.

- Pelezar, M.C., Chan E.C.S. dan Krieg NR. 1993. *Microbiology Concepts and Applications*. Mc Graw-HM, Inc. New York.
- Pinaria, Y.W. Antara, N. S. Putra, G. P. G. Sujaya, I. N. 2016. Characterization of Exopolysaccharide Produced by *Lactobacillus casei* AL15 Isolated from Sap of *Arenga pinnata*. *Journal of Natural Science Research*. 6(22): 1-12.
- Pinaria, Yeanly W. 2017. Karakterisasi dan Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Eksopolisakarida yang Diisolasi dari Nira Aren (*Arenga pinnata* MERR.). Program Studi Doktor (S3) Jurusan Ilmu Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Denpasar.
- Prasetyo`, Bayu Andy. 2014. Perbandingan Mutu Madu Lebah *Apis mellifera* Berdasarkan Kandungan Gula Pereduksi dan Non Pereduksi di Kawasan Karet (*Hevea brasiliensis*) dan Rambutan (*Nepheleum lappaceum*). *Skripsi*. Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
- Presscott, S.C. dan Dunn, G. C. 1990. *Industrial Microbiology Third Edition*. New York: Mc. Graw Hill Book Company.
- Puspita, Lutfiatul Mia. 2019. Makanan Halalan Tayyiban dalam Al-Qur'an Perspektif Al-Qurtubi dan 'Ali Al-Sabuni. *Skripsi*. Program Studi Ilmu Al-Qur'an dan Tafsir Fakultas Ushuluddin dan Filsafat Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.
- Rosca, Irina. Petrovici, A. R. Peptanariu, D. Nicolescu A. 2017. Biosynthesis of dextran by *Weissella confusa* and its *In vitro* functional characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*. BIOMAC-8343: No. 8.
- Sanlibaba, P., Cakmak, GA. 2016. Exopolysaccharide Prroduction by Lactic Acid Bacteria. *Applied Microbiology: open access*. 2(2): 1-5.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah Volume 2*. Jakarta: Lentera Hati.
- Song, J. Jia, YX. Su, Y. Zhang, XY. Tu, LN. Nie, ZQ. Zheng, Y. Wang, M. 2020. Initial Analysis on The Characteristics and Synthesis of Exopolysaccharide from *Sclerotium roflsii* with Different Sugars as Carbon Sources. *Polymers*. 12(348). 1-13.
- Sun, X. 2013. Extraction and in vitro antioxidant activity of exopolysaccharide by *Pleurotus eryngii* SI-02. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44 (4), 1081- 1088.
- Surayot, U., dkk. 2014. Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria: Structural Analysis, Molecular Weight Effect on Immunomodulation. *International Journal of Biological Macromolecules* 68 (2014) 233–240.

- Tallon, R., Bressollier, P., dan Urdaci, M. C. 2003. Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharide Produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Research in Microbiology*, 154: 705-712
- Tayuan, C. 2011. Growth and exopolysaccharide production by *Weissella* sp. from low-cost substitutes for sucrose. *African J. Microbiol. Res.* 5(22): 3693–3701.
- Tayuan, Chintana. Tannock, Gerald W. Rodtong, Sureelack. 2019. Growth and Exopolysaccharide Production by *Weissella* sp. from Low-cost Substitutes for Sucrose. *Advanced Journal of Microbiology Research*. Vol. 13(5).
- Tinzl-Malang, Saskia Katharina. Rast, Peter. Grattepanche, Franck. Sych, Janice. Lacroic, Christophe. 2015. Exopolysaccharides from Co-cultures of *Weissella confusa* 11GU-1 and *Propionibacterium freudenreichii* JS15 Act Sinergically on Wheat Dough and Bread Texture. *International Journal of Food Microbiology*. 1-40.
- Vu. 2009. The Chemistry On Rancidity In Food. *J.C. London- Applied Science Publisher*.
- Widodo, Wahyuningsih, T.D., Nurrochmad, A., Wahyuni, E., Taufiq, T.T., Anindita, N.S., dkk. 2019. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- 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 I-solated from Thai Fermented Sausages. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 32 (1), 27-35.
- Yuliana, Neti. 2008. Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2).
- Zahro, Fatimatus. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi markisa Ungu sebagai Penghasil Eksopolisakarida. *Skripsi*. Jurusan Biologi fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Zhao, Dan, Liu, Lina, Jiang, Jing, Guo, Shangxu, Ping, Wexiang, dan Ge, Jingping 2020. The Response Surface Optimization of Exopolysaccharide Produced by *Weissella confusa* XG-3 and Its Rheological Property. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 178609.

Zhao, D. Jiang, J. Liu, L. Wang, S. Ping, W. Ge, J. 2021. Characterization of exopolysaccharides produced by *Weissella confusa* XG-3 and their potential biotechnological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 178: 306-315.