

**PENGARUH JENIS SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA MENGGUNAKAN MEDIA AIR
KELAPA OLEH *Weissella confusa* K2**

SKRIPSI

**oleh:
RIA DWI OKTAVIANTI
NIM. 19630084**



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

**PENGARUH JENIS SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI EKSPOLISAKARIDA MENGGUNAKAN MEDIA AIR
KELAPA OLEH *Weissella confusa* K2**

SKRIPSI

**Oleh:
RIA DWI OKTAVIANTI
NIM. 19630084**

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

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

**PENGARUH JENIS SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI EKSOPOLISAKARIDA PADA MEDIA AIR KELAPA OLEH
Weissella confusa K2**

SKRIPSI

**Oleh:
Ria Dwi Oktavianti
NIM.19630084**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 12 Desember 2023**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Rifatul Mahmudah, M.Si
NIP. 19830125 202321 2 020**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia**



**Rachmanawan Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**PENGARUH JENIS SUKROSA DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI EKSOPOLISAKARIDA PADA MEDIA AIR KELAPA OLEH**
Weissella confusa K2

SKRIPSI

Oleh:
RIA DWI OKTAVIANTI
NIM. 19630084

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 18 Desember 2023

Penguji Utama : Himmatul Barroroh, M.Si
NIP. 19750730 200312 2 001

Ketua Penguji : Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech
LB. 63033

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

Anggota Penguji : Rifatul Mahmudah, M.Si
NIP. 19830125 202321 2 020

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi


Rachman Nur Hafid, M.Si
NIP. 19810311 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ria Dwi Oktavianti
NIM : 19630084
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Jenis Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida menggunakan Media Air Kelapa oleh *Weissella confusa* K2

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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 sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 20 Desember 2023
Yang membuat pernyataan,



Ria Dwi Oktavianti
NIM. 19630084

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirabbil 'aalamiin

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas semua nikmat karunia yang telah diberikan, sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.

Tugas akhir ini penulis persembahkan,

Untuk kedua orang tua tercinta, Bapak Djuri dan Ibu Siti Rochayah yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, serta senantiasa memberikan nasihat dan kasih sayang yang amat besar. Dan untuk (Alm.) Kakak David Willianto yang sudah meninggal ketika penulis masih menempuh studi semester 3, terima kasih atas segala inspirasi yang diberikan semasa hidup. Semoga selalu bangga dengan pencapaian adiknya, dan ikut tersenyum di atas langit sana.

Untuk semua dosen serta laboran di Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah membimbing dan memberikan ilmu, wawasan, dan pengalaman kepada penulis. Penulis mengucapkan banyak terima kasih terutama untuk Ibu Dr. Anik Ma'unatin, S.T, M.P dan Ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si yang sudah membimbing penulis dalam menyelesaikan naskah skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Himmatul Barroroh, M.Si dan ibu Fadilah Nor Laili Lutfia, M. Biotech selaku penguji yang sabar memberikan banyak saran dan arahan. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan.

Untuk diri sendiri yang telah mau dan mampu bertahan, berjuang dan selalu berusaha melawan segala rasa takut, insecure, atau bahkan mood yang tidak tentu selama proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih diri, terima kasih sudah melalui proses yang luar biasa. Terima kasih sudah mau bangkit. Terima kasih sudah bertahan sejauh ini.

Untuk semua teman-teman kimia angkatan 2019, semua rekan laboratorium biokimia, terutama team riset eksopolisakarida, Novalia Wahyu Try Setya Putri, Fikrotus Saniyyah dan Mey Dwi Thousand P., terima kasih atas motivasi, kebersamaan, semangat serta dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi ini.

Untuk sahabat tersayang, Laila Nur Maghfiroh dan Izza Aulia Michellia Alba, terima kasih atas segala bantuan, doa, dan dukungan selama ini. Dan untuk Rizha Husnur Roziqin tersayang, seseorang yang selalu membersamai penulis, terima kasih telah mendengarkan keluh kesah, menjadi support system dan selalu memberikan motivasi saat melewati hari-hari yang tidak mudah selama pengerjaan skripsi.

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.

(Q.S Al-Insyirah:6)

Berpikirlah besar, mulailah kecil, tumbuhlah seiring waktu.

-Unknown

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul **“Pengaruh Jenis Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida menggunakan Media Air Kelapa oleh *Weissella confusa* K2”**. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, kepada para sahabat, keluarga serta seluruh umat yang mengikuti Beliau hingga akhir zaman. Penyusunan tugas akhir ini tidak akan terlaksana tanpa adanya bantuan dan dukungan dari beberapa pihak. Untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya, khususnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. 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 Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P dan Ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si selaku dosen pembimbing, Ibu Himmatul Barroroh, M.Si dan Ibu Fadilah Nor Laili Lutfia, M. Biotech selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak arahan, masukan serta motivasi kepada penulis untuk dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.
5. Orang tua tercinta, serta keluarga besar yang selalu memberi dukungan baik secara moril maupun materiil

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tugas akhir ini. Akhir kata, penulis sangat berharap semoga tugas akhir ini bermanfaat bagi para pembaca.

Malang, 12 Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT.....	xv
ملخص البحث	xvi
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 8
2.1 Air Kelapa.....	8
2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)	9
2.3 <i>Weissella confusa</i>	13
2.4 Eksopolisakarida.....	14
2.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Produksi Eksopolisakarida	18
2.6 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol	25
2.7 <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FTIR)	26
 BAB III METODE PENELITIAN	 30
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	30
3.2 Alat dan Bahan	30
3.2.1 Alat.....	30
3.2.2 Bahan	30
3.3 Rancangan Penelitian.....	31
3.4 Tahapan Penelitian.....	32
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	33
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	33
3.5.2 Preparasi Air Kelapa	33
3.5.3 Pembuatan Media.....	34
3.5.3.1 Pembuatan MRSA (<i>de Man Rogosa and Sharpe Agar</i>)	34
3.5.3.2 Pembuatan MRSB (<i>de Man Rogosa and Sharpe Broth</i>)	34

3.5.4 Regenerasi <i>Weissella confusa</i> K2	34
3.5.5 Pembuatan Inokulum	35
3.5.6 Pengaruh Jenis Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Air Kelapa	35
3.5.7 Ekstraksi Eksopolisakarida dari Media Fermentasi Air Kelapa	36
3.5.8 Uji Kadar Total Gula dengan Metode Sulfat-Fenol.....	36
3.5.8.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa dengan Metode Sulfat-Fenol	36
3.5.8.2 Menghitung Total Gula Eksopolisakarida dengan Metode Sulfat-Fenol	37
3.5.9 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida menggunakan Spektrofotometer FTIR	37
3.5.10 Analisis Data.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Preparasi Air Kelapa.....	39
4.2 Pembuatan <i>de Man Rogosa Sharpe</i> Agar (MRSA) dan <i>de Man</i> <i>Rogosa and Sharpe Broth</i> (MRSB)	40
4.3 Regenerasi Bakteri <i>Weissella confusa</i> K2	42
4.4 Pembuatan Inokulum <i>Weissella confusa</i> K2	43
4.5 Pengaruh Jenis Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi EPS dari Air Kelapa	44
4.6 Analisis Kadar Gula Total Eksopolisakarida.....	49
4.7 Identifikasi Gugus Fungsi EPS menggunakan Spektrofotometer FTIR	51
4.8 Dialog Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	54
BAB V PENUTUP.....	57
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Spesifikasi <i>Sucrose Phytotech</i> (PhytoTech Labs Inc., United States)	22
Tabel 2.2 Persyaratan <i>Gula Kristal Putih</i> (GKP) sesuai Standar Nasional Indonesia	24
Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan antara jenis sukrosa dan lama fermentasi	31
Tabel 4.1 Rata-rata Rendemen EPS	46
Tabel 4.2 Hasil Uji BNJ lama fermentasi terhadap rendemen EPS	48
Tabel 4.3 Rata-rata kadar gula total EPS	50
Tabel 4.4 Spektra FTIR EPS dari <i>Weissella confusa</i> K2	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kelapa tua.....	9
Gambar 2.2 <i>Weissella confusa</i>	13
Gambar 2.3 Struktur dekstran	15
Gambar 2.4 Struktur gellan	16
Gambar 2.5 Struktur curdlan.....	17
Gambar 2.6 Struktur xanthan	18
Gambar 2.7 Struktur pullulan.....	18
Gambar 2.8 <i>Sucrose Phytotech</i> (PhytoTech Labs Inc., United States)	22
Gambar 2.9 Gula Pasir “ <i>Happysweet</i> ”	23
Gambar 2.10 Reaksi penentuan kadar gula total metode sulfat-fenol	26
Gambar 2.11 Spektroskopi FTIR	27
Gambar 2.12 Spektrum FTIR EPS dari <i>Weissella confusa</i> C19	28
Gambar 4.1 Air Kelapa segar.....	39
Gambar 4.2 Hasil regenerasi <i>Weissella confusa</i> K2	43
Gambar 4.3 Reaksi TCA dengan protein	46
Gambar 4.4 EPS yang dihasilkan oleh bakteri <i>Weissella confusa</i> K2	47
Gambar 4.6 Spektra FTIR EPS dari <i>Weissella confusa</i> K2	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Rancangan Penelitian	65
Lampiran 2: Diagram Alir.....	66
Lampiran 3: Perhitungan.....	72
Lampiran 4: Hasil analisis SPSS.....	83
Lampiran 5: Dokumentasi Penelitian.....	86

ABSTRAK

Oktavianti, Ria Dwi. 2023. **Pengaruh Jenis Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida menggunakan Media Air Kelapa oleh *Weissella confusa* K2**. Skripsi. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing I: Anik Maunatin, S.T, M.P. Dosen Pembimbing II: Rif'atul Mahmudah, M.Si

Kata kunci: Air Kelapa, Eksopolisakarida, *Fourier Transform Infrared* (FTIR), Sukrosa, *Weissella confusa* K2

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polimer polisakarida yang diperoleh dari hasil sekresi keluar sel oleh mikroba. *Weissella confusa* K2 adalah salah satu bakteri asam laktat (BAL) yang mampu menghasilkan EPS dalam jumlah tinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis sukrosa dan lama fermentasi menggunakan media air kelapa terhadap produksi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* K2 serta identifikasi gugus fungsi dari EPS yang terpilih menggunakan FTIR.

Produksi EPS menggunakan air kelapa sebagai media fermentasi. Digunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial dua variabel, yaitu jenis sukrosa, terdiri atas sukrosa PA dan gula pasir komersial, dan lama fermentasi yaitu 24, 48, dan 72 jam. EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* K2 dihitung rendemennya. EPS terpilih dianalisis kadar gula total menggunakan metode sulfat-fenol dan dianalisis gugus fungsinya menggunakan FTIR. Data rendemen yang diperoleh dianalisis *Two Way* ANOVA (α 0,05) menggunakan SPSS Statistics 25.

Uji statistik menunjukkan tidak ada beda nyata pada interaksi jenis sukrosa dan lama fermentasi ($\text{sig} > 0,05$). Lama fermentasi menunjukkan beda nyata ($\text{sig} < 0,05$), sedangkan jenis sukrosa tidak menunjukkan beda nyata terhadap rendemen EPS ($\text{sig} > 0,05$). Rendemen EPS tertinggi yaitu 25,19 g/L yang diperoleh pada penambahan sukrosa PA 10% dan lama fermentasi 72 jam dan hasil uji total gula dengan metode sulfat-fenol menunjukkan kadar gula total sebesar 78,3%. Hasil analisis gugus fungsi menggunakan FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi khas EPS yaitu O-H, C-H, C=O, C=C, C-O-C, dan α -1,6 glikosidik pada panjang gelombang masing-masing yaitu 3268,9 cm^{-1} , 3267,5 cm^{-1} , 2924,1 cm^{-1} , 2916,6 cm^{-1} , 1653,1 cm^{-1} , 1420,1 cm^{-1} , 1146,2 cm^{-1} , 1148,0, dan 1079,1 cm^{-1} , 1077,2 cm^{-1} . Gugus N-H pada panjang gelombang 1653,1 cm^{-1} menunjukkan masih adanya protein dalam EPS yang diperoleh.

ABSTRACT

Oktavianti, Ria Dwi. 2023. **The Effect of Sucrose Type and Fermentation Time on Exopolysaccharides Production using Coconut Water by *Weissella confusa* K2**. Thesis. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I: Anik Maunatin, S.T., M.P. Supervisor II: Rif'atul Mahmudah, M.Si

Keyword: Coconut water, Exopolysaccharides, *Fourier Transform Infrared* (FTIR), Sucrose, *Weissella confusa* K2.

Exopolysaccharides (EPS) are a type of polysaccharide polymer obtained from the extracellular secretion of microbes. *Weissella confusa* K2 is one of the lactic acid bacteria (LAB) capable of producing EPS in substantial amounts. The objective of this study is to determine the influence of sucrose types and fermentation duration in coconut water media on the production of EPS by *Weissella confusa* K2, as well as to identify the functional groups present in the selected EPS using FTIR.

The production of EPS utilizes coconut water as a fermentation medium. A Randomized Complete Block Design (RCBD) with a factorial pattern of two variables is employed: the types of sucrose, comprising PA sucrose and commercial granulated sugar, and fermentation durations: 24, 48, and 72 hours. The yield of EPS produced by *Weissella confusa* K2 is calculated. The selected EPS is analyzed for total sugar content using the sulfat-phenol method and for its functional groups using FTIR. Yield data obtained is analyzed through Two-Way ANOVA (α 0.05) using SPSS Statistics 25.

Statistical analysis indicates no significant difference in the interaction between sucrose types and fermentation duration ($\text{sig} > 0.05$). Fermentation duration shows a significant difference ($\text{sig} < 0.05$), whereas sucrose types do not exhibit a significant difference in EPS yield ($\text{sig} > 0.05$). The highest EPS yield obtained is 25.19 g/L, achieved with the addition of 10% PA sucrose and a fermentation duration of 72 hours. The total sugar content analysis using the sulfat-phenol method shows a total sugar content of 78.3%. Analysis of functional groups using FTIR demonstrates the presence of specific EPS functional groups, including O-H, C-H, C=O, C=C, C-O-C, and α -1,6 glycosidic, at respective wavelengths of 3268.9 cm^{-1} , 3267.5 cm^{-1} , 2924.1 cm^{-1} , 2916.6 cm^{-1} , 1653.1 cm^{-1} , 1420.1 cm^{-1} , 1146.2 cm^{-1} , 1148.0 cm^{-1} , and 1079.1 cm^{-1} , 1077.2 cm^{-1} . The N-H group at a wavelength of 1653.1 cm^{-1} indicates the presence of protein in the obtained EPS.

ملخص البحث

أوكتافينتي، ريبيا ديوي. ٢٠٢٣. تأثير نوع السكرز ومدة التخمير على إنتاج عديد السكاريد الخارجي في وسائط ماء جوز الهند بواسطة ويسيلا الخلط بين K2. بحث جامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية، مالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة أنيك ماؤنة، الماجستير. المشرفة الثانية: رفعة المحمود، الماجستير

الكلمات الرئيسية: عديد السكاريد الخارجي (EPS)، ويسيلا الخلط بين K2، ماء جوز الهند، السكرز، تحويل فورييه بالأشعة تحت الحمراء (FTIR)

عديد السكاريد الخارجي (EPS) هو بوليمر متعدد السكاريد يتم الحصول عليه من إفراز الخلايا بواسطة الميكروبات. ويسيلا الخلط بين K2 هي واحدة من بكتيريا حمض اللاكتيك (BAL) القادرة على إنتاج كميات عالية من EPS. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير نوع السكرز ووقت التخمير على وسائط ماء جوز الهند على إنتاج EPS التي تنتجها ويسيلا الخلط بين والمجموعات الوظيفية ل EPS المختارة باستخدام FTIR. إن إنتاج EPS يستخدم ماء جوز الهند كوسط للتخمير. يتم استخدام تصميم القطع العشوائي الكامل (RCBD) بنمط عاملين: أنواع السكرز، التي تتضمن سكرز PA وسكر مجروش تجاري، ومدد التخمير: ٢٤، ٤٨، و ٧٢ ساعة. يتم حساب إنتاج EPS الذي يتم إنتاجه بواسطة ويسيلا الخلط بين K2. يتم تحليل EPS المختار لمحتواه الكلي من السكر باستخدام طريقة السلفات-الفينول وللمجموعات الوظيفية باستخدام FTIR. يتم تحليل بيانات الإنتاج من خلال ANOVA ذات الاتجاهين (٠،٠٥) باستخدام SPSS Statistics 25. أظهر الاختبار الإحصائي عدم وجود فرق ذو دلالة في تأثير إضافة أنواع مختلفة من السكرز بقيمة $0.005 < 0.721$. ومع ذلك، أظهرت مدة التخمير فرقاً ملحوظاً في إنتاجية حاصل EPS بقيمة $0.002 < 0.005$. لوحظ أعلى حاصل لإنتاج EPS مع إضافة ١٠٪ من سكرز PA ومدة تخمير تبلغ ٧٢ ساعة، بمقدار ٢٥،١٩ جم/لتر. كشف تحليل السكر الكلي باستخدام طريقة الفينول الكبريتي أن الـ EPS المحصل عليه من إضافة ١٠٪ من السكرز مع مدة تخمير ٧٢ ساعة كان يحتوي على محتوى سكري كلي يبلغ ٧٨،٣٪. أظهر تحليل المجموعات الوظيفية باستخدام FTIR وجود مجموعات وظيفية نموذجية لـ EPS، O-H، C-H، C=O، C=C، C-O-C، و-١،٦α جليكوسيديك، عند طول موجي مناسب يبلغ ٣٢٦٨،٩ سم^{-١}، ٣٢٦٧،٥ سم^{-١}، ٢٩٢٤،١ سم^{-١}، ٢٩١٦،٦ سم^{-١}، ١٦٥٣،١ سم^{-١}، ١٤٢٠،١ سم^{-١}، ١١٤٦،٢ سم^{-١}، ١١٦٨،٠ سم^{-١}، و ١٠٧٩،١ سم^{-١}، ١٠٧٧،٢ سم^{-١}. المجموعة N-H عند طول الموجة ١٦٥٣،١ سم^{-١} تشير إلى وجود البروتينات في EPS المحصل عليه.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polimer polisakarida yang diperoleh dari hasil sekresi keluar sel oleh mikroba (Nurhasanah, 2020). EPS telah lama dilaporkan memiliki potensi untuk aplikasi di bidang industri farmasi, kesehatan dan pangan. Dalam makanan, EPS mempunyai manfaat sebagai stabilisator, pengental, emulgator, pembentuk gel, dan memiliki kemampuan mengikat air yang baik sehingga dapat mempertahankan tekstur agar tetap lembut selama penyimpanan. Beberapa EPS yang telah banyak digunakan dalam bidang kesehatan yaitu β -glukan, β -mannan, xanthan, curdlan, gellan dan dekstran (Malik dkk., 2008). Karena EPS yang dihasilkan mikroorganisme memiliki sifat fisiko-kimianya mirip dengan polisakarida dari tanaman (selulosa, pektin, pati) dan rumput laut (alginat dan karagenan) sehingga banyak digunakan pada industri (Nurhasanah, 2020). EPS telah terbukti sebagai bahan tambahan makanan dan juga bermanfaat sebagai agen antikarsinogenik, antitumor, penurun kolesterol, dan imunomodulator (Mundiri, 2020).

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan salah satu bakteri yang mampu menghasilkan EPS (Zubaidah, 2008). Kemampuan bakteri asam laktat untuk menghasilkan eksopolisakarida rantai panjang atau polisakarida ekstraseluler (EPS) telah banyak dilaporkan (Imran dkk., 2016). Beberapa EPS yang dihasilkan oleh BAL digunakan dalam perawatan kesehatan dan produksi makanan (Malik dkk., 2008). EPS yang berasal dari BAL memiliki dampak fungsional pada makanan, yaitu meningkatkan reologi produk susu fermentasi, dan memberikan efek

kesehatan yang bermanfaat (Afiati, 2015). Selain itu juga berperan sebagai penambah rasa dan tekstur. Secara khusus, EPS BAL memiliki aktivitas imunostimulan, dapat meningkatkan kolonisasi saluran pencernaan oleh bakteri probiotik, dan juga bertindak sebagai antioksidan (Polak *et al.*, 2013). EPS yang diperoleh dari BAL memiliki resiko toksisitas yang rendah, sehingga dapat digunakan pada makanan karena EPS aman untuk dikonsumsi manusia. EPS asal BAL telah dipelajari secara luas dalam berbagai aplikasi seperti pada produk makanan, pengemulsi kimia dan biologis (Li *et al.*, 2020). Beberapa faktor yang mempengaruhi produksi EPS diantaranya adalah suhu, konsentrasi penambahan sukrosa, konsentrasi substrat, konsentrasi inokulum lama fermentasi (Azizah, 2019) dan jenis bakteri (Nurhasanah dkk., 2020). Hasil produksi EPS dapat dipengaruhi oleh jenis bakteri karena setiap bakteri memiliki kemampuan proses metabolisme yang berbeda, sehingga jumlah metabolit yang diproduksi berbeda (Zahro, 2014).

Air kelapa merupakan salah satu bagian dari tanaman kelapa yang sangat bermanfaat. Menurut Prastowo (2008) air kelapa mengandung nutrisi yang kompleks seperti gula, natrium, kalium, kalsium, magnesium, besi, dan tembaga sehingga cocok sebagai media untuk produksi EPS. Tersedianya air kelapa di Indonesia dalam jumlah besar, yaitu berdasarkan laporan Statistik Perkebunan Indonesia pada tahun 2015-2017 yang diterbitkan oleh Direktorat Jenderal Perkebunan dan Kementerian Pertanian Indonesia, jumlah rata-rata air kelapa sebesar 600 juta liter merupakan potensi yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Air kelapa banyak dibuang langsung ke lingkungan sebagai limbah rumah tangga, limbah pasar dan limbah industri (Widayati dkk., 2002). Air kelapa apabila tidak dimanfaatkan dengan baik dapat mencemari lingkungan karena cepat

berubah menjadi asam dan berbau menyengat. Mengingat kandungan nutrisi air kelapa yang tinggi maka dapat digunakan sebagai media alternatif dalam produksi EPS oleh BAL.

Produksi EPS biasanya menggunakan sumber nitrogen yaitu *yeast extract*, *peptone*, dan *beef extract*. Jenis nutrisi ini merupakan komponen yang relatif mahal sehingga dalam upaya mengurangi biaya produksi EPS digunakan media alternatif air kelapa yang lebih murah (Seesuriyachan *et al.*, 2011). Air kelapa adalah cairan jernih di dalam kelapa muda yang mengandung nutrisi dan memiliki manfaat terapeutik yang tinggi (Tih *et al.*, 2017). Air kelapa mengandung gula, protein, asam amino, vitamin dan mineral yang cocok digunakan sebagai bahan dasar fermentasi (Saraswati, 2014).

Weissella confusa merupakan salah satu bakteri asam laktat (BAL) yang dapat menghasilkan EPS dalam jumlah yang tinggi. Sukrosa merupakan sumber karbon yang baik untuk produksi EPS oleh *Weissella confusa* jika dibandingkan dengan gula yang lain yaitu glukosa, fruktosa dan galaktosa (Wongsuphachat *et al.*, 2010). Sukrosa yang banyak digunakan pada penelitian sebelumnya adalah sukrosa PA, yang harganya relatif mahal. Penelitian Tayuan (2021), melaporkan hasil produksi EPS oleh *Weissella* sp. yang diperoleh pada penambahan sukrosa PA 5% yaitu 8,65 g/L. Penelitian Khoirumiyah (2023), melaporkan hasil produksi EPS oleh *Weissella confusa* K2 menggunakan media MRSB yang diperoleh pada penambahan sukrosa PA 10% yaitu 47,7 g/L.

Lama fermentasi merupakan salah satu faktor penting pada produksi EPS. Hasil penelitian Kaviatake *et al.*, (2016) *Weissella confusa* KR780676 menghasilkan rendemen sebesar 17,2 g/L dengan lama fermentasi 48 jam.

Penelitian Jin *et al.*, (2019), melaporkan hasil produksi EPS oleh *Weissella confusa* VP30 menggunakan media MRSB dengan lama fermentasi 48 jam yaitu 59,99 g/L. Serta penelitian Rahmah (2023), melaporkan hasil produksi EPS oleh *Weissella confusa* menggunakan media MRSB dengan lama fermentasi 48 dan 72 jam masing masing yaitu 17,84 dan 15,14 g/L. Variasi lama fermentasi yang banyak dilakukan pada penelitian terdahulu banyak menggunakan lama fermentasi 24 dan 48 jam. Pada penelitian ini variasi lama fermentasi yang dilakukan yaitu 24, 48 dan 72 jam.

Al-Qur'an merupakan pedoman hidup bagi seluruh umat islam di dunia. Didalamnya dijelaskan bahwa segala hal atau sesuatu yang diciptakan Allah SWT pasti memiliki manfaat, tidak ada yang sia-sia. Dalam surah Shaad ayat 27 Allah SWT berfirman:

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

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. (QS. Shaad:27)".

Dalam tafsir al-Qurthubi (2009) ayat diatas menyebutkan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT yang ada di langit dan bumi ini bukanlah tanpa tujuan, melainkan untuk memudahkan kehidupan para manusia. Semua yang diciptakan memberikan manfaat, tidak ada yang sia-sia. Sesuatu yang terdapat baik di permukaan maupun yang terkandung dalam perut bumi merupakan campuran tangan Allah SWT. Namun tidak semua manfaat itu dapat dirasakan secara langsung, melainkan harus melalui pengolahan akal fikir manusia terlebih dahulu.

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan, dapat diketahui bahwa lama fermentasi merupakan faktor penting pada produksi EPS dan jenis sukrosa yang

banyak digunakan untuk produksi EPS oleh *Weissella confusa* K2 adalah sukrosa PA. Dua jenis sukrosa yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sukrosa PA (Pro Analysis) dan gula pasir komersial dengan konsentrasi sebesar 10%, dengan harapan dapat menghasilkan EPS yang lebih besar. Perbedaan utama antara gula PA dan gula pasir terletak pada proses pengolahan, kemurnian, dan penggunaan khusus dalam konteks laboratorium atau industri dibandingkan dengan penggunaan sehari-hari. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui potensi produksi EPS oleh *Weissella confusa* K2 menggunakan variasi jenis sukrosa dan lama fermentasi. Media alternatif yang dipilih dalam penelitian ini adalah air kelapa karena murah namun masih mengandung nutrisi tinggi yang diperlukan oleh BAL. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan EPS dalam jumlah yang tinggi dan biaya produksi yang relatif rendah. Pada penelitian Khoirumiyah (2023), analisis gugus fungsi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* K2 menggunakan media MRSB menunjukkan serapan gugus khas dekstran. Sehingga pada penelitian ini identifikasi profil gugus fungsi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* K2 menggunakan media air kelapa dengan menggunakan FTIR penting dilakukan untuk mendapatkan gambaran umum jenis EPS yang dihasilkan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh jenis sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi EPS menggunakan media air kelapa oleh *Weissella confusa* K2?
2. Bagaimana profil gugus fungsi EPS terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* K2 menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh jenis sukrosa dan lama fermentasi terhadap rendemen hasil produksi EPS menggunakan media air kelapa oleh *Weissella confusa* K2.
2. Untuk mengetahui profil gugus fungsi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* K2 dengan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

1.4 Batasan Masalah

1. Air kelapa tua yang digunakan didapat dari Pasar Dinoyo, Kec. Lowokwaru, Kota Malang.
2. Bakteri yang digunakan untuk produksi EPS adalah *Weissella confusa* K2 yang merupakan hasil isolasi buah kelengkeng pada penelitian sebelumnya.
3. Jenis sukrosa yang digunakan adalah sukrosa PA (*Pro Analysis*) merk “*Sucrose Phytotech*” dan gula pasir komersial dengan merk “*Happysweet*” dengan konsentrasi 10%.
4. Variasi lama fermentasi yaitu 24, 48 dan 72 jam.
5. Identifikasi profil gugus fungsi EPS terpilih (rendemen tertinggi) menggunakan instrumen *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh jenis sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi EPS menggunakan media air kelapa oleh *Weissella confusa* K2 dan dapat digunakan sebagai acuan

produksi EPS dengan skala yang lebih besar. Hasil analisis EPS dengan menggunakan spektrofotometer FTIR diharapkan dapat memberikan gambaran umum jenis EPS yang dihasilkan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Kelapa

Air kelapa adalah salah satu bagian dari pohon kelapa yang merupakan buah tropis yang cukup berlimpah di Indonesia. Air kelapa mempunyai potensi yang baik untuk dijadikan minuman fermentasi karena kandungan gizinya (Yanuar, 2015). Beberapa kandungan yang dimiliki air kelapa yaitu gula, protein, dan lemak sehingga sangat baik untuk pertumbuhan bakteri penghasil produk pangan (Utami, 2008).

Vigliair *et al.*, (2006) menyebutkan bahwa air kelapa memiliki kandungan nutrisi di dalamnya 4% karbohidrat, 0.1% lemak, 0.02% kalsium, 0.01% fosfor, 0.5% besi serta total protein (9 g/L), vitamin C, vitamin B kompleks dan garam-garam mineral. Air kelapa tua mengandung air sebanyak 91,23%, protein 0,29%, lemak 0,15%, karbohidrat 7,27% dan abu 1,06% (Putri, 2019). Kandungan mineral kalium pada air kelapa juga sangat tinggi yaitu 203,70 mg/100 g pada air kelapa muda dan 257,52 mg/100 g air kelapa tua (Santoso, 2003).

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



Gambar 2.1 Kelapa tua

2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan jenis bakteri Gram negatif, tidak membentuk spora, dan berbentuk *coccus*, *coccobacilli* atau basil (Rembulan, 2015). Bakteri-bakteri ini mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, dan beberapa hasil metabolisme berupa asam-asam organik yang bermanfaat bagi kesehatan yang dihasilkan dari fermentasi karbohidrat (Indriyati, 2010; Bawole, *et al.*, 2018).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang menguntungkan. Bakteri asam laktat ini merupakan kekayaan alam mikroba yang masih harus dieksplorasi. Secara ekologis kelompok bakteri ini sangat bervariasi dan anggota spesiesnya dapat mendominasi bermacam-macam makanan, minuman dan lain-lain (Yuni, 2013). BAL termasuk dalam kelompok bakteri yang memenuhi status GRAS (*Generally Recognized as Safe*), yaitu bakteri baik yang aman bagi manusia. Status GRAS diberikan oleh Badan Pengawas Makanan dan Obat-obatan Amerika Serikat (FDA) kepada bahan-bahan makanan yang telah terbukti aman secara historis atau telah melewati penilaian keselamatan yang ketat.

Bakteri asam laktat, jika dipertimbangkan GRAS, berarti telah memiliki riwayat penggunaan yang luas dalam makanan dan telah terbukti aman untuk dikonsumsi manusia dalam jumlah yang wajar. Bakteri asam laktat berkontribusi besar memberikan manfaat fungsional bagi tubuh manusia sebagai bakteri probiotik (Halim dan Zubaidah, 2013). Bakteri-bakteri ini ada yang dapat dikembangkan menjadi probiotik. Bakteri probiotik merupakan BAL yang hidup di dalam usus, bersimbiosis dengan mikroflora usus yang mampu melawan bakteri patogen di dalam usus, oleh karena itu pemberian probiotik dapat berpengaruh menguntungkan bagi kesehatan (Agus, 2016).

BAL merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora dan memiliki suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Pada umumnya nonmotil karena kemampuan biosintesisnya sangat terbatas, bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif. BAL memiliki beberapa sifat khusus, antarlain; mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Fardiaz, 1989).

a. Bakteri Gram positif

Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif karena tidak mengalami dekolorisasi dan tetap mengikat warna ungu kristal violet pada tahap akhir pewarnaan. Bakteri Gram positif seperti bakteri asam laktat memiliki penghambatan lebih besar pada bakteri gram negatif karena pertumbuhan bakteri asam laktat yang menghasilkan senyawa atau metabolit seperti asam laktat yang meningkatkan keasaman lingkungan pertumbuhan dan terbentuknya bakteriosin sehingga bakteri asam laktat dapat digunakan sebagai antimikroba (Wibowo, 1988).

b. Bakteri endospora negatif (tidak memiliki endospora)

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak membentuk spora atau endospora negatif, sehingga ketika dilakukan pewarnaan endospora, yang tampak adalah sel vegetatif yang menghasilkan warna merah muda pada akhir tahap pewarnaan (Axelsson, 2004). Pada pernyataan Fardiaz (1992) menambahkan bahwa pada pewarnaan endospora, endospora akan terlihat pada mikroskop dengan bentuk bulatan-bulatan berwarna hijau.

c. Bakteri katalase negatif

Bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida (Wibowo, 1988). Bakteri asam laktat dapat tumbuh sama baiknya di lingkungan yang memiliki dan tidak memiliki O_2 (tidak sensitif terhadap O_2), sehingga termasuk aerob toleran.

d. Bakteri non motil

Bakteri asam laktat bersifat non motil, bakteri probiotik memiliki kemampuan biosintesis yang sangat terbatas, sehingga bersifat non motil dan perolehan energinya semata-mata hanya bergantung pada metabolisme secara fermentatif. Oleh karena isolat tersebut bersifat non motil, maka dapat dinyatakan bahwa bakteri tersebut tidak mempunyai flagella sebagai organ untuk bergerak (Purwohadisantoso, 2009).

e. BAL homofermentatif dan heterofermentatif

Bakteri asam laktat terbagi menjadi dua jenis, yaitu homofermentatif (sebagian besar hasil akhir merupakan asam laktat) dan heterofermentatif (hasil akhir berupa asam laktat, asam asetat, etanol dan CO_2). Secara

garis besar, keduanya memiliki kesamaan dalam mekanisme pembentukan asam laktat, yaitu piruvat akan diubah menjadi laktat (atau asam laktat) dan diikuti dengan proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD^+ . Pola fermentasi ini dapat dibedakan dengan mengetahui keberadaan enzim-enzim yang berperan di dalam jalur metabolisme glikolisis (Fardiaz, 1989). Kelompok homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi gula, sedangkan kelompok heterofermentatif menghasilkan asam laktat dan senyawa lain yaitu CO_2 , etanol, asetaldehid, diasetil, serta senyawa lainnya (Irianto, 2006).

Makhluk Allah SWT yang terkecil dijelaskan dalam surat Yunus ayat 61:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ 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

Artinya: "Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarrah (atom) di bumi ataupun di langit. Tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh). (QS. Yunus: 61)".

Menurut Shihab, (2002) pada ayat tersebut, kata "*Dzarrah*" dipahami oleh ulama dalam berbagai arti, antara lain semut yang sangat kecil bahkan kepala semut, atau debu yang beterbangan yang hanya terlihat di celah cahaya matahari. Sementara orang dewasa ini memahaminya dalam arti atom. Hal tersebut demikian menunjukkan bahwa kata "*Dzarrah*" memiliki arti sebagai wujud substansi yang memiliki ukuran paling kecil.

2.3 *Weissella confusa*

Weissella merupakan bakteri Gram positif dengan uji katalasenya negatif dan bentuk sel coccobacillus, yang dapat diisolasi dari berbagai habitat seperti tanah, sayuran segar, bahan pangan terfermentasi, daging dan sebagainya (Vela *et al.*, 2003). Pada awalnya *Weissella* digolongkan sebagai *Leuconostoc* atau *Lactobacillus*, namun direklarifikasi sebagai *Weissella* pada tahun 1993 (Collins *et al.*, 1993).



Gambar 2.2 *Weissella confusa*

Weissella confusa memiliki persebaran di beragam lingkungan. *Weissella confusa* telah diisolasi dari berbagai bahan makanan seperti susu, jus wortel, tebu, daging fermentasi, makanan karbohidrat kaya asam, bawang putih dan daun pisang (Kandler & Weiss, 1894; Paludan-Muller *et al.*, 1999). Selain itu juga telah diisolasi dari kotoran manusia dan strain mikro dari usus manusia (Walter *et al.*, 2001). Berdasarkan *Taxonomic Outline of the Prokaryotes*, *Weissella confusa* diklasifikasikan sebagai berikut:

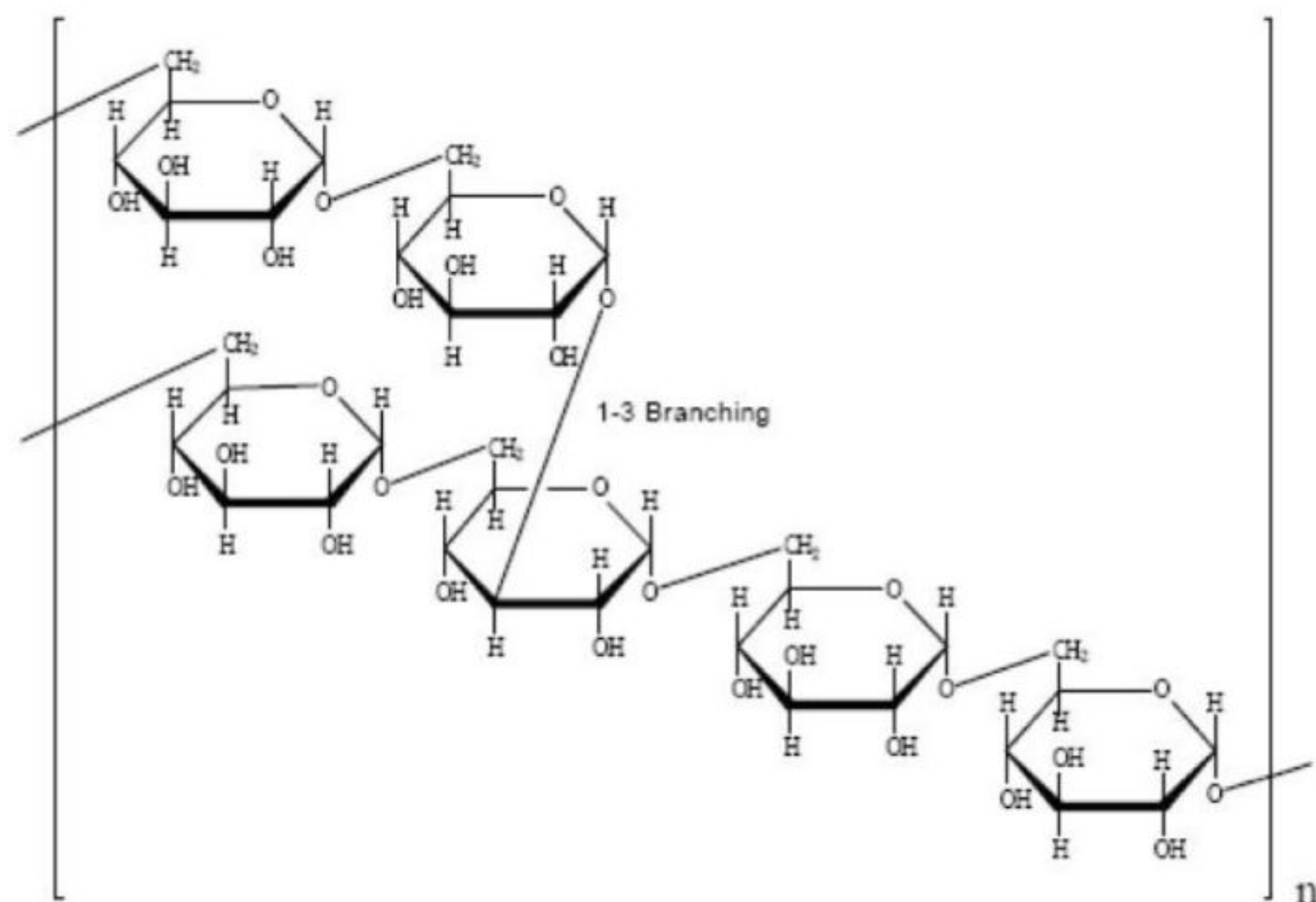
Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Leuconostocaceae
Genus	: Weissella
Spesies	: <i>Weissella confusa</i>

2.4 Eksopolisakarida

Eksopolisakarida merupakan suatu polisakarida yang didapatkan dari hasil ekskresi mikroba (Malik dkk., 2010). EPS merupakan produk metabolit sekunder yang dikeluarkan saat lingkungan pertumbuhannya kurang menguntungkan (Mesomo *et al.*, 2009). Strain bakteri yang bersifat non-mukoid yaitu yang tidak mampu membentuk EPS secara spontan dapat menjadi bersifat mukoid dalam kondisi tertentu. Kapsul atau lendir EPS ini dapat dikeluarkan secara fisik ataupun enzimatis tanpa mempengaruhi pertumbuhan bakteri, sehingga tidak menyebabkan sel mikroba mati. Eksopolisakarida biasa dihasilkan oleh mikroba ke luar sel biasa ditemukan pada bagian luar dari struktur bakteri. EPS terhubung dengan sel dalam bentuk kapsul atau lendir yang terdapat pada permukaan sel. EPS memiliki varietas yang luas serta struktur kimia yang kompleks, dan mempunyai sifat antimikrobia. EPS mencakup beberapa klasifikasi polisakarida diantaranya menyerupai bentuk polisakarida tanaman seperti amilosa, amilopektin, selulosa dan algin. Berat molekul EPS adalah sekitar 10⁶ Da yang merupakan polimerisasi beberapa ratus sampai beberapa ribu tetra-heptasakarida (Malaka, 2010). EPS umumnya tersusun atas monosakarida dan beberapa substituen non-karbohidrat diantaranya seperti asetat, piruvat, suksinat, fosfat dan biomolekul seperti protein, asam nukleat, lipid dan zat humat (Surono, 2004).

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

1. Dekstran

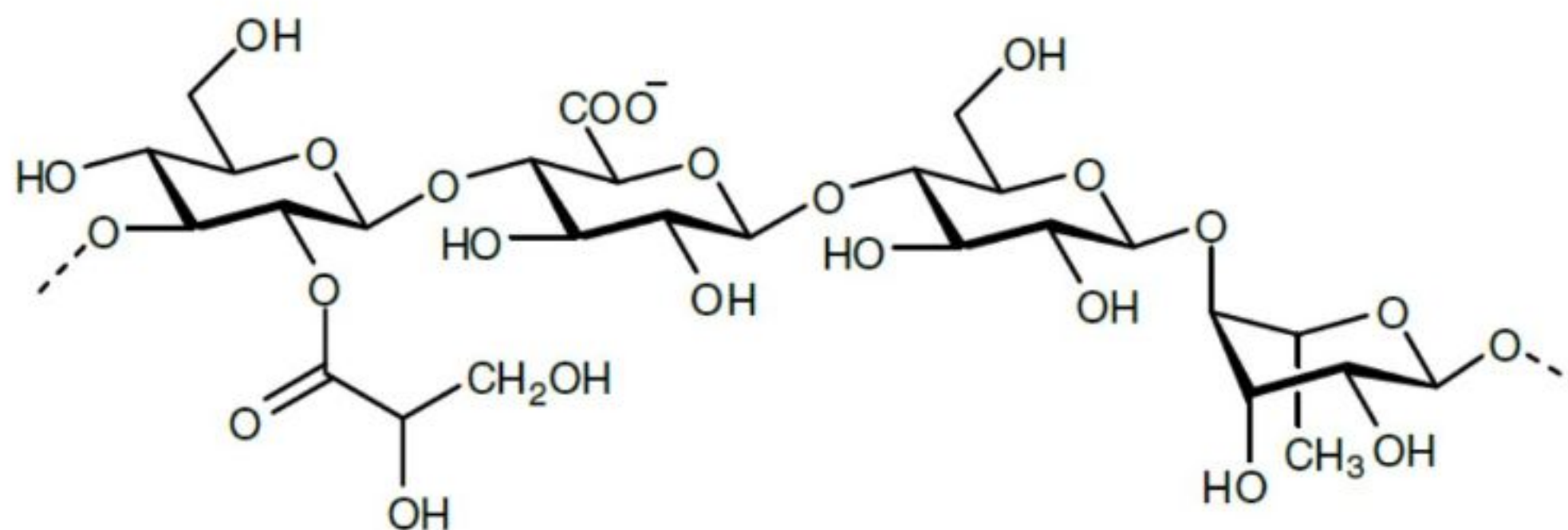


Gambar 2.3 Struktur dekstran (Kasaai, 2012)

Dekstran terdiri dari rantai utama berupa unit glukosil berulang dengan ikatan α -(1 $\rightarrow$ 6) glikosidik dan unit sederhana atau rantai samping α -(1 $\rightarrow$ 2), α -(1 $\rightarrow$ 3) atau α -(1 $\rightarrow$ 4) yang saling berkaitan (Jouven *et al.*, 2015). Dekstran yang di

biosintesis oleh bakteri asam laktat memiliki berat molekul yang besar antara 10-150 kDa. Pemanfaatan bahan alam yang mengandung nutrisi kompleks seperti air kelapa dan nira sebagai media yang mengandung sukrosa yang baik bagi pertumbuhan sel bakteri *Leuconostoc mesenteroides* (Triantarti dan Hendro, 2007). Dalam bidang kesehatan dekstran memiliki fungsi yang beragam seperti anti inflamasi, anti trombotik dan anti koagulan. Dekstran merupakan salah satu contoh EPS yang banyak dimanfaatkan. Dekstran telah banyak diteliti di bidang farmasi sebagai salah satu matriks pada sistem penghantaran obat baru berbentuk konjugat (Veronese dan Caliceti, 2006). Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Khoirumiyah (2023), hasil analisis gugus fungsi EPS terpilih yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* K2 menggunakan spektrofotometer FTIR diduga jenis dekstran.

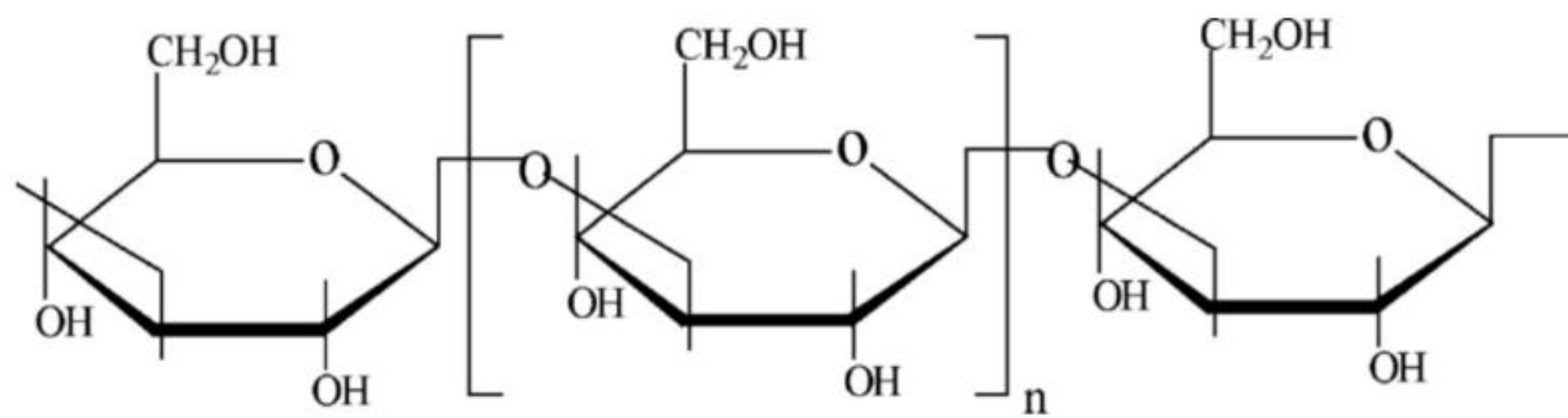
2. Gellan



Gambar 2.4 Struktur gellan (Kohajdova and Karovicova, 2009)

Gellan adalah polimer linier yang bermuatan negatif (anionik polisakarida). Polimernya tersusun dari perulangan tetrasakarida unit yang merupakan kombinasi antara dua molekul glukosa dengan asam D-glukoronat atau L-ramnosa. Gellan biasanya digunakan untuk mensubstitusi agar, juga dapat digunakan sebagai eksipien obat sebagai bagian dari drug delivery system (Vu *et al.*, 2009, Fialho *et al.*, 2008).

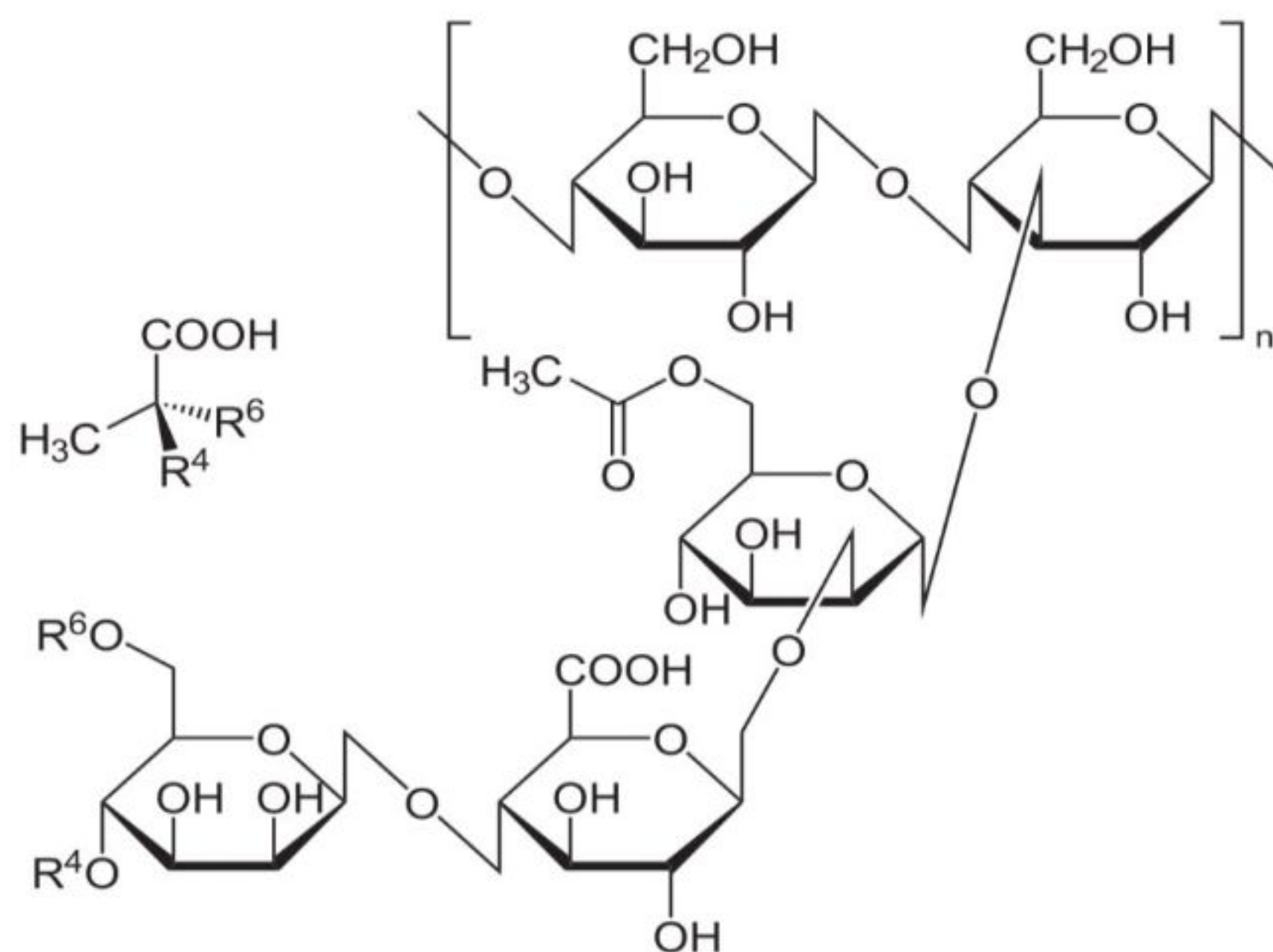
3. Curdlan



Gambar 2.5 Struktur curdlan (Jin *et al.*, 2006)

Curdlan merupakan polimer linier yang terbentuk dari ikatan β -1,3 glikosidik dari D-glukosa. Polimer ini bersifat sangat larut dalam air. Curdlan dapat dihasilkan dari bakteri strain *Alcaligenes faecalis* dan juga *Agrobacterium*. Keunikan curdlan adalah sifat gelnya yang elastis ketika dipanaskan pada suhu diatas 55°C , sehingga sering digunakan untuk memperbaiki tekstur makanan dan dalam bidang farmasi dijadikan sebagai polimer yang berfungsi sebagai eksipien *drug delivery* (Rehm, 2009; Gumadi dkk., 2005).

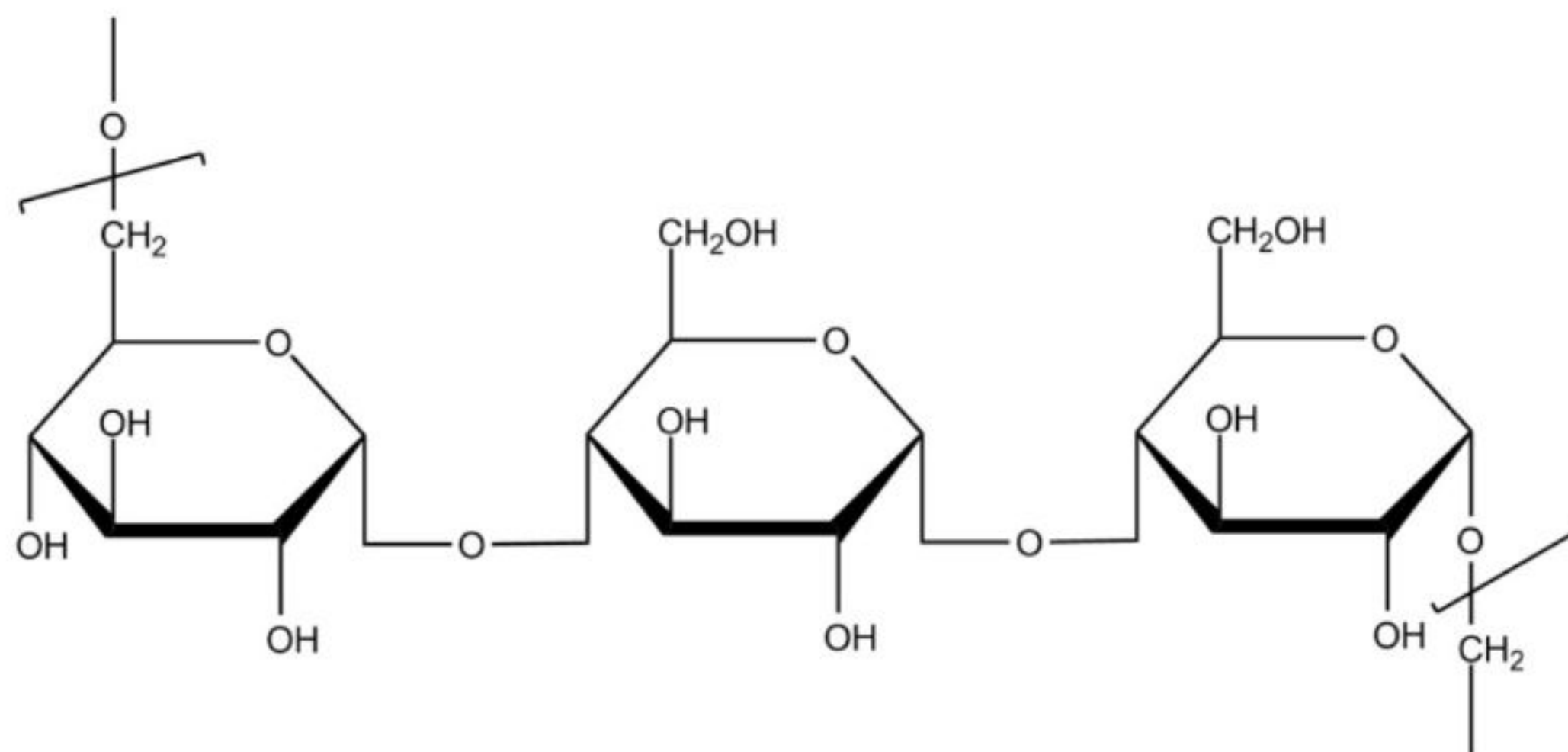
4. Xanthan



Gambar 2.6 Struktur xanthan (Pokhmurs'kyi, 2020)

Xanthan merupakan heteropolimere anionik yang disusun oleh glukosa dengan rantai samping trisakarida dari α -D-manosa yang memiliki gugus asetil. Xanthan diproduksi oleh strain *Xanthomonas* dengan berat molekul yang sangat besar (Rehm, 2009). Sifat yang ditunjukkan xanthan adalah pseudoplastik dan pengemulsi yang stabil, sehingga kegunaannya sangat luas di bidang industri makanan, kosmetik, ataupun farmasi (Sutherland, 1998).

5. Pullulan



Gambar 2.7 Struktur pullulan (Sirisha dan D'Souza, 2017)

Pullulan merupakan polimer yang tersusun atas unit maltotriosa. Ikatan yang terdapat pada unit maltotriosa adalah α -1,4-glikosidik, sedangkan unit-unit maltotriosa dihubungkan dengan ikatan α -1,6-glikosidik. Penggunaan pullulan yang paling dikenal adalah pada produk-produk yang berhubungan dengan penyegar dan pembersih mulut (Raymond, 2009).

2.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Produksi Eksopolisakarida

1. Media

Media yang digunakan untuk mengoptimalkan produksi EPS sangat beragam, karena rantai utama dari polimer ini adalah glukosa. Bakteri biasanya memperoleh

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

2. Konsentrasi Substrat

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

3. Konsentrasi Inokulum

Teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media agar memungkinkannya tumbuh berjauhan dengan sesamanya, dan juga memungkinkan setiap selnya berhimpun membentuk koloni, yaitu sekelompok massa sel yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Bahan yang diinokulasikan pada medium ini disebut inokulum (Pelczar *et al.*, 2007). Kadar inokulum pada fermentasi menunjukkan pengaruh terhadap produk fermentasi, hasil biosintesis EPS dengan variasi inokulum 1, 2,5, 5,0, 10, 15, dan 20 mL/L yakni jumlah EPS tertinggi yaitu sebesar 650 mg/L pada konsentrasi inokulum 10 mL/L (Haroun *et al.*, 2013).

4. Suhu

Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan mikroba adalah suhu. Suhu fermentasi yang terlalu tinggi akan berpengaruh terhadap mikroba dan enzim yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri. Suhu yang terlalu tinggi akan mengakibatkan denaturasi enzim. Selama proses fermentasi, suhu akan mengalami perubahan yaitu dari suhu rendah menjadi tinggi karena reaksi eksotermis dan kemudian akan mengalami penurunan kembali seperti semula ketika reaksi telah selesai. Umumnya enzim bekerja sangat lambat pada suhu di bawah titik beku dan kereaktifannya akan meningkat sampai suhu 45°C. pada pertumbuhan *Weissella confusa* biasanya digunakan suhu 37°C. Hasil penelitian Jin *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa produksi EPS optimum dari isolat *Weissella confusa* dihasilkan pada sekitar suhu 37°C dengan hasil EPS sebesar 59 g/L.

5. pH

pH merupakan salah satu parameter yang penting dan kritis lingkungan yang mempengaruhi total bakteri asam laktat dalam medium fermentasi, total asam laktat dan total EPS kasar yang dihasilkan (Zubaidah dkk., 2008). pH optimum untuk pertumbuhan isolat *Weissella confusa* adalah pada kondisi netral yaitu sekitar 7. Hasil penelitian Jin dkk., (2019) bahwa produksi EPS optimum dari isolat *Weissella confusa* adalah pada sekitar pH 7,0 dengan hasil EPS sebesar 59 g/L. Sementara pada penelitian Khoirumiyah (2023), Hasil produksi EPS tertinggi dari *Weissella confusa* K2 diperoleh pada pH 8 sebesar 47,70 g/L.

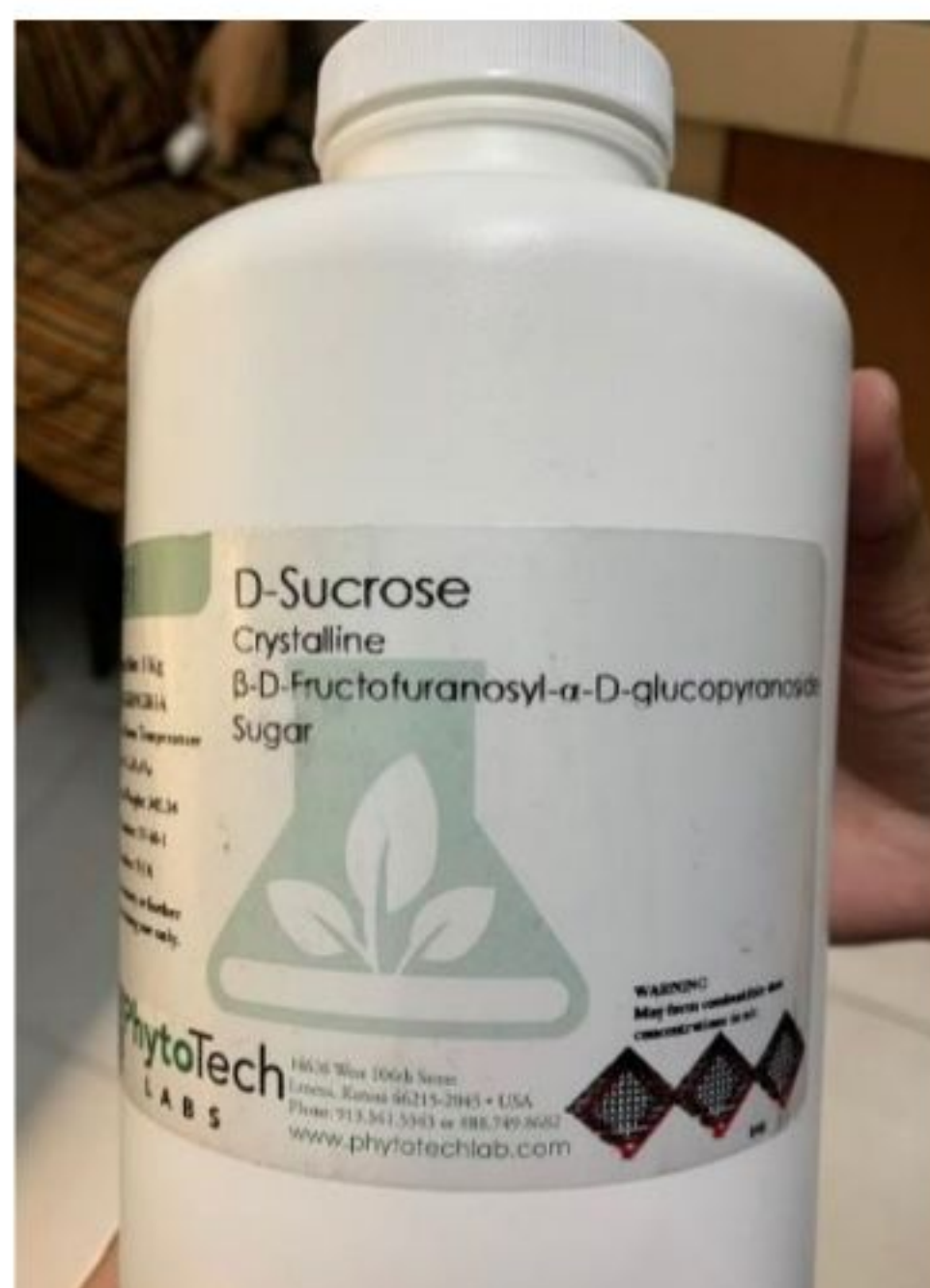
6. Penambahan Sukrosa

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. Semakin tinggi konsentrasi sukrosa maka total asam yang dihasilkan semakin tinggi, disebabkan *L. casei* dapat menggunakan substrat (sukrosa) tersebut sebagai nutrisi pertumbuhan dan menghasilkan asam lebih banyak (Yunus dan Zubaidah, 2015). Sebagai sumber karbon, semakin tinggi konsentrasi sukrosa maka konsentrasi EPS yang dihasilkan juga semakin tinggi. Pada penelitian ini digunakan 2 jenis sukrosa, diantaranya yaitu:

a. Sukrosa PA (*Pro Analysis*)

Sukrosa PA merupakan sukrosa yang digunakan sebagai bahan standar atau bahan referensi dalam berbagai jenis analisis atau pengujian laboratorium. Sukrosa PA terbuat dari sukrosa yang telah dimurnikan secara kimiawi untuk mendapatkan kemurnian yang tinggi. Proses pemurnian ini melibatkan isolasi dan penyaringan sukrosa dari sumber alami, seperti tebu. Setelah diisolasi, sukrosa kemudian diperlakukan dengan berbagai reagen kimia untuk memastikan bahwa telah memiliki kemurnian yang tinggi dan sesuai untuk digunakan sebagai standar analisis dalam laboratorium. Pada penelitian ini sukrosa PA yang digunakan adalah "*Sucrose Phytotech, United States*".



Gambar 2.8 *Sucrose PhytoTech* (PhytoTech Labs Inc., United States)

Tabel 2.1 Spesifikasi *Sucrose PhytoTech* (PhytoTech Labs Inc., United States)

Physiochemical Specifications:

TEST	SPECIFICATION	RESULTS
Solubility	Soluble in Water	Passes
pH (3.00 g/L)	4.0-6.5	5.8
Physical Appearance		
Color*	PM-1 to PM-4, PM-13,	
Texture	or PM-19	PM-4 White
	Crystalline Powder	Crystalline Powder
Solution Appearance		
Clarity	Clear	Clear
Color	Colorless	Colorless
Average Time to Dissolve	For Information Only (Approx. 3 min)	Passes
Insolubles	None	Passes
FTIR	Conforms to Structure	Passes
Purity	For Information Only	99.96%

*Product color based upon comparison between sample and standardized color wheel (Benjamin Moore® Color Preview™).

Biological Testing:

TEST SPECIFICATION	PLANT CELL LINE	RESULTS
Supports and/or facilitates plant growth and/or root proliferation in two or more plant tissue cultured lines with no morphological aberrations to plants	Perila fantasy Xanthi Tobacco Callus	Passes Passes

b. Gula pasir komersial

Gula merupakan komoditas utama perdagangan di Indonesia. Gula merupakan salah satu pemanis yang umum dikonsumsi masyarakat. Gula biasa digunakan sebagai pemanis di makanan maupun minuman, dalam bidang makanan selain sebagai pemanis, gula juga digunakan sebagai *stabilizer* dan pengawet. Pada penelitian ini gula pasir yang digunakan adalah gula pasir “*Happysweet*”. Gula pasir ini merupakan gula kristal putih yang dikemas oleh PT Megah Agung, Kecamatan Jabung, Kabupaten Malang.

Gambar 2.9 Gula Pasir “*Happysweet*”

SNI Gula Kristal Putih No. 3140.3:2010 merupakan pedoman dalam menghasilkan produk gula yang bermutu. Gula kristal putih diklasifikasikan

menjadi 2 (dua) kelas mutu, yaitu Gula Kristal Putih I (GKP I) dan Gula Kristal Putih II (GKP II) (BSN, 2010).

Tabel 2.2 Persyaratan *Gula Kristal Putih* (GKP) sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI)

No.	Parameter Uji	Satuan	Persyaratan	
			GKP 1	GKP 2
1.	Warna kristal	CT	4,0-7,5	7,6-10,0
2.	Warna Larutan (ICUMSA)	IU	81-200	201-300
3.	Besar Jenis Butir	mm	0,8-1,2	0,8-1,2
4.	Susut Pengerinan (b/b)	%	maks 0,1	maks 0,1
5.	Polarisasi ($^{\circ}$ Z, 20 $^{\circ}$ C)	"Z"	min 99,6	min 99,5
6.	Abu Konduktiviti (b/b)	%	maks 0,10	maks 0,15
7.	Bahan Tambahan Pangan			
8.	Belarang Dioksida (SO ₂)	mg/kg	maks 30	maks 30
9.	Cemaran Logam			
10.	Timbal (Pb)	mg/kg	maks 2	maks 2
11.	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks 2	maks 2
12.	Arsen (As)	mg/kg	maks 1	maks 1

7. Lama Fermentasi

Fermentasi merupakan tahap dalam pembentukan EPS sehingga waktu fermentasi sangat mempengaruhi hasil dari produk EPS. Lama fermentasi berhubungan dengan fase pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri terdiri dari empat fase, diantaranya (Brock *et al.*, 1991):

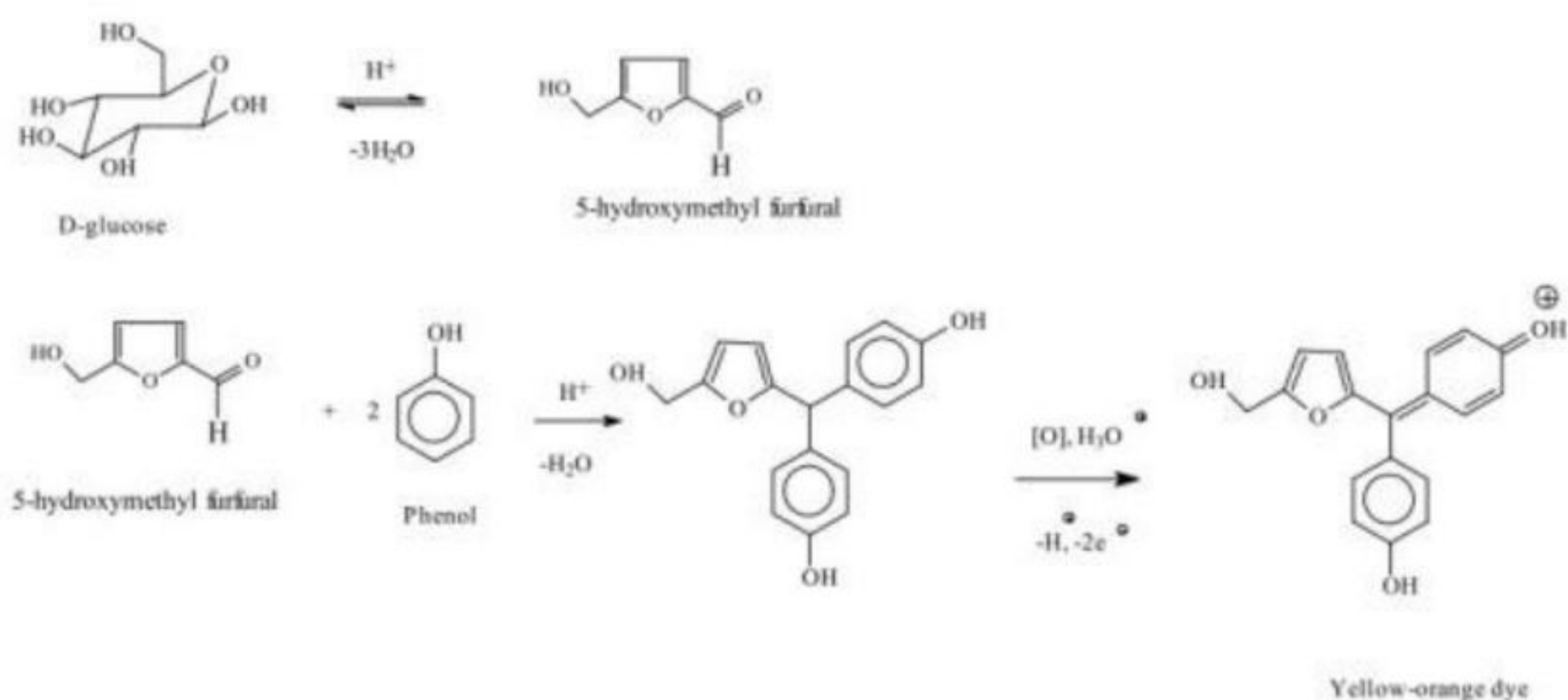
- a. Fase lag atau adaptasi, bakteri akan menyesuaikan dengan kondisi lingkungan sekitarnya ketika dipindahkan ke dalam media tertentu. Lama fase adaptasi dipengaruhi oleh media, jenis lingkungan, dan jumlah inokulum.
- b. Fase log atau eksponensial, bakteri akan membelah dengan cepat dan konstan sesuai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

berkurang. Menurut Setyati *et al.*, (2015) fase eksponensial bakteri dicapai pada waktu inkubasi 16-18 jam.

- c. Fase stasioner, 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 stres lingkungan dengan penambahan variasi konsentrasi sukrosa sebagai sumber gula sekaligus memicu sel bakteri memproduksi EPS.
- d. Fase kematian, beberapa sel bakteri akan mengalami kematian yang disebabkan oleh energi cadangan di dalam sel atau nutrisi di dalam media telah habis.

2.6 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol

Metode kimia yang diterapkan pada penentuan gula total adalah metode sulfat-fenol dan metode anthrone, yaitu merupakan metode klasik dengan sejarah panjang dalam penggunaannya. Metode sulfat-fenol lebih populer dibandingkan dengan metode anthrone. Metode ini dapat dimanfaatkan untuk mengukur dua molekul gula pereduksi (Brummer, 2005). Gula sederhana, oligosakarida, dan turunannya dapat dideteksi dengan fenol dalam asam sulfat yang pekat yang akan menghasilkan warna jingga kekuningan yang stabil. Metode ini mampu mendeteksi dua gula pereduksi karena sukrosa yang ada dihidrolisis dahulu menjadi dua molekul glukosa sehingga dapat mengetahui gula pereduksi total. Penentuan glukosa menggunakan metode fenol-asam sulfat yang disebut juga metode TS (total sugar) yang digunakan untuk mengukur kadar gula total (Nurjannah, 2019).



Gambar 2.10 Reaksi penentuan kadar gula total metode sulfat-fenol
(Muhaimin, 2018)

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

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

2.7 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Spektroskopi inframerah merupakan spektroskopi yang mempelajari interaksi antara materi dan inframerah. Spektra inframerah berkaitan dengan interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan vibrasi molekul, yaitu terjadinya transisi tingkat energi vibrasi akibat adanya absorpsi radiasi inframerah tengah oleh

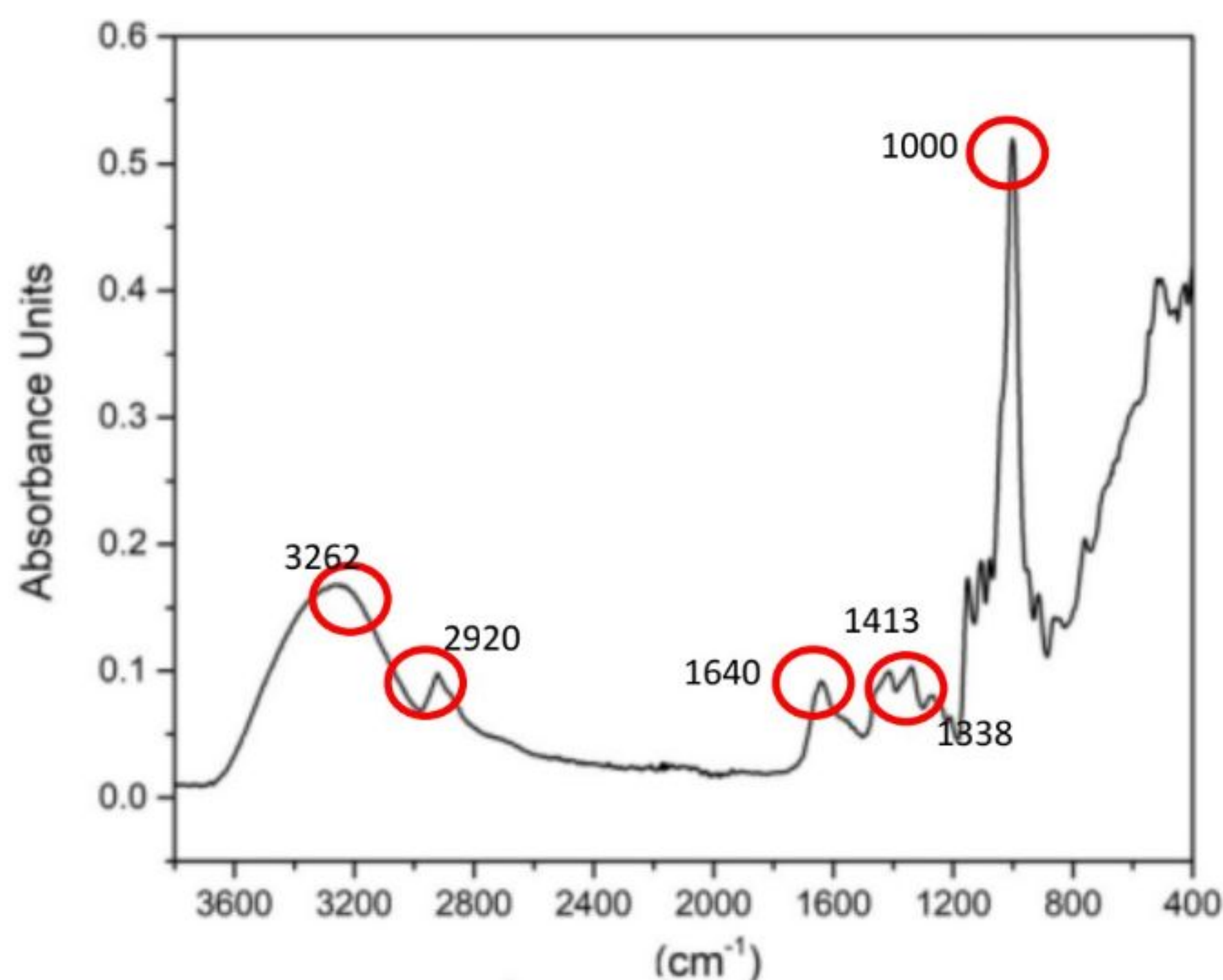
materi. Daerah spektra untuk spektroskopi berada di daerah bilangan gelombang $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ (Setianingsih, 2020).



Gambar 2.11 Spektroskopi FTIR

Prinsip kerja FTIR adalah mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sankari, 2010). Spektroskopi FTIR adalah sama dengan spektroskopi IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra-merah melewati sampel (Rohaeti *et al.*, 2011). FTIR menggunakan suatu interferometer Michelson sebagai pengganti monokromator yang terletak di depan monokromator. Interferometer ini akan memberikan sinyal ke detektor sesuai dengan intensitas frekuensi vibrasi molekul yang berupa interferogram (Khopkar, 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Heperkan *et al.*, (2020) menunjukkan adanya beberapa puncak yang menggambarkan struktur dari senyawa EPS. Spektrum hasil identifikasi FTIR EPS ditunjukkan pada Gambar 2.11.



Gambar 2.12 Spektrum FTIR EPS dari *Weissella confusa* C19
(Heperkan *et al.*, 2020)

EPS yang dihasilkan *Weissella confusa* memiliki gugus fungsi pada spektra 3262 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus O-H stretching, pada pita serapan 2920 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H stretching, pada spektra 1640 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus amida, pada pita serapan 1413 cm^{-1} dan 1338 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karboksil, hal ini yang menunjukkan EPS bersifat asam. Pada pita serapan $1200\text{--}950\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus khas polisakarida pada EPS. Pita serapan 1151 cm^{-1} , 1105 cm^{-1} dan 1000 cm^{-1} merupakan vibrasi C-O dan C-C serta getaran deformasi dari ikatan CCH, COH dan HCO. Pada serapan 1151 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ikatan C-O-C dan jembatan glikosidik. Puncak serapan pada 1105 cm^{-1} disebabkan adanya vibrasi ikatan C-O pada posisi C4 dari residu glukosa. Intensitas peak 1000 cm^{-1} merupakan fleksibilitas rantai lebar yang ada di dekstran sekitar menunjukkan adanya ikatan α -glikosidik ($1 \rightarrow 6$).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Laboratorium Biokimia, Laboratorium Instrumentasi UV-Vis, Laboratorium Instrumen FTIR 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 pada penelitian ini adalah gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 500 mL, Erlenmeyer 250 mL, gelas arloji, pipet ukur 5 mL dan 10 mL, pipet tetes, labu ukur 10 mL, 25 mL dan 100 mL, bola hisap, botol semprot, spatula, batang pengaduk, korek api, kawat ose, pembakar spiritus, corong gelas, cawan petri, penangas air, mikro pipet, *blue tip*, *hot plate*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung sentrifuge, *magnetic stirrer*, *autoclave*, *shaker*, *laminar air flow*, *vortex*, oven, lemari asap, lemari pendingin, spektrofotometer UV-Vis, dan spektrofotometer FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu air kelapa, *de Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), etanol PA 95%, alkohol 70% sebagai desinfektan, fenol 5%, H₂SO₄ 98%, HCl 2N, NaOH 2N, NaCl, KBr, *Trichloroacetic acid* (TCA), sukrosa PA “*Sucrose*

Phytotech”, gula pasir “*Happysweet*”, aquades, kapas, kertas label, kertas saring halus, kain saring, aluminium foil, plastik wrap, plastik, karet dan starter isolat *Weissella confusa* K2 dari buah kelengkeng yang diperoleh dari penelitian sebelumnya.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi EPS menggunakan media air kelapa oleh *Weissella confusa* K2. Air kelapa dipilih sebagai media fermentasi produksi EPS karena mengandung banyak nutrisi dan merupakan media alternatif murah pengganti MRSB. Didalam 1L air kelapa, terkandung 10 mg nitrogen yang dapat dibandingkan dengan 1 g nitrogen pada 10 g *yeast extract* (Unagul, P., dkk, 2007). Penambahan *yeast extract* dan *peptone* sebagai sumber nitrogen yang merupakan faktor pendukung pertumbuhan aktivitas bakteri asam laktat penghasil EPS. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah jenis sukrosa (S1=sukrosa PA dan S2=gula pasir komersial). Pemilihan jenis sukrosa yaitu berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya yang telah banyak dilakukan dengan menggunakan sukrosa PA, sehingga perlu dibandingkan dengan penggunaan gula pasir komersial. Konsentrasi sukrosa PA dan gula pasir komersial yang digunakan adalah 10%. Faktor yang kedua adalah variasi lama fermentasi (L1=24 jam, L2=48 jam dan L3=72 jam). Pemilihan variasi lama fermentasi ini didasarkan pada 4 fase pertumbuhan bakteri diantaranya fase lag (adaptasi), fase log (eksponensial), fase

stasioner dan fase kematian. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan antara jenis sukrosa dan lama fermentasi

Jenis Sukrosa	Lama Fermentasi (jam)		
	L1=24	L2=48	L3=72
S1=1	S1L1	S1L2	S1L3
S2=2	S2L1	S2L2	S2L3

Analisis pada penelitian ini yaitu jumlah rendemen EPS yang dihasilkan. Uji kadar total gula menggunakan metode Sulfat-Fenol yang dilakukan untuk menentukan tingkat kemurnian dari EPS dengan mendeteksi kandungan gula yang terkandung di dalamnya. Identifikasi gugus fungsi polisakarida pada EPS terpilih yang dihasilkan dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) untuk menguatkan dugaan jenis EPS dekstran yang mempunyai gugus khas yaitu ikatan α -(1 $\rightarrow$ 6) glikosidik.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Sterilisasi alat
2. Preparasi air kelapa
3. Pembuatan media MRSA
4. Pembuatan media MRSB
5. Regenerasi *Weissella confusa* K2
6. Pembuatan inokulum
7. Produksi EPS, pengaruh jenis sukrosa dan lama fermentasi terhadap produksi EPS dari air kelapa
8. Ekstraksi EPS dari media fermentasi air kelapa

9. Uji Kadar Total Gula dengan Metode Sulfat-Fenol

9.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

9.2. Menghitung Total Gula Sampel

10. Identifikasi gugus fungsi EPS menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)

11. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat gelas yang akan digunakan dalam penelitian seperti diantaranya gelas ukur, *beaker glass*, Erlenmeyer, cawan petri dan tabung reaksi dicuci hingga bersih kemudian dikeringkan. Kemudian dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Setelah itu dilakukan sterilisasi dalam *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi.

3.5.2 Preparasi Air Kelapa

Air kelapa tua segar yang baru diambil dari pasar Dinoyo Malang dalam wadah plastik disaring menggunakan kain saring hingga terpisah dari residu yang ada dan ditempatkan dalam satu wadah besar. *Yeast extract* dan pepton ditimbang masing-masing sebanyak 2,5 g kemudian dilarutkan dengan air kelapa yang telah disaring dan ditandabatkan sampai 1 L. Diukur pH dan disetarakan menjadi 8 dengan penambahan NaOH. Setelah itu disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi.

3.5.3 Pembuatan Media

3.5.3.1 Pembuatan Media MRSA (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*) (Fardiaz, 1992)

Media MRSA dibuat dengan menimbang MRSA sebanyak 6,52 g, dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, kemudian dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk hingga larut. Kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi dalam *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Larutan tersebut didinginkan dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak ± 9 mL pada keadaan miring hingga memadat. Media MRSA ini digunakan untuk regenerasi *Weissella confusa* K2.

3.5.3.2 Pembuatan Media MRSB (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*) (Fardiaz, 1992)

Media MRSB dibuat dengan menimbang MRSB sebanyak 5,52 g kemudian dilarutkan dengan 100 mL aquades hingga homogen. Kemudian dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk hingga larut. Kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi dalam *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Media MRSB ini digunakan untuk pembuatan inokulum.

3.5.4 Regenerasi *Weissella confusa* K2 (Kultsum, 2009)

Weissella confusa K2 yang sudah menjadi biakan diambil sebanyak 2 (dua) ose dan diinokulasikan ke media MRSA miring. Kemudian diinkubasi pada suhu

pada suhu 37°C selama 48 jam. *Weissella confusa* K2 yang telah mengalami regenerasi digunakan untuk pembuatan inokulum stok.

3.5.5 Pembuatan Inokulum (Maunatin *et al.*, 2020)

Pembuatan inokulum dilakukan dengan mengambil dua ose *Weissella confusa* K2 yang telah diregenerasi kemudian dinokulasikan ke dalam 30 mL MRSB, lalu di *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 18 jam pada suhu ruang. Kemudian diukur OD (*Optical Density*) bakteri dengan UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Kemudian disetarakan OD menjadi 0,5. Inokulum *Weissella confusa* K2 dimasukkan ke dalam 6 tabung sentrifuge masing-masing sebanyak 5 mL. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Diambil endapan lalu dicuci dengan 5 mL NaCl dengan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Kemudian hasil endapan yang diperoleh ditambahkan pada media produksi.

3.5.6 Pengaruh Jenis Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Produksi EPS dari Air Kelapa ((Trabelsi *et al.*, termodifikasi, 2014 dan Seesuriyachan *et al.*, 2011)

Air kelapa steril sebanyak 1 L yang telah ditambahkan *yeast extract* dan pepton dan telah diatur pH menjadi 8 diendapkan selama semalaman. Endapan yang mengendap di bawah dapat berupa serpihan-serpihan dari daging kelapa atau mineral-mineral yang terlarut dalam air. Setelah itu diambil filtrat yang jernih dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* lain. Sukrosa PA dan gula pasir sebanyak 10 g masing-masing dimasukkan ke dalam 6 botol (3 botol sukrosa PA, 3 botol gula

pasir) dan disterilisasi dalam *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Setelah disterilisasi, tiap botol ditandabatkan dengan air kelapa steril hingga 100 mL. Kemudian masing-masing botol ditambahkan 5 mL inokulum *Weissella confusa* K2. Selanjutnya media produksi dishaker dengan kecepatan 100 rpm selama 24, 48 dan 72 jam pada suhu ruang.

3.5.7 Ekstraksi Eksopolisakarida dari Media Fermentasi Air Kelapa (Khoirumiyah, 2023)

Media produksi hasil fermentasi diambil sebanyak 50 mL dan ditambahkan TCA sebanyak 4% kemudian dishaker selama 30 menit pada 100 rpm. Kemudian disentrifugasi dengan sentrifuge dingin 4°C pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Diambil supernatan yang mengandung EPS sebanyak 30 mL dan ditambahkan etanol dingin 96% (2 kali volume atau 60 mL) dan dibiarkan selama 24 jam dalam lemari pendingin. Kemudian disentrifugasi untuk memisahkan endapan yang diperoleh dengan filtrat. Pelet yang didapat dikeringkan pada suhu 60° selama 5 jam dengan menggunakan oven. Rendemen EPS ditentukan dengan menggunakan rumus:

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

3.5.8 Uji Kadar Total Gula dengan Metode Sulfat-Fenol

3.5.8.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa dengan Metode Sulfat-Fenol (Dubois *et al.*, 1956)

Larutan glukosa standar yang mengandung 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm glukosa dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 mL,

ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% (b/v) dan dikocok. Kemudian asam sulfat pekat ditambahkan sebanyak 5 mL dengan cepat di lemari asap. Dibiarkan selama 10 menit, dikocok kemudian ditempatkan dalam penangas air pada suhu 100° C selama 15 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.8.2 Menghitung Total Gula Eksopolisakarida dengan Metode Sulfat-Fenol (Dubois *et al.*, 1956)

Sampel EPS sebanyak 0,01 g dilarutkan ke dalam 250 mL aquades dan ditandabatkan. Kemudian larutan yang telah homogen diambil sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan larutan fenol 5% (b/v) sebanyak 1 mL dan dikocok. Selanjutnya ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 5 mL dengan cepat di lemari asap. Dibiarkan selama 10 menit, dikocok, kemudian ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit dengan suhu 100°C dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.9 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)

KBr sebanyak 250 g ditumbuk kemudian ditekan dalam cetakan hingga diperoleh pelet KBr. EPS kering ditekan dengan penekan hidrolik dengan frekuensi 4000 - 400 cm⁻¹. Data yang diperoleh melalui uji FTIR adalah data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif yang berupa informasi keberadaan gugus fungsional atau jenis ikatan tertentu pada bilangan gelombang tertentu yang diidentifikasi berdasarkan inframerah yang dihasilkan. Sedangkan data kuantitatif berupa nilai absorbansi dari gugus fungsi yang terdeteksi.

3.5.10 Analisis Data

Data yang diperoleh yaitu rendemen EPS yang dianalisis kadar total gula menggunakan metode Sulfat-Fenol untuk menentukan tingkat kemurnian dari EPS. Identifikasi gugus fungsi EPS terpilih yang dihasilkan menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Selain itu data rendemen EPS dianalisis dengan ragam varian *Two 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. Jenis sukrosa tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen EPS, sehingga penggunaan gula pasir komersial memiliki potensi yang besar dalam produksi EPS. Sedangkan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap rendemen EPS. Lama fermentasi 24 jam berbeda nyata terhadap 48 dan 72 jam, sedangkan lama fermentasi 48 jam tidak berbeda nyata terhadap 72 jam. Sehingga produksi EPS dapat dilakukan secara optimum pada lama fermentasi 48 jam. Rendemen EPS tertinggi 25,19 g/L yakni pada perlakuan S1L3 yaitu dengan penambahan sukrosa PA 10% dan lama fermentasi 72 jam.
2. Hasil analisis gugus fungsi EPS terbaik dari *Weissella confusa* K2 menunjukkan adanya gugus O-H, C-H, N-H, -COOH, C-O-C dan α -(1 $\rightarrow$ 6) glikosidik pada panjang gelombang 3268,9 cm⁻¹, 3287,5 cm⁻¹, 2924,1 cm⁻¹, 2916,6 cm⁻¹, 1653,1 cm⁻¹, 1420,1 cm⁻¹, 1146,2 cm⁻¹, 1148,0, dan 1079,1 cm⁻¹, 1077,2 cm⁻¹. Selain itu gugus N-H pada panjang gelombang 1653,1 menunjukkan masih adanya protein dalam EPS yang dihasilkan.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk optimasi produksi EPS pada faktor lingkungan yang lain, seperti pH, suhu, konsentrasi inokulum pada fermentasi menggunakan media air kelapa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesulu-Dahunsi, A. T., Sanni, A. I., Jeyaram, K., Ojediran, J. O., Ogunsakin, A. O., & Banwo, K. (2018). Extracellular polysaccharide from *Weissella confusa* OF126: Production, optimization, and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 514–525.
- Afiati, F., N.A. Widad & Kusmiati. 2015. Pengaruh Antioksidan Eksopolisakarida dari Tiga Galur Bakteri Asam Laktat pada Sel Darah Domba Terinduksi tert-Butil Hidroperoksida (t-BHP). *Jurnal Biologi Indonesia* 11 (2): 225-234
- Afriani. (2010). Pengaruh penggunaan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap total bakteri asam laktat, kadar asam dan nilai ph dadih susu sapi. *Jurnal Ilmiah Ilmu – Ilmu Peternakan*, 13(6).
- Agus, A., 2016. Kemampuan Tumbuh Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Saluran Pencernaan Broiler Umur Tiga Hari Pada Berbagai Uji Probiotik. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Ajaban, C.A. 1962. Studies on optimum conditions for nata de coco bacterium or formulation in coconut water. *Philippine Agricultural*
- 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. *United State: Carbohydrate Polymer* 97: 253-261
- Al-Mahalli, Jalaluddin & Jalaluddin As-Suyuthi. Tafsir Jalalain. Terj. Bahrin Abu Bakar, Jakarta: Sinar Baru Algensindo
- Al-Qurthubi dan Syaikh. 2009. Tafsir al-Qurthubi Jilid 15. Jakarta: Pustaka Azzam
- Anindita. 2002. Pembuatan Yakult Kacang Hijau. Kajian Tingkat Pengenceran dan Konsentrasi Sukrosa. (Skripsi). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
- Azizah, Fathia Rahmatul. 2019. Pengaruh penambahan sukrosa pada air kelapa dan lama fermentasi terhadap produksi eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides*. Thesis. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Bawole, K.V., Umboh. S.D., and Tallei. T.E. 2018. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kubis Merah (*Brassica oleracea* L.) Pada pH 3. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 7(2): 20-23
- Brummer, Y. dan Cui, W.S. 2005. Food carbohydrates for chemistry, physical properties, and application. E-book. 432-439. France: Taylor and francies group, LLC.
- Chalim, Mohamad Abdul (2021) Karakterisasi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* dan potensinya sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Chang C., Wu R. 2011. Quantification of (+)-catechin and (-)-epicatechin in coconut water by LC-MS Food Chemistry, 126, pp. 710-717
- Dalie, D.K.D., A.M. Deschamps, and F. Richarrd-Forget. 2010. Lactic acid bacteria: potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. Food Control. 21: 370-380.
- Dubois, M.K., Gilles, A., Hamilton, P.A., Rebers dan Fred, S. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substance. *Journal of University of Minnesota* vol 28(3): 350-356
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pengolahan Pangan. Bogor: PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. 184 Hal.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. E-Book. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Fifendy, M., Eldini dan Irdawati. 2013. Pengaruh Pemanfaatan Molase terhadap Jumlah Mikroba dan Ketebalan Nata pada Teh Kombucha. Prosiding Seminar Bidang Biologi ISBN-978-602-98559-2-0.
- Fitria, Aida. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Eksopolisakarida dari Tetes Tebu oleh *Lactobacillus plantarum* dan Identifikasi Senyawa Gula Penyusunnya. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Goktepe I, Vijay KJ, & Mohamed A. 2005. *Probiotics in Food Safety and Human Health*. Boca Raton: CRC Press.
- Haroun, B. M., El-Menoufy, H. A., Amin, H. A. dan El-Waseif, A. A. 2013. Biosynthesis and Morphology of an Exopolysaccharide from a probiotic *Lactobacillus plantarum* under different growth conditions. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(2): 1256-1265, 2013.
- Haroun, B. M., El-Menoufy, H. A., Amin, H. A. dan El-Waseif, A. A. 2013. Biosynthesis and Morphology of an Exopolysaccharide from a probiotic *Lactobacillus plantarum* under different growth conditions. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(2): 1256-1265, 2013
- Heperkan, D.Z., Bolluk, M., and 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
- Imran, M.Y.M, Reehana N., Jayaraj K.A., Ahamed A.A.P., Dhanasekaran, D, Thajuddin N., Alharbi N.S., Muralitharan, G. 2016. Statistical optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus plantarum* NTMI05 and NTMI20. *International Journal of Biological Macromolecules* 93: 731-745.
- Indriyati, A.S. 2010. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Susu Formula Balita Yang Berpotensi Menghasilkan Substansi Antimikroba [skripsi]. Falkutas Sains dan Teknologi UINSK, Yogyakarta.

- Iqbal, Samina., Marchetti, Roberta., Aman, Afsheen., Silipo, Alba., Qader, Shah Ali Ul., dan Molinaro, Antonio. 2017. Enzymatic and Acidic Degradation of Hight Molecular Weight Dextran into Low Molecular Weight and its Characterizations Using Novel Diffusion-ordered NMR Spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*. 103: 744-750
- Irianto, Koes. 2006. *Mikrobiologi*. Bandung : Yrama Widya.
- Jin, H., Jeong, Y., Yoo, S. H., Johnston, T. V., Ku, S., & Ji, G. E. (2019). Isolation and characterization of high exopolysaccharide-producing *Weissella confusa* VP30 from young children's feces. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 1–13.
- Jouven, R.; Honkapää, K.; Maina, N.H.; Shi, Q.; Viljanen, K.; Maaheimo, H.; Virkki, L.; Tenkanen, M.; Lantto, R. 2015. 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*, 207, 109–118.
- Kasaai, M.R. 2012. A comparative study of molecular structures, solution properties and food applications for three branched polysaccharides: Amylopectin, glycogen, and dextran
- Khairunnisa, F dan Pato, U. 2016. Perbandingan aktivitas antibakteri antara *Lactobacillus casei* subs R-68 dan *Lactobacillus casei* komersil terhadap *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Universitas Riau.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. (Alih bahasa: A. Saptorahardjo). Jakarta: Ui Press
- Kimmel, C.B., Miller, C.T., Kruse, G., Ullmann, B., BreMiller, R.A., Larison, K.D., and Snyder, H.C. 1998. The shaping of the pharyngeal cartilages during early development of the zebrafish.
- Kimmel, S. A., Roberts, R. F dan Ziegler, G. R. 1998. Optimation of Exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* RR grown in a semidefined medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 659-664.
- Klinchongkon, K., Bunyakiat, T., Khuwijitjaru, P., & Adachi, S. 2019. Ethanol Precipitation of Mannooligosaccharides from Subcritical Water-Treated Coconut Meal Hydrolysate. *Food and Bioprocess Technology*.
- Kohajdová, Z and Karovičová, J. 2009. Application of hydrocolloids as baking improvers. *Chemical Papers* 63 (1) 26–38 (2009)
- Kultsum, U. 2009. Pengaruh variasi nira tebu dar beberapa varietas penambahan sumber N dari tepung kedelai hitam sebagai substrat terhadap efisiensi fermentasi etanol. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek UIN Malang , 43-47.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. Jakarta : Erlangga.

- Li Chengcheng, Jian Ding, Dong Chen, Zhongping Shi, Liang Wang. 2020. Bioconversion of cheese whey into a hetero-exopolysaccharide via a one-step bioprocess and its applications. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 161
- Ma'at, S. 2009. *Sterilisasi dan Desinfeksi*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Ma'unatin, A., dkk. 2020. The isolation of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from lontar (*Borassus flabellifer* L.) sap. *Iranlan Journal Of Microbiology*. Vol. 12. No. 5
- Malaka, Ratmawati. 2010. Eksopolisakarida Bakteri Stater Kultur Susu Fermentasi sebagai sumber Polisakarida Harapan di Masa Depan. Universitas Hasanuddin
- Malik, A., Donna, M., Ariesranti, A.N dan Arry, Y. 2008. Skrining Gen Glukonsiltransferase (GTF) dari Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida. 2008. *Markara Sains*, Vol. 12, No. 1
- Mayaserli, D. Putri dan Renowati. 2015. Pemanfaatan Air Kelapa sebagai Media Pertumbuhan *Pseudomonas fluorescens* dan Aplikasinya sebagai Pupuk Cair Tanaman. *Jurnal Kesehatan Perintis*. Vol. 02, No. 02.
- 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.
- Muhaimin. 2018. Identifikasi Glukosa Hasil Hidrolisis Serat Daun Nanas menggunakan Metode Fenol-Asam Sulfat secara Spektrofotometri UV-Vis. *Al-Kimia* 6 (1).
- Mundiri, N., Megantara, I., & Anggaeni, T. (2020). Kajian Pustaka: Pemanfaatan Eksopolisakarida Bakteri Asam Laktat Probiotik Asal Produk Pangan Fermentasi sebagai Imunomodulator. *Indonesia Medicus Veterinus*, , 849-859
- Nurhasanah, I.T. Fu'adah, Satria, H., S.D. Yuwono. 2020. Analisis Eksopolisakarida dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kefir Kolostrum. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. Vol. 5, No. 1.
- Nurjannah, L., dkk. 2017. Produksi Asam Laktat Oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan Sumber Karbon Tetes Tebu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. Vol. 09, No. 01.
- Olano, A., Chua, J., Schroeder, S., Minari, A., La Salvia, M., Hall, G., 2001. *Weissella confusa* (Basionym: *Lactobacillus confusus*) Bacteremia: A Case Report. *J. Clin. Microbiol* 39(4), 1604–1607
- Pavia, D., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan J.R. (2009). Introduction to spectroscopy edition IV. Washington: Departement of Chemistry. Western Wasington University.

- Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. 2007. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I. Jakarta: UI Press.iqbal
- Polak-Berecka, M., Wasko, A., Szwajgier, D., & Choma, A. 2013. Bifidogenic and Antioxidant Activity of Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus rhamnosus* E/N Cultivated on Different Carbon Sources. *Polish journal of microbiology*, 62(2), 81-189
- Pokhmurs'kyi, V. I. M. Zin', M. B. Tymus', I S. A. Kornii, O. V. Karpenko, O. P. Khlopyk, and N. I. Korets'ka. 2020. Inhibition of the Corrosion of Carbon Steel by Xanthan Biopolymer. *Materials Science*, Vol. 55, No. 4, January, 2020 (Ukrainian Original Vol. 55, No. 4)
- Prado, F.C., Lindner, J.D.D., Inaba, J., Soccol, V.T., Brar, S.T dan Soccol, C.R., 2015. Development and Evaluation of Fermented Coconut Water Beverage with Potential Health Benefits. *Journal of Functional Foods*. 12, 489-497.
- Prastika, H. H., Laksmiwati, A. A. I. A. M., Ratnayani, K., & Puspawati, N. M. (2019). Penggunaan Enzim Pepsin untuk Produksi Hidrolisat ProteinKacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang Aktif Antioksidan. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 7(2), 180–188.
- Rajoka, M.S.R, Jin, M., Haobin, Z., Qi Li, Shao, D., Jiang, C., Huang, Q., Yang, H., Shi, J., Hussain, N. 2018. Functional characterization and biotechnological potential of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk. *Food Science and Technology*. LWT. 89: 638-647
- Rembulan, G. D., Sunarti. T. C., and Meryandini. A. 2015. Penambahan Bakteri Asam Laktat Terenkapsulasi Untuk Menekan Pertumbuhan Bakteri Patogen Pada Proses Produksi Tapioka. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 26(1): 34-43.
- Rohaeti, E., Heryanto, R., M. Rafi., A. Wahyuningrum, L.K. Darusman. 2011. Prediksi Kadar Flavonoid Total Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) menggunakan Kombinasi Spektroskopi IR dengan regresi Kuadrat Terkecil Parsial. *Jurnal Kimia*. Vol. 5, No. 2
- Rosyadi, Dudi., dkk. 2008. Syaikh Imam al-Qurthubi, Tafsir Al-Qurthubi, terj. Al-Jami' Li Ahkaam Al-Qur'an. Jakarta: Pustaka Azzam
- Safitri, N. dkk. 2016. Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumber Daya Hayati*. Vol. 2 No. 2.
- Sankari, G., Krishnamoorthy, E., Jayakumaran, S., Gunasekaran, S., Priya, V. V., Subramaniam, S., & Mohan, S. K. 2010. Analysis of serum immunoglobulins using Fourier transform infrared spectral measurements. *Biology and Medicine*, 2(3), 42-48

- Santoso, H. B. 2003. Pengaruh Konsentrasi Gula Kristal Dan Asam Sitrat Terhadap Karakteristik Fisik, Kimia Dan Organoleptik Sirup Air Kelapa. Jurnal Sains dan Teknologi Pangan (JSTP). Universitas Halu Oleo. Hal 210.
- Santoso. U, Kazuhiro Kubo, Toru Ota, Tadahiro Tadokoro, and Akio Maekawa. 1996. Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.) Journal Food Chemistry. 57: 299-3004
- Saraswati, D. 2014. Pengaruh Konsentrasi Air Kelapa Muda Terhadap Pertumbuhan *Saccharomyces cereviceae*. Skripsi. Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan dan Keolahragaan Jurusan Kesehatan Masyarakat Universitas Negeri Gorontalo
- Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Hanmoungjai, P., dan Techapun, C. 2011. Exopolysaccharide production by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 using coconut water as an alternative carbon source: the effect of peptone, yeast extract and beef extract. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 33 (4), 379-387.
- Shihab, M. Quraish. 2002. Tafsir al-Mishbah: Pesan, kesan dan keserasian al-Qur'an, vol. 6, Jakarta: Lentera Hati.
- Sirisha, V.L and Jacinta S. D'Souza. 2017. Polysaccharide-Based Nanoparticles as Drug Delivery Systems: Principles and Applications
- Subagiyo, Margino. S, dan Triyanto. 2015. Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen Dan Fosfor pada Medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang *Penaeid*. Jurnal Kelautan Tropis. Vol. 18(3):127–132
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti
- Surono, Inggrid S. 2004. Probiotik, Susu Fermentasi Kesehatan. Jakarta: PT. Tri Cipta Karya.
- Sutedjo, M. 1996. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: Rineka Cipta
- Tayuan, Chintana. (2011). Growth and exopolysaccharide production by *Weissella* sp. from low-cost substitutes for sucrose. African Journal of Microbiology Research, 5(22), 3693–3701.
- Tih FTF, Pramono H, Hasianna ST, Naryanto ET, Haryono AG, dan Rachman O, 2017. Efek Konsumsi Air Kelapa (*Cocos nucifera*) terhadap Ketahanan Berolahraga Selama Latihan Lari Pada Laki-laki Dewasa bukan Atlet. Global Medical & Health Communication; 5(1): 33-38.
- Trenggono dan Sutardi. 1990. Biokimia dan Teknologi Pasca Panen. Yogyakarta: UGM Press.
- Unagul, P., Asantachai, C., Phadungruengluij, S., Suphantarika, M., Tanticharoen, M., dan Verduyn, C. 2007. Coconut water as a medium additive for the

- production of docosahexaenoic acid (C22:6 n3) by *Schizoxhytrium mangrovei* Sk-02. *Bioresource Technology*.98, 281-287.
- Van, H., Avishek, M dan Arun, G. 2002. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Indian Journal Microbiology*. 52(1) 3-12.
- Vela A. I., Porrero C., Goyache J., Nieto A., Sánchez B., Briones V., et al.. (2003). *Weissella confusa* Infection in Primate (*Cercopithecus mona*). *Emerging Infect. Dis.* 9, 1307–1309
- Vigliar R, Sdepanian VL, Neto UF. 2006. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region. *Jornal de Pediatria* 82(4):308-312.
- Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1998. Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga.
- Wibowo dan D. Ristanto. 1988. Petunjuk Khusus Deteksi Mikroba. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. hal. 163-179.
- Widodo, Hannan Adi. 2019. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Weissella confusa*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Winahyu, Diah Astika. 2017. Bioaktivitas Antioksidan Senyawa Eksopolisakarida dari Mikroalga *Dunaliella* sp. *Jurnal Farmasi Lampung*. Vol. 06, No. 02.
- Wongsuphachat, Wararat, dkk. 2010. Optimization of exopolysaccharides production by *Weissella confusa* NH 02 isolated from Thai fermented sausages. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 32 (1), 27- 35.
- Xu, R. H., dkk. 2010. Chemical Characterization and Antioxidant Activity of an Exopolysaccharide Fraction Isolated from *Bifidobacterium* Animals RH. *European Food Research and Technology*, 232, 231-241.
- Yanuar, S.E dan Sutrisno, A. 2015. Minuman Probiotik dari Air Kelapa Muda dengan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.3 No.3 p.909-917:Universitas Brawijaya Malang
- Zahro, F., 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat asal Fermentasi Markisa Ungu. (*Passiflora edulis* var. *sims*) Sebagai Penghasil Eksopolisakarida. Thesis. Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim Malang.
- Zisu, B. and N.P. Shah. 2003. Effects of pH, Temperature, Supplementation with Whey Protein Concentrate, and Adjunct Cultures on the Production of Exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275.
- Zubaidah, E., Liasari, Y dan Saparianti, E. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 9 No.1. 59-68.