

**KARAKTERISASI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH
Weissella confusa B DAN UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE
*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)***

SKRIPSI

oleh:

**MEY DWI THOUSAND PERMATASARI
NIM. 19630074**



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

**KARAKTERISASI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH
Weissella confusa B DAN UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

SKRIPSI

**OLEH :
MEY DWI THOUSAND PERMATASARI
NIM. 19630074**

**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**

**KARAKTERISASI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH
Weissella confusa B DAN UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

SKRIPSI

**Oleh:
MEY DWI THOUSAND PERMATASARI
NIM. 19630074**

**Telah Diperiksa dan Disetujui
Tanggal : 27 Desember 2023**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Nur Aini, M.Si
NIP. 19840608 201903 2 009**

Mengetahui,

Ketua Program Studi



**Rachmawati Hingsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**KARAKTERISASI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH
Weissella confusa B DAN UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

SKRIPSI

Oleh :
MEY DWI THOUSAND PERMATASARI
NIM. 19630074

**Telah Dipertahankan di Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)**

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

(.....)
(Signature)

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

(.....)
(Signature)

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

(.....)
(Signature)

Anggota Penguji III : Nur Aini, M.Si
NIP. 19840608 201903 2 009

(.....)
(Signature)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi


Rashmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810311 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Mey Dwi Thousand Permatasari
NIM : 19630074
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Karakterisasi Ekspolisakarida yang Dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dan Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 20 Desember 2023



Mey Dwi Thousand Permatasari
NIM 19630074

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'aalamiin puji syukur atas segala nikmat dan rahmat dari Allah SWT sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita ke jalan yang terang.

Skripsi ini saya persembahkan untuk mama dan bapak saya, Alm. Bapak Heru yang telah bekerja keras hingga akhir hayatnya memperjuangkan pendidikan yang baik untuk anak-anaknya, semoga dengan adanya naskah ini dapat membuat beliau bangga kepada putri kecilnya. Terimakasih untuk semua pembelajaran, nasihat dan kasih sayang yang selalu papa berikan. Semoga papa selalu diberi ketenangan di alam sana. Terimakasih kepada mama atas kekuatan kasih sayang dan nasihat, dukungan serta doa ridhonya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Kakak saya atas semangatnya untuk bangkit dan membantu serta menggantikan peran bapak bagi kedua adiknya. Adek saya yang selalu memberi dukungan dan semangat untuk menyelesaikan studi saya. Kepada keluarga kakak ipar saya yang telah merawat dan membantu kelancaran studi saya selama di Malang.

Kepada bapak ibu dosen kimia atas ilmunya. Kepada ibu Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P yang telah merawat, membimbing dan memberi nasihat selama penelitian. Kepada Ibu Nur Aini, M.Si yang telah memberi masukan dan nasihat yang berguna bagi saya. Kepada penguji saya bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si dan Ibu Fadilah Nor Laili Lutfiah, M.Biotech yang menjadi salah satu wadah diskusi bagi saya, memberi banyak saran yang sangat bermanfaat dan menyadarkan saya untuk tidak boleh menyerah dalam belajar.

Untuk teman-temanku, 2 teman SMPku yang selama ini menjadi salah satu keluarga yang sangat berharga. Untuk teman-teman uranium yang telah memberi warna warni selama kuliah. Hokay hokay (finka, bila, ima) yang telah menerima saya menjadi bagian dari mereka, menjadi salah satu rumah selama di malang. Untuk teman-teman EPS (Saniyyah, Nova, Okta) yang telah menjadi saudara baru untuk saya, yang menemani saya selama penelitian, terimakasih atas bantuan, suka duka dan canda tawanya. Untuk teman-teman anak kucing (teman seperbimbingan) dan teman-teman di laboratorium Biokimia yang telah membantu dan memberi kenyamanan selama di laboratorium. Dan untuk semua orang baik di luar sana yang telah membantu dan mendoakan saya.

Kepada diri sendiri yang telah berhasil jatuh bangun hingga tahap ini, dan yang telah bertahan hingga hari ini. Terimakasih untuk Mey Dwi Thousand Permatasari yang mampu menyelesaikan amanah dari almarhum bapak, saya yakin bapak akan tersenyum bahagia melihat saya menyelesaikan salah satu amanah dari bapak.

MOTTO

“Jika kau ingin bersinar layaknya mentari, maka kau harus terbakar terlebih dahulu. Memaafkan memang berat namun dengan memaafkan kita terbebas dari rasa dendam dan mendapatkan ketenangan hidup. ”

(Ali Bin Abi Thalib)

“Aku tenang, karena apa yang menjadi takdirku tidak akan pernah melewatkan dan apa yang melewatkan tidak akan menjadi takdirku”

(Umar Bin Khattab)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alamin, segala puji bagi Allah yang telah memberikan ridho, rahmat serta petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul "**Karakterisasi Eksopolisakarida yang Dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dan Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* ". Sholawat mari kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan tauladan dan berharap agar kelak mendapat syafaat**

Penulisan naskah ini dibuat sebagai salah satu syarat kelulusan yang ada di dalam program studi kimia. ini dapat terselesaikan akibat adanya dukungan semangat dan motivasi serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu izinkanlah penulis menyampaikan rasa dan ucapan terima kasih yang begitu besar kepada:

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Malana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Hartini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Pogram Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P selaku dosen pembimbing penulis yang dengan penuh kesabaran dan keikhlasan meluangkan waktu, memberi bimbingan dan nasihat serta masukkan dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Ibu Nur Aini, M.Si selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan dan nasehat yang bermanfaat kepada penulis.
6. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang dengan penuh kesabaran mendidik, dan menyampaikan ilmu yang bermanfaat untuk kedepannya.
7. Keluarga penulis yang selalu memberikan semangat dan dukungan, doa dan kasih sayang agar penulis dapat dilancarkan urusan studinya.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam naskah skripsi ini. Oleh karena itu, penulis berharap pembaca dapat memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga naskah ini dapat terselesaikan dengan baik. Penulis berharap naskah skripsi ini dapat memberi wawasan yang bermanfaat bagi para pembaca.

Malang, 20 Desember 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	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
ملخص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Bakteri Asam Laktat.....	6
2.2 <i>Weissella Confusa</i>	8
2.3 Eksopolisakarida	9
2.4 Biosintesis Eksopolisakarida	10
2.5 Faktor- faktor yang mempengaruhi Produksi Eksopolisakarida	11
2.6 Karakterisasi Eksopolisakarida	13
2.6.1 Karakterisasi secara Fisika	13
2.6.2 Karakterisasi secara Kimia	13
2.7 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	16
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.2.1 Alat	20
3.2.2 Bahan.....	21
3.3 Rancangan Penelitian.....	21
3.4 Tahapan Penelitian.....	21
3.5 Cara Kerja	22
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Media	22
3.5.2 Pembuatan Media	22
3.5.2.1 Pembuatan <i>de Man Rogosa and Sharpe Agar</i> (MRSA)	22
3.5.2.2 Pembuatan <i>de Man Rogosa and Sharpe Broth</i> (MRSB)	23

3.5.3 Regenerasi <i>Weissella confusa</i>	23
3.5.4 Pembuatan inokulum <i>Weissella confusa</i>	23
3.5.5 Produksi Eksopolisakarida.....	24
3.5.6 Ekstraksi Eksopolisakarida	24
3.5.7 Karakterisasi Eksopolisakarida secara Fisik dan Kimia	24
3.5.7.1 Indeks Kelarutan Air dan Daya Ikat Air Eksopolisakarida	24
3.5.7.2 Uji Kadar Gula Total Metode Asam Sulfat-Fenol.....	25
3.5.7.3 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida	26
3.6.4 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan <i>Fourier Transform Infra Red</i>	26
3.7 Uji Toksisitas Eksopolisakarida oleh <i>Weissella confusa</i> B dengan Metode BSLT.....	27
3.7.1 Preparasi Larva Udang <i>Artemia Salina L</i>	27
3.7.2 Uji Toksisitas EPS metode BSLT.....	27
3.8 Analisis Data.....	28
BAB IV PEMBAHASAN	29
4.1 Pembuatan Media	29
4.2 Regenerasi <i>Weissella confusa</i> B	31
4.3 Pembuatan inokulum	32
4.4 Produksi dan Ekstraksi Eksopolisakarida	33
4.5 Karakterisasi Eksopolisakarida Secara Fisik	36
4.5.1 Indeks kelarutan dan Daya Ikat Air Eksopolisakarida.....	36
4.6 Karakterisasi Eksopolisakarida Secara Kimia	37
4.6.1 Penentuan Kadar Gula Total Eksopolisakarida	38
4.6.2 Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida	39
4.6.3 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan <i>Fourier Transform Infra Red</i>	40
4.7 Uji Toksisitas Eksopolisakarida oleh <i>Weissella confusa</i> B dengan Metode BSLT	42
4.8 Integrasi Hasil Penelitian Dalam Perspektif Islam	44
BAB V PENUTUP	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kurva Hubungan antara waktu inkubasi dengan pertumbuhan sel dan jumlah EPS	7
Gambar 2.2 Bentuk <i>Weissella confusa</i>	9
Gambar 2.3 Jalur Biosintesis HoPs	11
Gambar 2.4 Spektra FTIR EPS oleh <i>Weissella confusa</i>	15
Gambar 2.5 Morfologi <i>Artemia Salina L</i>	17
Gambar 4.1 (a) Media MRSA, (b) Media MRSB pembuatan inokulum, (c) Media MRSB untuk produksi	30
Gambar 4.2 Hasil regenerasi <i>Weissella confusa B</i>	32
Gambar 4.3 Inokulum OD 0,5 <i>Weissella confusa B</i>	33
Gambar 4.4 Media produksi sebelum dan setelah fermentasi.....	33
Gambar 4.5 Reaksi protein dengan TCA	34
Gambar 4.6 Eksopolisakarida kering	35
Gambar 4.7 Kurva Standar Glukosa	37
Gambar 4.8 Kurva Standar Protein	39
Gambar 4.9 Spektra FTIR Eksopolisakarida oleh <i>Weissella confusa B</i>	38
Gambar 4.10 Kurva Hasil uji Toksisitas EPS yang dihasilkan oleh <i>Weissella confusa B</i>	44

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Produksi EPS dan strain <i>Weissella confusa</i> yang dihasilkan	13
Tabel 2.2 Nilai LC ₅₀	18
Tabel 3.1 Analisis Uji Toksisitas EPS Metode BSLT.....	21
Tabel 4.1 Karakteristik Eksopolisakarida secara fisik	36
Tabel 4.2 Hasil Analisis Kadar Gula Total EPS	38
Tabel 4.3 Hasil Analisis Protein.....	39
Tabel 4.4 Gugus Fungsi EPS yang dihasilkan oleh <i>Weissella confusa</i> B.....	41
Tabel 4.4 Data Hasil BSLT EPS yang dihasilkan oleh <i>Weissella confusa</i> B...	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian.....	59
Lampiran 2 Skema Kerja.....	60
Lampiran 3 Perhitungan	68
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian	77

ABSTRAK

Permatasari, Mey Dwi T. 2023. **Karakterisasi Eksopolisakarida yang Dihasilkan Oleh *Weissella confusa* B dan Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).** Skripsi. Program Studi Kimia. Fakultas Sains dan Teknnologi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I : Dr. Anik Maunatin, S.T.,MP. Pembimbing II : Nur Aini, M.Si

Kata Kunci : BSLT, Eksopolisakarida, Toksisitas, *Weissella confusa*

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polisakarida yang diproduksi oleh mikroorganisme ke luar sel. Bakteri Asam Laktat *Weissella confusa* B merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan EPS. EPS yang dihasilkan oleh BAL banyak digunakan di industri farmasi ataupun makanan sebagai antibakteri ataupun probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dan mengetahui tingkat ketoksikan dari EPS.

Produksi EPS oleh *Weissella confusa* B dilakukan menggunakan media MRSB pada pH 8 dengan penambahan sukrosa 10 %. Produksi EPS dilakukan pada suhu ruang dan dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm. Karakterisasi secara fisik EPS meliputi uji indeks kelarutan, dan uji daya ikat air. Karakterisasi secara kimia meliputi uji total gula, uji kadar protein dan penentuan gugus fungsi EPS menggunakan FTIR. Uji toksisitas EPS dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan analisis probit, menggunakan variasi konsentrasi EPS yaitu 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm.

Hasil penelitian menunjukkan rendemen EPS yaitu 6,11 g/L. Hasil karakteristik fisik diketahui indeks kelarutan sebesar 28,00% dan daya ikat air sebesar 463,80%. Hasil karakteristik secara kimia diketahui total gula sebesar 75,46%, dan kadar protein sebesar 0,74%. Hasil uji FTIR menunjukkan bahwa EPS mengandung gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang 3283 cm^{-1} , C-H pada 2927 cm^{-1} , CH/CH₂ pada 1420 cm^{-1} , C-O-C pada 1103 cm^{-1} , ikatan α - glikosidik pada 993 cm^{-1} dan 920 cm^{-1} . Uji toksisitas menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 786,933 ppm.

ABSTRACT

Permatasari, Mey Dwi T. 2022. **Characterization of Exopolysaccharide Produced By *Weissella confusa* B and Toxicity Test Using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Methode.** Thesis. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I : Dr. Anik Maunatin, S.T.,MP. Supervisor II : Nur Aini, M.Si

Keywords: BSLT, Exopolysaccharide, Toxicity, *Weissella confusa* B, BSLT

Exopolysaccharide (EPS) is a polysaccharide that produced by microorganism out of the cell. Lactic Acid Bacteria *Weissella confusa* B is one microorganism that able to produced EPS. EPS that produced by LAB widely used in the pharmation and food industry as antibactery either as a probiotic. The aim of this research is to know the characteristic of EPS produced by *Weissella confusa* B then analys the toxicity of EPS.

Production of EPS by *Weissella confusa* B using MRSB at pH 8 with 10 % sucrose. EPS production doing at room temperature and shaken for 24 hours with 100 rpm. Physical characterization such as index solubility in water and water holding capacity. Chemical characterization such us total sugar test, protein content test, and analys the functional groups of EPS using FTIR. Then the toxicity test used *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) methode and probit analysis, using variation concentrations of EPS are 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm.

The result showed that EPS yield is 6,11 g/L. Physical characterization of EPS the water solubility index is 28% and the water holding capacity is 463,80 %. Chemical characterization of EPS showed that total sugar content 75,46%, and protein content 0,74%. FTIR test results show that EPS contains the functional group O-H at wave number 3283 cm^{-1} , C-H at 2927 cm^{-1} , CH/CH₂ at 1420 cm^{-1} , C-O-C at 1103 cm^{-1} 1, α -glycosidic bonds at 993 cm^{-1} and 920 cm^{-1} . The result of of toxicity test showed that the LC₅₀ is 786,933 ppm.

ملخص البحث

بيرماتاساري، مايو ديوي ت. ٢٠٢٣. توصيف عديدات السكاريد الخارجية التي تنتجها واختبار السمية باستخدام طريقة اختبار فتك الجمبري B ويسيلا الخلط بين بحث جامعي. قسم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. (BSLT) الملحي جامعة مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة أنيك ماؤنة، الماجستير. المشرفة الثانية: نور عيني، الماجستير

الكلمات الرئيسية : السمية، عديدات السكاريد الخارجية، ويسيلا الخلط بين، BSLT
عديدات السكاريد الخارجية (EPS) هي أشكال من السكريات التي تنتجها بكتيريا حمض اللاكتيك (BAL). BAL هي واحدة من بكتيريا البروبيوتيك، بكتيريا حمض اللاكتيك التي يمكن أن تنتج السكريات الخارجية مثل ويسيلا الخلط بين B التي تنتجها ويسيلا الخلط. يستخدم EPS الذي تنتجه BAL على نطاق واسع في صناعة الأدوية أو الأغذية إما كمضاد للبكتيريا أو بروبيوتيك. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد خصائص البولستيرين الممدد (EPS) التي تنتجها ويسيلا الخلط بين B وتحديد مستوى سمية البولستيرين الممدد. تم إنتاج EPS الذي تنتجه ويسيلا الخلط بين B باستخدام وسائ MRSB pH ٨ مع إضافة ١٠٪ سكروز، ثم تم إجراء التوصيف الفيزيائي بما في ذلك اختبارات مؤشر الذوبان، واختبارات ربط الماء. يشمل التوصيف الكيميائي اختبار السكر الكلي واختبار محتوى البروتين وتحديد المجموعة الوظيفية EPS باستخدام FTIR. تم إجراء اختبار سمية EPS باستخدام طريقة اختبار فتك الجمبري الملحي (BSLT). تستخدم هذه الطريقة يرقات الأرتيميا سالينا. تم اختبار اليرقات مع وجود اختلافات في تركيزات المحلول من عينات عديد السكاريد الخارجي من ويسيلا الخلط بين B كانت التركيزات المستخدمة ١٢٥ ppm و ٢٥٠ ppm و ٥٠٠ ppm و ١٠٠٠ ppm و ٢٠٠٠ ppm.

أظهرت النتائج نسبة EPS تبلغ ٦،١١٢ g/L. نتائج الخصائص الفيزيائية معروفة بمؤشر الذوبان بنسبة ٢٨٪ وربط الماء بنسبة ٤٦٣،٨٪. نتائج الخصائص الكيميائية معروفة بالسكر الكلي بنسبة ٧٥،٤٦٪، ومحتوى البروتين بنسبة ٠،٧٣٨٪. FTIR أن EPS يحتوي على مجموعات وظيفية O-H عند الأرقام الموجية ٣٢٨٣ cm⁻¹، C-H عند ٢٩٢٧ cm⁻¹، CH / CH₂ عند ١٤٢٠ cm⁻¹، C-O- عند ١١٠٣ cm⁻¹، روابط α-جليكوسيديك عند ٩٩٣ cm⁻¹ و ٩٢٠ cm⁻¹.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eksopolisakarida merupakan polimer yang terdiri dari karbohidrat dan disekresikan oleh bakteri di luar dinding sel (Patil, 2015). EPS digunakan sebagai pengental, dan stabilitor pada industri makanan (Dilna, 2015). Dalam bidang kesehatan EPS dapat meningkatkan sistem imun (Dey, dkk., 2020). EPS memiliki kemampuan yang baik karena dapat merusak bakteri patogen (Kusdianawati, dkk., 2020). EPS dihasilkan oleh tumbuhan, alga, jamur dan bakteri. Diantara bakteri penghasil EPS, bakteri asam laktat (BAL) diketahui sebagai mikroorganisme yang memiliki kemampuan menghasilkan EPS dengan keragaman struktur (Surayot, dkk., 2014).

BAL bisa juga disebut sebagai bakteri susu, karena bakteri ini banyak ditemukan di dalam berbagai jenis susu (Manvar, 2019). BAL umumnya telah dinyatakan sebagai mikroorganisme *generally recognized as safe* (GRAS) yang aman digunakan dan tidak memiliki resiko dalam kesehatan (Surayot, dkk., 2014) BAL umumnya dapat ditemukan pada daerah yang kaya nutrisi seperti sayuran, daging, kacang-kacangan (Khalid,2011). BAL seperti *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Weissella* mempunyai kemampuan memproduksi senyawa metabolit sekunder berupa EPS (Sanlibaba, 2016). BAL memiliki berbagai genus salah satunya adalah *Weissella confusa* (Amari, 2012).

Weissella confusa B merupakan salah satu strain *Weissella sp.* yang diisolasi dari susu kacang tanah. Pada susu kacang tanah terdapat oligosakarida yang berperan untuk pertumbuhan bakteri. Selain itu, susu kacang tanah memiliki

kandungan protein sebesar 20 – 30 %. Susu kacang tanah memiliki kandungan mineral antara 2 – 5 % (Stella, 2019). Bakteri *Weissella confusa* diketahui memiliki kemampuan yang tinggi dalam memproduksi EPS. *Weissella* yang diisolasi dari gandum telah dilaporkan dapat menghasilkan eksopolisakarida jenis dekstran (Jin, 2019).

EPS yang dihasilkan oleh bakteri memiliki karakteristik yang berbeda berdasarkan jenis maupun strain bakteri penghasilnya, sehingga perlu untuk dikaji dan dilakukan karakterisasi. Karakterisasi EPS dapat dilakukan secara fisik maupun kimia. Karakterisasi fisik terkait penggunaan EPS di dalam industri makanan yang dapat digunakan sebagai pengental, stabilisator (Kavitake, dkk., 2016). Karakterisasi secara fisik antara lain indeks kelarutan air dan *Water Holding Capacity* (WHC). Sedangkan karakterisasi secara kimia antara lain kadar gula total, analisis kadar protein, dan analisis gugus fungsi menggunakan FTIR (Zhou, 2017). Analisis kadar gula total dilakukan untuk mengetahui kemurnian EPS. Analisis kadar protein dilakukan untuk mengetahui kandungan protein yang terikat pada EPS (Chalim, 2021)

EPS dari bakteri merupakan salah satu bukti kekuasaan Allah yang sesuai dengan firman Allah SWT pada ayat Al-Qur'an surat Saba ayat 22:

قُلْ ادْعُوا الَّذِينَ زَعَمْتُمْ مِّنْ دُونِ اللَّهِ لَا يَمْلِكُونَ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ فِي السَّمَاوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَمَا لَهُمْ فِيهِمَا مِنْ شِرْكٍَ وَمَا لَهُ مِنْهُمْ مِّنْ ظَهِيرٍ

Artinya: “Katakanlah (Muhammad), “Serulah mereka yang kamu anggap (sebagai tuhan) selain Allah! Mereka tidak memiliki (kekuasaan) seberat zarah pun di langit dan di bumi, dan mereka sama sekali tidak mempunyai peran serta dalam (penciptaan) langit dan bumi dan tidak ada di antara mereka yang menjadi pembantu bagi-Nya.” (Q.S Saba: 3).

Menurut tafsir ilmi tentang Jasad Renik dalam Perspektif Al-Quran dan Sains (2015) “kata *zarrah* pada ayat ini berarti benda yang sangat kecil. Melalui ayat ini Allah mengajari manusia bahwa hanya Dia-lah yang mengatur kehidupan jasad renik”. (Kementrian Agama, 2015)

Bakteri yang berukuran hanya 0,2 – 0,5 mikron tidak lepas dari genggaman Allah SWT. Begitu juga dengan bakteri asam laktat *Weissella confusa* yang diberi peran dalam menghasilkan EPS. Banyaknya penggunaan EPS di dalam industri seperti industri makanan maka perlu dilakukan pengujian toksisitas untuk mengetahui bahwa EPS yang dihasilkan aman untuk digunakan. EPS dari *Weissella confusa* memiliki potensi antikanker, anti radang, anti bakteri, anti jamur, dan daya tahan tubuh (Kamboj, dkk., 2015). Salah satu skrining awal uji toksisitas untuk mengetahui potensi antikanker yaitu menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Dalam skrining efek antikanker, BSLT digunakan untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang mengindikasikan kemampuan senyawa tersebut dalam menyebabkan kerusakan terhadap larva udang (Rajabi, 2015). Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Pengujian ini merupakan tahap awal untuk mengetahui potensi antikanker suatu senyawa, dimana hasil dari BSLT dapat dilanjutkan untuk uji sitotoksik menggunakan biakan sel kanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, sampel yang relatif sedikit (Purwanto, 2015). Pada metode ini nilai mortalitas ditentukan dengan analisa untuk menentukan nilai toksisitas menggunakan *Lethal Concentration* (LC₅₀) (Ningdyah, dkk., 2015). Penelitian Agustini (2017) menunjukkan bahwa aktivitas biologis dari eksopolisakarida dan endopolisakarida dari ekstrak *Porphyridium cruentum* yang memiliki LC₅₀

513.175 mg/L dan 521.823. mg/L dan memiliki potensi sebagai senyawa antikanker.

EPS telah digunakan dalam industri makanan, dan EPS dari BAL memiliki potensi sebagai antikanker. Menurut Abdelnasser, dkk (2017) dalam penelitiannya EPS memiliki nilai toksisitas yang tinggi sehingga dapat melawan sel kanker HepG2 (*hepatocellular carcinoma*). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan produksi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dari susu kacang tanah kemudian dilakukan karakterisasi secara fisik dan kimia. Untuk mengetahui toksisitas EPS dilakukan uji toksisitas dengan metode BSLT. Dimana metode BSLT ini memiliki korelasi terhadap uji antikanker. Metode BSLT dilakukan dengan menggunakan larva *Artemia salina* L. yang dimasukkan ke dalam vial berisi pengenceran larutan EPS dengan perbedaan konsentrasi.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana karakteristik EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B ?
2. Bagaimana hasil uji toksisitas EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dengan metode BSLT?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui hasil karakterisasi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B.
2. Untuk mengetahui hasil uji toksisitas EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini antara lain :

1. Bakteri yang digunakan untuk produksi EPS merupakan bakteri *Weissella confusa* B hasil isolasi susu kacang tanah dari penelitian sebelumnya.
2. Media produksi EPS yaitu MRS *broth* pH 8 dengan penambahan konsentrasi sukrosa 10 %
3. Karakterisasi EPS secara fisik meliputi indeks kelarutan air dan *water holding capacity* (WHC)
4. Karakterisasi EPS secara kimia meliputi analisa total gula, kadar protein dan gugus fungsi eksopolisakarida menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR)
5. Konsentrasi larutan EPS yang dilakukan uji toksisitas dengan metode BSLT yaitu 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pembaca mengenai hasil produksi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dan karakterisasinya.
2. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi hasil uji toksisitas EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang dapat menguraikan karbohidrat menjadi senyawa asam (Salminen, 2012). Bakteri asam laktat (BAL) tergolong dalam bakteri gam positif dengan uji katalase negatif serta dapat tumbuh pada kondisi tanpa oksigen. (Hardiningsih, dkk., 2006). BAL digunakan dalam proses fermentasi makanan dan minuman. Komponen kompleks dalam bahan makanan diubah menjadi komponen yang lebih sederhana oleh BAL ketika proses fermentasi. BAL menghasilkan pengasaman melalui sintesis asam organik. Penggunaan asam laktat dalam bahan makanan dapat memperpanjang umur makanan (Isas, dkk. 2020)

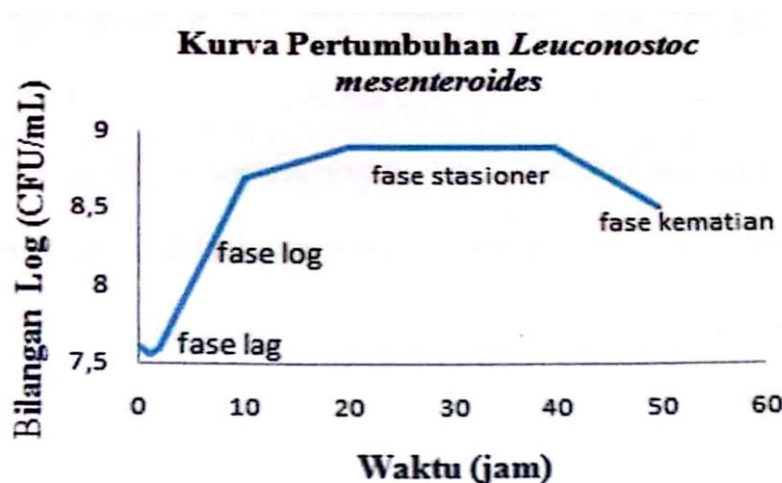
BAL merupakan jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba, dan hasil metabolisme lain yang memberikan efek positif pada tubuh (Nurhasanah, dkk., 2020). BAL umumnya bersifat mesofilik namun ada beberapa jenis yang dapat tumbuh pada suhu 5 – 45°C. BAL memiliki pH 3,8 (Widodo, dkk., 2017). Pemanfaatan BAL telah banyak dilakukan sejak lama, salah satunya adalah untuk proses fermentasi makanan. Peranan BAL dalam industry makanna antara lain untuk memperbaiki citra rasa dan pengawetan produk hasil fermentasi (Fitria, 2017).

Selain digunakan dalam pengawetan makanan BAL juga menghasilkan senyawa antibakteri antara lain hidrogen peroksida dan bakteriosin (Widodo, dkk., 2017). BAL memiliki sifat tidak patogen dan aman untuk dikonsumsi oleh

manusia. BAL berpotensi sebagai probiotik yang dapat menambah kekebalan tubuh manusia. Beberapa jenis dari BAL dapat mensintesis senyawa metabolit sekunder berupa ekstraseluler polisakarida atau eksopolisakarida (EPS) (Mutia, 2013).

BAL memiliki beberapa fase dalam pertumbuhannya antara lain ; fase adaptasi, fase logaritmik atau fase eksponensial dan fase stationer. Fase adaptasi terjadi pada jam ke 0 hingga jam ke 3, Dimana pada fase tersebut BAL menyesuaikan diri dengan lingkungan (media). Pada fase logaritmik mikroba membelah dengan cepat dan konstan, fase logaritmik terjadi hingga jam ke 18. Selanjutnya hingga akhir waktu pertumbuhan jam ke -30 sel isolate bakteri memasuki fase stasioner. Pada fase stationer jumlah bakteri yang hidup sama dengan jumlah bakteri yang mati dikarenakan nutrisi yang habis pada media untuk pembelahan sel (Yuliana , 2008).

Penelitian Karlinda (2020), pada bakteri *Leuconostoc mesenteroides* mengalami fase eksponensial awal setelah 2 jam inkubasi dan meningkat hingga jam ke 18 inkubasi. Kemudian fase stationer hingga jam ke 24.



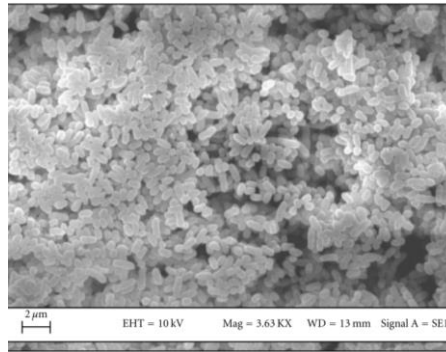
Gambar 2.1 Kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* (Abid, dkk., 2017)

2.2 *Weissella Confusa*

Weissella confusa merupakan salah satu strain *Weissella sp.* Strain *Weissella* telah banyak dilakukan isolasi dari berbagai sumber seperti sayuran segar, susu, atau daging (Bjorkroth, dkk., 2002). Berdasarkan Taxonomic Outline of the Prokaryotes, *Weissella confusa* diklasifikasikan sebagai berikut:

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

Weissella confusa adalah bakteri jenis Gram-positif, katalase-negatif, dan non endospora berbentuk batang. (Kamboj, dkk., 2015). Spesies *Weissella* telah digunakan dalam produksi berbagai makanan dan minuman yang difermentasi dan akhir-akhir ini digunakan sebagai probiotik. *Weissella confusa* memiliki potensi antikanker, anti radang, anti bakteri, anti jamur, dan daya tahan tubuh (Kamboj, dkk., 2015). *Weissella confusa* telah banyak terlibat dalam fermentasi asam laktat dan fermentasi minuman beralkohol dan baru-baru ini menarik perhatian akademisi karena memiliki kemampuan yang tinggi dalam produksi EPS. EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* hasil isolasi dari gandum berupa dekstran. (Jin, 2019)



Gambar 2.2 Bentuk *Weissella confusa* (Shukla dan Goyal, 2011)

2.3 Eksopolisakarida

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polimer gula atau polisakarida yang disekresikan oleh mikroba ke luar sel, polimer ini merupakan salah satu polimer yang dapat disintesis oleh BAL. Umumnya EPS terdiri dari monosakarida dan beberapa senyawa non-karbohidrat seperti asetat, piruvat, dan fosfat, selain itu EPS juga dapat memproduksi biomolekul seperti protein, asam nukleat, lipid. EPS memiliki beberapa peran terhadap bakteri penghasilnya antara lain ; perlindungan sel bakteri penghasilnya dari kekeringan, mempertahankan fungsi seluler primer dan aktivitas anti bakteri terhadap patogen, kemampuan pembentuk gel dan degradasi polutan (Nouha, dkk., 2012)

Berdasarkan komponen penyusun dan mekanisme biosintesisnya terdapat dua jenis EPS yang dihasilkan BAL yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Homopolisakarida (HoPS) diproduksi di media ekstraselular dari satu tipe monosakarida. Homopolisakarida merupakan polimer yang terdiri atas satu macam monosakarida misalnya glukosa atau fruktosa saja. Contoh dari HoPs adalah *dextran*, *pullulans*, *levans*. Sedangkan heteropolisakarida (HePS) diproduksi secara intraselular dari beberapa monosakarida dan kemudian diekspor dari sel . HePS biasanya mengandung 2 – 4 macam monosakarida. (Guerin, dkk., 2020).

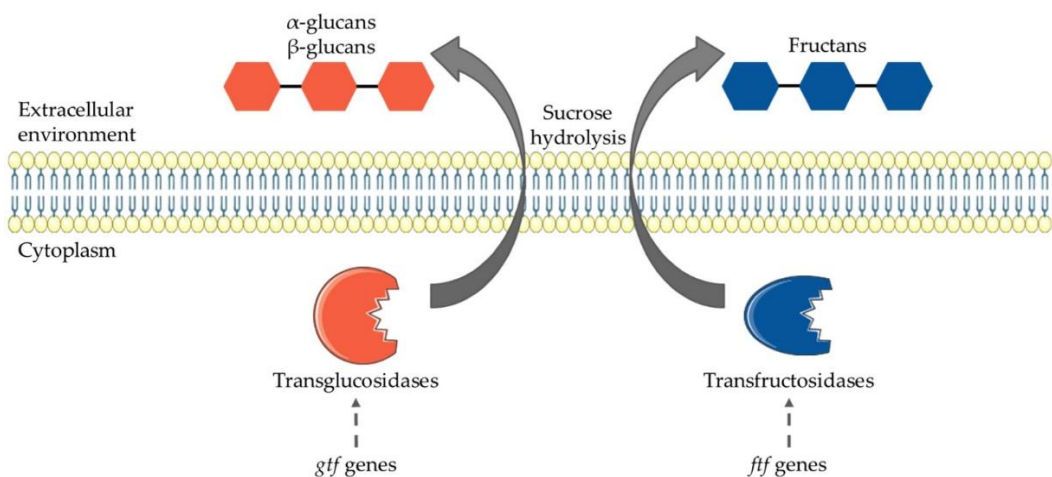
Sintesis dari HoPS berbeda dengan HePS, yaitu polimer diproduksi pada membran sitoplasma dengan memanfaatkan prekursor yang dibentuk dalam sel. Dalam sintesis HePs gula nukleotida memiliki peran penting yang kemudian dikonversi sebagai halnya dalam polimerisasi monosakarida (Malaka, 2005). Pada HePs sifat yang dimiliki berbeda – beda tergantung dengan monosakarida penyusun dan ikatan antar monosakarida. HePs disintesis menggunakan prekursor polimerase yang dibentuk dalam sel sitoplasma. HePS diproduksi oleh spesies *Lactobacillus* yang terdiri dari unit berulang dari tujuh monosakarida dengan glukosa, galaktosa dan rhamnosa sebagai gula utama (Guerin dkk, 2020).

2.4 Biosintesis Eksopolisakarida

Biosintesis pada EPS dilakukan pada fase pertumbuhan yang berbeda. Terdapat dua prinsip dasar pada proses sintesis pada EPS yaitu tempat dan prekursor alami. Sintesis pada heteropolisakarida berbeda dengan sintesis monosakarida yang biosintesisnya pada membran sitoplasma dengan memanfaatkan prekursor pada intraseluler. Pada heteropolisakarida gula nukleotida memiliki peran penting dalam sintesis sebagai interkonversi monosakarida dan disakarida yang dibutuhkan untuk polimerisasi menjadi polisakarida (Cerning, dkk., 1990).

Pada *Weissella* biosintesis homopolisakarida (HoPS) 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. Glukan sukrase memiliki ciri kemampuannya untuk memutus ikatan α -glikosidik antara glukosa dan bagian monosakarida lain menggunakan domain katalitik, inti katalitik

mengandung tiga domain yang dilampirkan dua domain yaitu domain IV dan V. Beberapa dari domain tersebut terdiri dari dua segmen rantai polipeptida putus-putus dan menghasilkan struktur U (Guerin, dkk., 2020).



Gambar 2.3 Jalur biosintesis HoPS (Guerin, dkk., 2020)

2.5 Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Produksi Eksopolisakarida

Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi eksopolisakarida dalam efisiensi fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi inokulum, dan media (Velasco, dkk., 2006).

1. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi siklus mikroba dan faktor abiotik yang menentukan keberhasilan fermentasi. Menurut Shukla dan Arun (2011) bakteri *Weissella confusa* mencapai aktifitas optimum pada suhu 25°C. *Weissella confusa* KR780676 mampu memproduksi EPS sebesar 17,2 g/L pada media MRSB dengan substitusi 2% sukrosa yang diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C (Kavitake, dkk., 2016).

2. pH

pH merupakan salah satu parameter penting dapat yang mempengaruhi total bakteri asam laktat dalam medium fermentasi, total asam laktat dan total EPS kasar yang dihasilkan (Zubaidah, dkk., 2008).. Berdasarkan penelitian Zisu dan Shah (2003), produksi eksopolisakarida dari bakteri *Streptococcus thermophilus* pada pH 5,5 dengan 20 suplemen whey protein concentrate mencapai 1029 mg/L, hasil penelitian Whongsuphachat dkk, (2010) produksi eksopolisakarida dari *Weissella confusa* dengan tambahan sukrosa 2% pada pH 7 menghasilkan 18,08 g/L.

3. Konsentrasi Inokulum

Inokulum adalah biakan bakteri yang dimasukkan ke dalam media cair yang siap digunakan untuk fermentasi. Kadar inokulum pada fermentasi menunjukkan pengaruh terhadap produk fermentasi, seperti konsentrasi inokulum 10 mL/L dapat menghasilkan eksopolisakarida sebesar 650 mg/L (Haroun, dkk., 2013).

4. Media

Pemilihan jenis media dapat mempengaruhi produksi eksopolisakarida karena rantai utama dari polimer ini adalah glukosa Jin, dkk (2019) memproduksi eksopolisakarida dari isolat *Weissella confusa* VP30 menggunakan media MRSB dengan penambahan sukrosa 10% (b/v) menghasilkan rendemen eksopolisakarida sebesar 59,99 g/L, sedangkan pada penelitian Kavitate dkk (2016) strain *Weissella confusa* KR780676 menggunakan media MRSB termodifikasi dengan 2% sukrosa menghasilkan rendemen 17,2 g/L .

Tabel 2.1 Produksi eksopolisakarida dan stain *Weissella confusa* yang dihasilkan

Strain	Sumber	Media	Tipe EPS	Produksi (g/L)	Metode
<i>W. confusa</i> VP30	Feses anak -anak	MRS + 10 % sukrosa	Dekstran	60 ± 0,9	Asam sulfat fenol
<i>W. confusa</i> KR780676	Adonan idli	MRS + 2 % sukrosa 30 C 48 jam	Galaktan	17,2	Dry Weights
<i>W. confusa</i> NH02	Nham	MRS + 4% sukrosa 37 C 12 jam	-	18,08	

Sumber : Jin, dkk.,2019

2.6 Karakterisasi Eksopolisakarida

2.6.1 Karakterisasi Secara Fisika

Karakterisasi secara fisika untuk menentukan sifat eksopolisakarida berdasarkan sifat kelarutannya, kadar kelarutan, dan daya ikat air. Kelarutan eksopolisakarida dapat dipengaruhi oleh panjang rantai utama dan cabang, susunan ikatan glikosidik, struktur skunder dan tersier, eksopolisakarida mampu larut dalam air dan sifatnya yang mengikat air dikarenakan adanya struktur matriks berpori yang mampu menahan sejumlah air dengan adanya ikatan hidrogen (Zhou dkk, 2017).

2.6.2 Karakterisasi Secara Kimia

2.6.2.1 Kadar Gula Total Eksopolisakarida Metode Sulfat Fenol

Metode yang digunakan untuk mengetahui kadar gula salah satunya adalah metode sulfat-fenol. Gula merupakan golongan karbohidrat yang mana ketika ditambahkan asam kuat dan dipanaskan akan mengalami reaksi pembentukan derivat furan seperti furanaldehid dan hidroksimetil furaldehida. Reaksi yang terjadi diawali dengan dehidrasi dan diikuti dengan pembentukan turunan furan (Brummer, dkk., 2005). Turunan furan selanjutnya akan bereaksi dengan fenol

menghasilkan warna jingga kekuningan yang stabil, sehingga dapat dideteksi oleh spektrofotometer UV-Vis (Albalasmeh, dkk., 2013)

Metode sulfat fenol banyak digunakan dalam analisis kadar gula total karena kesensitifannya dan tidak rumit (Masuko, dkk., 2005). Meskipun mampu mendeteksi banyak jenis karbohidrat, tetapi metode ini menunjukkan absorptivitas yang berbeda di setiap jenis karbohidrat. Intensitas warna jingga kekuningan yang terbentuk berbanding lurus dengan banyaknya fenol yang ditambahkan saat reaksi, sehingga saat konsentrasi fenol naik maka absorbansi akan meningkat pula (Dubois, dkk., 1956). Lewkowski (2001) menyatakan bahwa pemberian fenol pada metode ini dipengaruhi oleh konsentrasi, waktu, dan volume yang ditambahkan serta pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 490 nm.

2.6.2.2 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida

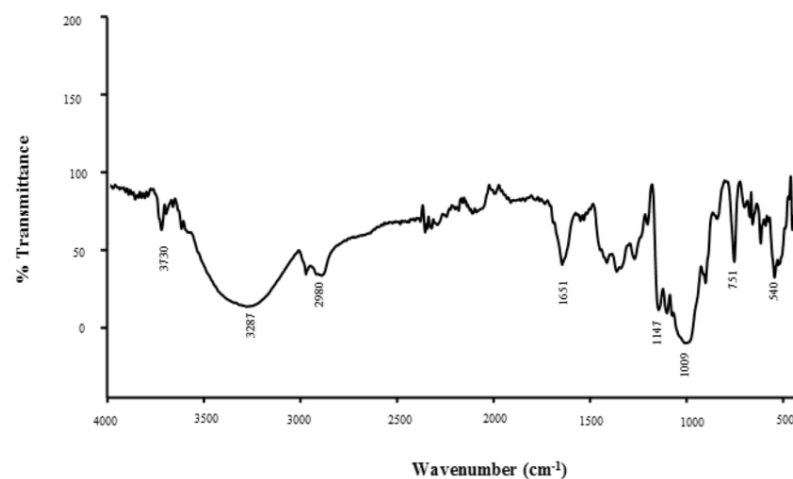
Kadar protein pada EPS ditentukan menggunakan metode lowry. Metode lowry secara prinsip menggunakan reagen pendeteksi Folin-ciocalteu, reagen ini biasa digunakan untuk mendeteksi gugus-gugus fenolik. Dalam keadaan basa, ion tembaga divalent (Cu^{2+}) dengan ikatan peptida yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen (Cu^+) (Bintang, 2010). Reagen Folin-Ciocalteu dapat mendeteksi residu oksidasi dimana gugus fenolik tirosin akan mereduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat yang terdapat pada reagen tersebut menjadi tungsten dan molibden berwarna biru, hasil reduksi tersebut dapat dianalisa lebih lanjut dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. (Sudarmadji, 1981)

Kadar protein dapat ditentukan dengan membaca kurva standar yang dibuat dengan larutan protein murni yang telah diketahui kadar proteinnya seperti Bovine Serum Albumin (BSA) yang memiliki rentang konsentrasi tertentu,

kemudian konsentrasi sampel berprotein berada pada rentang tersebut dengan konsentrasi yang semakin naik (Sudarmadji, 1981)

2.6.3 Analisa Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan FTIR

Penentuan struktur eksopolisakarida dapat dilakukan dengan FTIR dengan mengetahui gugus fungsi khas pada struktur dengan menggunakan sinar infra merah (Setianingsih, 2020). Adanya gugus fungsi ditandai dengan terbentuknya puncak serapan sehingga dapat diidentifikasi jenis senyawa sampel dengan menghitung dan membandingkan panjang gelombang pada tiap puncak..Penelitian Adesulu- Dahunsi (2018) diketahui bahwa gugus fungsi eksopolisakarida oleh *Weissella confusa* yang khas diantaranya gugus O-H hidroksil pada 3287 cm^{-1} . C-H stretching pada 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} .



Gambar 2.4 Spektra FTIR EPS oleh *Weissella confusa* (Adesulu-Dahunsi, 2018)

2.7 Uji Toksisitas Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Toksisitas menurut ilmu kimia merupakan kerusakan yang ditimbulkan oleh suatu bentuk aksi kimia yang mempunyai bentuk dan variasi yang luas. (Palar, 1994). EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* dalam perspektif islam merupakan salah satu tanda kebesaran Allah SWT pada firman Allah Q.S Asy – Syuara ayat 80:

وَإِذَا مَرَضْتُ فَبُهِدْتُ

Artinya: “Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku.” (Q.S Asy-Syu’ara’ :80)

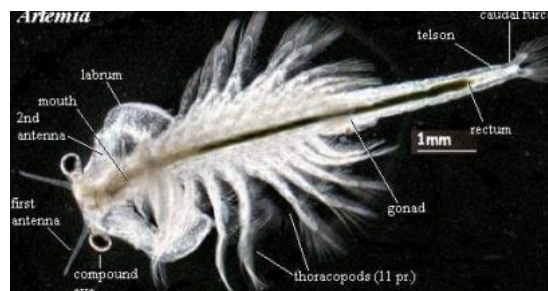
Menurut tafsir ilmi tentang Jasad Renik dalam Perspektif Al-Quran dan Sains (2015) “Ayat di atas menyatakan bahwa Allah yang menciptakan penyakit, dan Allah pula yang menciptakan atau menyediakan obatnya. Jelas sekali bahwa Allah yang menciptakan makhluk-makhluk renik yang mampu menimbulkan penyakit, namun Allah juga yang menciptakan jasad renik sebagai penghasil obatnya” (Kementrian Agama,2015)

Beberapa jasad renik yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit antara lain : *Mycobacterium tuberculosis* penyebab Tuberculosis (TBC), *Corynebacterium diphtheriae* yang dapat menyebabkan penyakit difteri. (Kementrian Agama, 2015). Namun, disisi lain ada bakteri yang dapat berguna sebagai antibiotik ataupun memiliki potensi antikanker seperti Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL merupakan salah satu bakteri yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder berupa eksopolisakarida (EPS).

EPS yang dihasilkan oleh BAL diciptakan oleh Allah SWT memiliki manfaat dalam bidang kesehatan. EPS mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen (Patten, 2015). EPS memiliki manfaat sebagai imunomodulator yaitu zat yang mampu menstimulasi mekanisme imunitas pada tubuh (Mundiri, 2020). Menurut

Kamboj (2015) EPS memiliki manfaat salah satunya antitumor, dimana atas kuasa Allah EPS dapat menghambat zat – zat yang menghambat sel tumor. Salah satu skrining untuk antitumor yaitu dengan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrim Lethality Test* (BSLT).

Metode BSLT merupakan pengujian dengan larva *Artemia salina* Leach. Pengembangan metode ini didasarkan pada sifat khas dari larva udang yang dapat menerima segala jenis zat dan bahan tanpa seleksi terlebih dahulu, pengerjaannya mudah, cepat serta menggunakan sampel yang relatif sedikit. Metode ini dapat digunakan sebagai metode awal untuk menemukan komponen antikanker (Mclaughlin, 1991 ; Santi, 2009)



Gambar 2.5 Morfologi *Artemia Salina* (Nybakken, 1992)

Pengujian toksisitas dengan metode BSLT dilakukan dengan mengamati kematian larva udang *Artemia salina* Leach dimana respon kematiannya merupakan pengaruh dari senyawa yang diuji. Ciri umum untuk mengetahui kematian larva udang adalah jika larva udang tidak menunjukkan tanda-tanda pergerakan selama 10 detik observasi. Mekanisme kematian larva udang berdasarkan senyawa target yang merupakan senyawa toksik bertindak sebagai racun perut, ketika senyawa toksik ini masuk ke dalam perut larva udang, organ pencernaannya akan terganggu dan akan menghambat reseptor perasa pada bagian

mulut larva. Hal tersebut mengakibatkan larva udang gagal menerima stimulus rasa dan tidak dapat mengenali makanannya sehingga larva udang akan mati kelaparan (Anwar dkk, 2014). Hasil yang diperoleh kemudian dihitung nilai LC₅₀ (median lethal concentration) dari ekstrak uji yaitu jumlah konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan 50% larva udang mati setelah masa inkubasi selama 24 jam (Fadli dkk, 2019).

Tingkat ketoksikan suatu ekstrak ditentukan dengan menghitung nilai LC₅₀. LC₅₀ adalah konsentrasi sampel yang dibutuhkan dalam mematikan larva uji sebanyak 50% (Wahyuni dan Loren, 2015). Nilai LC₅₀ menurut Meyer dkk (1982) ditunjukkan pada tabel 2.8:

Tabel 2.2 Nilai LC₅₀

Golongan	Nilai LC₅₀ (ppm)
Tidak Toksik	>1000
Toksik	30-1000
Sangat Toksik	<30

Sumber : Djide, 2019

Berdasarkan tabel 2.2 ekstrak uji dikatakan toksik jika nilai LC₅₀ < 1000 ppm sedangkan untuk senyawa murni jika nilai LC₅₀ < 200 ppm dapat dimanfaatkan sebagai antikanker. Untuk ekstrak maupun fraksi senyawa target yang memiliki nilai LC₅₀ > 0-30 ppm dapat dimanfaatkan sebagai antikanker, LC₅₀ > 30-200 ppm dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, dan LC₅₀ > 200-1000 ppm dapat dimanfaatkan sebagai pestisida (Rizqillah, 2013). Menurut Tampungan dkk (2011) untuk mendapatkan presentase mortalitas atau kematian kumulatif dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Larva artemia yang mati}}{\text{jumlah Larva artemia yang diuji}} \times 100\% \dots\dots(2.7)$$

Angka kematian larva *Artemia salina* Leach. diperoleh dengan membuat grafik persamaan regresi linier LC_{50} dengan sumbu y adalah % mortalitas dan sumbu x adalah deret konsentrasi. Suatu ekstrak atau suatu sampel uji dianggap toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, semakin kecil nilai LC_{50} -nya semakin tinggi tingkat toksisitasnya (Yudiati dkk, 2011). Indikator suatu ekstrak sangat toksik (berpotensi sebagai antikanker) jika memiliki nilai LC_{50} kurang dari 30 ppm (Prawidiharjo, 2014). Penelitian Agustini dan Kusmiati (2017) meneliti mengenai potensi Endo-Eksopolisakarida dari *Porphyridium cruentum* (S. F. Gay) Nageli sebagai antioksidan (DPPH) dan toksisitas biologis (BSLT), mikroalga merah ini diketahui dapat memproduksi EPS dan juga sebagai antioksidan, didapatkan hasil toksisitas BSLT nilai LC_{50} sebesar 513,175 mg/L.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berjudul “Karakterisasi Eksopolisakarida yang Dihasilkan oleh *Weissella confusa* B Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan pada bulan Agustus 2023 – November 2023 di Laboratorium Biokimia, Progam studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi *laminar air flow*, neraca analitik, *hot plate*, autoclave, shaker, sentrifugasi, mikropipet, pipet ukur 5 mL dan 10 mL, labu ukur 5 mL, 50 mL, dan 250 mL, botol semprot, jarum ose, *vortex mixer*, *shaker*, Erlenmeyer 100 mL, 250 mL, dan 500 mL, tabung reaksi, cawan petri, *beaker glass* 500 mL, inkubator, batang pengaduk, *blue tip*, *yellow tip*, tabung sentrifugasi, termometer, rak tabung reaksi, gelas ukur 100 mL, pipet tetes, spatula, *stirrer*, gelas ukur 10 mL, aluminium foil, kapas, plastik tahan panas, bunsen, korek api, bola hisap, lemari pendingin, oven, akuarium kaca, vial 10 mL, aerator, lampu bohlam, spektrofotometer UV-VIS, *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: isolat bakteri *Weissella confusa* B, alumunium foil, *De Man Rogosa Sharpe* Agar (MRSA) Hi-media, *De Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) Hi-media, NaOH (Merck), akuabides steril, spiritus, NaCl, etanol absolut (Merck), alkohol 70%, fenol 5 %, asam sulfat (H₂SO₄) 98%, asam trikloroasetat (TCA) 4%, glukosa, sukrosa, kapas, akuademin (water one), air laut sintetik, Larva *Artemia salina*.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, tahap pertama yaitu karakterisasi EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B secara fisika dan kimia. Karakterisasi secara fisika meliputi indeks kelarutan EPS di air, dan uji daya ikat air. Karakterisasi secara kimia meliputi uji total gula, uji kadar protein, dan analisis gugus fungsi EPS menggunakan FTIR. Tahap kedua yaitu uji toksisitas EPS dengan metode BSLT menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan satu faktor yaitu konsentrasi EPS antara lain 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm. Larva uji yang digunakan pada BSLT menggunakan larva *Artemia Salina Leach*. Dan setiap perlakuan dilakukan sebanyak lima kali pengulangan. Kemudian dilakukan analisis data dengan menentukan LC₅₀.

Tabel 3.1 Analisis uji toksisitas eksopolisakarida metode BSLT

Konsentrasi EPS (ppm)	Mortalitas				
	1	2	3	4	5
125					
250					
500					
1000					
2000					

3.4 Tahapan Penelitian

Adapun tahapan- tahapan penelitian ini antara lain:

1. Sterilisasi alat
2. Preparasi bahan
3. Produksi Eksopolisakarida
4. Ekstraksi Eksopolisakarida
5. Karakterisasi Eksopolisakarida secara Fisik dan Kimia
6. Uji Toksisitas Eksopolisakarida dari *Weissella confusa B.* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)
7. Analisis Data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat (Nurhidayati,2022)

Alat gelas dan bahan yang akan digunakan meliputi tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur 100 mL, dan alat gelas lainnya dicuci kemudian dikeringkan. Kemudian dibungkus menggunakan aluminium foil, lalu dibungkus plastik tahan panas, Dilakukan sterilisasi di dalam *autoclave* pada suhu 121 °C pada tekanan 1 atm selama 30 menit.

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Pembuatan Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) (Chalim, 2021)

Media MRSA (Hi-media) ditimbang sebanyak 6,52 g dan dihomogenkan dengan 100 mL akuademin, campuran dipanaskan sampai mendidih, kemudian diambil 5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup kapas, serta dibungkus menggunakan plastik tahan panas dan diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit

dan tekanan 15 psi. Kemudian didinginkan dalam keadaan miring hingga memadat dan dimasukkan ke dalam kulkas.

3.5.2.2 Pembuatan Media *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) & sukrosa 10 % (Chalim,2021)

Media MRSB untuk inokulum dibuat dengan menimbang 5,52 g media MRSB, kemudian ditambahkan akuademin 100 mL dan dipanaskan. Media dipindahkan pada beberapa botol kaca steril, kemudian ditutup dengan kapas dan dimasukkan dalam plastik tahan panas kemudian disterilkan. Media untuk produksi dibuat dengan menimbang 16,56 g MRSB (Hi- media), ditambahkan 300 mL akuademin dan dipanaskan. Ditunggu hingga dingin, kemudian diatur pH nya menjadi pH 8. Erlenmeyer ditutup dengan kapas. Sukrosa untuk produksi ditimbang sebanyak 25 g (10%) di botol kaca. Kemudian Erlenmeyer berisi MRSB 300 ml dan sukrosa 10% dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan disterilkan secara terpisah.

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

Regenerasi bakteri dilakukan dengan cara diambil 2 ose biakan *Weissella confusa* B dan dimasukkan ke dalam media MRS agar miring, selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Hasil regenerasi akan digunakan untuk pembuatan inokulum stock *Weissella confusa* B

3.5.4 Pembuatan Inokulum *Weissella confusa* B. (Ma'unatin. et.al .,2020)

Diambil 2 ose *Weissella confusa* B dan dimasukkan dalam 25 mL MRSB, kemudian dishaker selama 18 jam dengan kecepatan 100 rpm. Diukur OD nya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 600 nm, kemudian disetarakan nilai OD nya 0,5.

3.5.5 Produksi Eksopolisakarida (Xu, 2010)

Media MRSB 300 mL pH 8 diambil 250 mL ditambahkan ke botol kaca steril berisi sukrosa 10%, kemudian dilarutkan dan ditandabatkan di labu ukur steril 250 mL. Produksi EPS dilakukan dengan menambahkan 12.5 mL (5% v/v) Inokulum *Weissella confusa* B OD 0,5 ke dalam MRSB 250 mL pH 8 konsentrasi sukrosa 10% , kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dan dishaker pada kecepatan 100 rpm.

3.5.6 Ekstraksi Eksopolisakarida (Chalim,2021)

Media hasil fermentasi 24 jam dituang 100 mL ke botol kaca berisi asam triklorasetat 4 %, kemudian dishaker selama 30 menit pada kecepatan 100 rpm. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang mengandung EPS diambil sebanyak 95 ml dan ditambah etanol dingin 100% (2 kali volume supernatan) dan dibiarkan pada suhu 4°C selama 24 jam. Endapan yang didapat dipisahkan dari filtrat, kemudian dikeringkan pada temperatur 60 °C selama 4 jam, dimana setiap jam ditimbang berat kering sampai konstan. Kadar EPS kering ditentukan dengan menggunakan Persamaan 3.1

$$\text{Rendemen (g/L)} = \frac{\text{berat EPS kering (gr)}}{\text{volume (L)}} \dots\dots\dots 3.1$$

3.5.7 Karakterisasi Eksopolisakarida secara Fisik dan Kimia

3.5.7.1 Indeks Kelarutan Air dan Daya Ikat Air Eksopolisakarida (Zhou,2017)

Ditimbang EPS sebanyak 0,05 g dalam gelas beaker, dilarutkan ke dalam 2 mL aquademin dan distirer dengan kecepatan 125 rpm selama 24 jam, kemudian

disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Lalu diambil 0,5 mL filtrat dan ditambahkan etanol 1,5 mL, dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit dan diambil endapannya kemudian dikeringkan pada temperatur 105 °C selama 3 jam hingga berat konstan.

$$\text{Kelarutan (\%)} = \frac{(\text{Berat EPS dan cawan} - \text{berat cawan})\text{mg}}{\text{berat awal EPS}} \times 100 \dots\dots\dots 3.2$$

Pengujian daya ikat air dilakukan dengan menimbang 0,05 g EPS yang dilarutkan ke dalam 2 mL aquademin dan divorteks selama 1 menit, kemudian dilakukan sentrifugasi selama 25 menit dan dibuang filtratnya, Lalu diambil endapannya dan dibekukan. Ditaruh pada kertas saring dan dibiarkan kering. Air yang terserap dalam kertas saring ditimbang massanya.

$$\text{Daya Ikat Air (\%)} = \frac{\text{berat EPS menyerap air}}{\text{berat awal EPS}} \times 100 \dots\dots\dots 3.3$$

3.5.7.2 Uji Kadar Gula Total dengan Metode Asam Sulfat-Fenol

3.5.7.2.1 Pembuatan Kurva Standart Glukosa (Dubois, dkk., 1956)

Dibuat larutan induk glukosa 1000 ppm dengan menimbang glukosa 0,1 g dan ditera sampai 100 mL, kemudian dibuat konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm, diambil masing-masing 2 mL larutan glukosa kemudian ditambahkan 1 mL fenol 5% dan divorteks selama 1 menit, ditambahkan 5 mL asam sulfat dengan cepat, kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit dan didiamkan selama 10 menit kemudian diukur nilai absorbansinya pada λ 490 nm.

3.5.7.2.2 Analisa Kadar Glukosa Total Eksopolisakarida (Dubois, dkk 1956)

Ditimbang EPS 0,01 g dan ditera sampai 250 mL, diambil 2 mL kemudian ditambahkan 1 mL fenol 5% dan divortek, kemudian ditambahkan asam sulfat dan dibiarkan selama 10 menit, setelah itu dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit dan diukur nilai absorbansinya pada λ 490 nm.

3.5.7.3 Analisa Kadar Protein EPS

3.5.7.3.1 Pembuatan Kurva Standar *Bovine Serum Albumin* (Adesulu,2018)

Ditimbang 0,01 g BSA dan dilarutkan pada 10 mL akuademin, dibuat konsentrasi 20; 40; 60; 80; dan 100 ppm. Diambil 1 mL masing-masing konsentrasi, ditambahkan 5 mL reagen lowry, divorteks dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 0,5 mL folin 1N divorteks, diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, diukur absorbansinya pada λ 660 nm.

3.5.7.3.2 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida (Adesulu,2015)

Analisa kadar protein EPS dilakukan menggunakan metode Lowry. Ditimbang 0,02 g EPS, dilarutkan pada 5 mL aquademin, diambil 1 mL larutan EPS dan ditambahkan 5 mL reagen lowry, divorteks dan dibiarkan selama 10 menit, ditambahkan 0,5 mL folin 1 N divorteks, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian diukur absorbansinya pada λ 660 nm.

3.5.7.4 Analisa Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan *Fourier Transform Infra Red (FTIR)* (Adesulu, 2018)

Ditimbang EPS 0,01 g ditumbuk sampai halus kemudian dihomogenkan dengan KBr 0,25 g kemudian campuran dicetak menjadi pelet dan diukur menggunakan FTIR.

3.5.8 Uji Toksisitas Ekspolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

3.5.8.1 Preparasi larva udang *Artemia salina* L. (Halimah, dkk., 2010)

Penetasan telur dilakukan dalam wadah kotak menggunakan air media air laut buatan. Kemudian dimasukkan larva telur udang *Artemia Salina* L. secukupnya. Kemudian wadah diberi penerangan dengan cahaya lampu neon 5 watt agar suhu penetasan tetap terjaga pada 25 – 30°C dan dilengkapi aeorator selama 48 jam. Larva akan menetas dalam waktu 48 jam dan siap digunakan untuk uji toksisitas.

3.5.8.2 Uji Toksisitas ekspolisakarida yang dihasilkan oleh *Weisella confusa* (Agustini, 2017)

Larutan stok 5000 ppm dibuat dengan menimbang 0,25 g EPS, kemudian dilarutkan dan ditera dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya larutan EPS 5000 ppm diencerkan hingga konsentrasi 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm menggunakan 10 mL air laut pada setiap vial. Uji toksisitas dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* berumur 48 jam ke dalam vial berisi sampel yang telah diencerkan, kemudian didiamkan dan diamati setelah 24 jam. Dihitung jumlah larva yang mati dengan kriteria standar larva yang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik saat observasi. Dihitung persen mortalitas menggunakan persamaan 3.2

$$\% \text{ Kematian larva} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah larva yang diuji}} \times 100 \% \dots\dots\dots 3.2$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu pada tahap pertama karakterisasi secara fisik berupa kuantitatif. Sedangkan data pada karakterisasi secara kimia berupa absorbansi hasil UV- Vis, hasil spektra FTIR digunakan untuk menentukan gugus fungsi khas dari EPS. Hasil dari tahap kedua yaitu data uji toksisitas dianalisis menggunakan metode analisis probit, pengolahan data dilakukan dengan memasukkan angka kematian (nilai mortalitas) dimana nilai mortalitas merupakan modus dari kelima ulangan, konsentrasi larutan uji, dan total larva udang yang digunakan. Angka kematian dikonversi menjadi nilai probit analisis yang diolah pada software secara otomatis sehingga didapatkan sumbu y adalah nilai probit analisis dan sumbu x adalah log konsentrasi. Keduanya diplotkan dan diolah pada aplikasi Minitab20 sehingga akan didapatkan nilai LC_{50} dalam satuan ppm (Okomoda dkk, 2013).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil penelitian eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* B menghasilkan rendemen sebesar 6, 112 g/L. Hasil karakterisasi EPS antara lain uji kadar gula total sebesar 75, 46 %, uji kadar protein sebesar 0,738 %. Hasil uji FTIR menunjukkan bahwa EPS mengandung gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang 3283 cm⁻¹ , C-H pada 2927 cm⁻¹, C=O pada 1649,13 cm⁻¹, CH/CH₂ pada 1420 cm⁻¹, C-O-C pada 1103 cm⁻¹, ikatan α - glikosidik pada 993 cm⁻¹ dan 920 cm⁻¹.
2. Hasil uji toksistas EPS dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) memiliki nilai LC₅₀ 786 ppm yang berarti bahwa EPS toksik. Suatu senyawa dikatakan toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ < 1000 ppm.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji lebih lanjut terkait potensi eksopolisakarida sebagai antikanker ataupun bioaktivitas lainnya dikarenakan hasil LC₅₀ eksopolisakarida dikategorikan toksik.
2. Perlu dilakukan variasi pH dan konsentrasi sukrosa untuk mendapatkan hasil rendemen yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amari, M. Arango, L., Robert V., Morel, S., Moulis, C. Gabriel B. 2012. Genome sequence of *Weissella confusa* LBAE C39- Isolated from a Wheat Sourdough. *J. Bacteriol.* 194
- Abdelnasser, Salma M., Yahya, Shayma M M., Mohammed, Wafaa F., Asker., Mohsen M S., Shady, Hala M Abu., Manal, G Mahmoud., Gadallah, Magdy A. 2017. Antitumor Exopolysaccharides Derived from Novel Marine Bacillus : Isolation, Characterization, and Biological Activity. *Asian Pasific Journal of Cancer Prevention.* 11,
- Abid, Yousra, Casilo, Angela., Gharsallah, Houda., Joulak, Ichrak., Rosa, Corsaro, Maria Michella, Attiam Hamida, Azabou, Samia. 2017. Production and Structural Characterization of Exopolysaccharides from Newly Isolated Probiotic Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*
- 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
- Adesulu-Dahunsi, A. T., Jeyaram, K., Sanni, A. I., & Banwo, K. 2018. Production of exopolysaccharide by strains of *Lactobacillus plantarum* YO175 and OF101 isolated from traditional fermented cereal beverage. *PeerJ*, 6, e5326
- Agustini, Ni Wayan Sri., Kusmiati. 2017. Potency of Endo-Exopolysaccharide from *Poerphyridium cruentum* (S.F Gray) Nageli as Antioxidant (DPPH) and Biological Toxicity (BSLT). *International Conference on Biological Science*
- Albalasmeh, 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.
- Anindita, Nosa. S. 2020. *Identifikasi Glukosiltransferase (gtf) Penyandi Eksopolisakarida Pada Strain Weisella Confusa Probiotik Asal Air Susu Ibu (Asi)*. Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.
- Anwar, S., Yulianti, Eny., Hakim, A., Fasya, G., Fauziya, B., Muti'ah, R. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Akuades (Suhu Kamar) dan Akuades Panas (700C) Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk). Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Alchemy*. Vol. 3 No 1

- Bachrudin, Z., Astuti, dan Y.S. Dewi. 2000. Isolasi dan seleksi mikroba penghasil laktat dan aplikasinya pada fermentasi. Limbah Industri Tahu. Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi. *Mikrobiologi Enzim dan Bioteknologi*.
- Bamforth, C.W. 2005. Food, fermentation and micro-organisms. Blackwell publishing, Oxford
- Björkroth KJ, Schillinger U, Geisen R, Weiss N, Hoste B, Holzapfel WH, Korkeala HJ, Vandamme P. 2002. Taxonomic study of *Weissella confusa* and Description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples. *Int. J. Syst. Evol. Microb* 52
- Bonnet, M. Lagier, J.C., Raoult, D., Khelaifia, S. 2020. Bacterial Culture Through Selective and Non selective conditions evolution of Culture Media in Clinical Microbiology. *New Microbes and New Infections* 34 (C)
- Brummer, Y. dan Cui., 2005. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications. E-book. 432-439. France: taylor and francies group. LLC.
- Cerning, J. 1990. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 7(1-2)
- Chabela, G., Fience, B. R., and Case, C. L. 2010. Introduction Microbiology Part 7. E-Book. 76-83. San Francisco: Addison Weasly angman..
- Chalim, Mohammad A. 2021. Karakterisasi Eksopolisakarida yang Dihasilkan oleh *Weissella confusa* dan Potensinya sebagai Antibakteri terhadap *Salmonella Typhi*. *Skripsi* : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Colegate, Steven M. And Russel J. Molyneux. 2007. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination 2ndEdition*. Francis: CRS Press
- Dey, Debasish Kumar., Kang, Sun Chul. 2020. *Weissella confusa* DD_A7 pre-treatment to zebrafish larvae ameliorates the inflammation response against *Escherichia coli* O157: H7. *Microbiological Research* 237
- Dilna, S.V., Surya, H., Aswathy, R. G., Varsha, K., Sakthikumar, D.N., Pandey, A., Nampothiri, K.M. 2015. Characterization of an Exopolysaccharide with Potential Benefit Properties from a Probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4. *LWT – Food Science and Technology*. 64
- Djide Nana., Asri Rangga., 2019. Skrining Potensi Probitik dan Sitotoksik Antibakteri *Weissella confusa* Isolat Dangke Sapi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar. 23(2)

- Du, R., Xing, H., Zhou, Z., Han, Y. 2017. Original Article Isolation Characterization and Fermentation Optimization of Glucansucrase-Producing *Leuconostoc nesenteroids* DRP105 from sauerkraut with Improved Preservation Stability. 1-9
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3)
- Fadli 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight)Walp.) Dengan Metode Bslt (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Medical Sains* . 4(1)
- Fitria, A. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarida dari Tetes Tebu oleh *Lactobacillus plantarum* dan Identifikasi Senyawa Gula Penyusunnya. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Guerin, M., Da-Silva, C.R., Garcia, C., & Remize, F.,2020. Lactic Acid Bacterial Production of Exopolysaccharides from Fruit and Vegetables and Associated Benefits. *Fermentation*, 6(4),
- Halim, C. dkk, 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang. Jin, H., dkk. 2019. *Isolation and characterization of high exopolysaccharideproducing Weissella confusa VP30 from young children's feces*. Department of Food and Nutrition, Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 08826, South Korea.
- Hardiningsih, R., Napitupulu, R. N. R., Yulinery, T. 2006. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. *BIODIVERSITAS*. 7(1): 15-17
- Haroun, Bakry., El Menoufy, Hasaan., Amin, Hala., Waseif A. 2013. Biosynthesis and morphology of an exopolysaccharide from a probiotic *Lactobacillus plantarum* under diferent growth condition. *Journal of applied sciences research*, 9(2), 1256-1265
- Isas, Ana S., Celis, Maria S M., Correa, Jose R P., Fuentes, Eduardo., Rodriguez, Lyanne., Palomo, Ivan., Mozzi, Fernanda., Niuwenhoe, Carina V. 2020. Functional fermented cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) juice using autochthonous lactic acid bacteria. *Food Research International*. 138: 109729
- Jelita, Sheila F., Setyowati, Gita W., Ferdinand, M., Zuhrotun, Ade., Megantara, Sandra. 2020. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha Siamensis* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Farmaka* 18 (1)

- Jin, H., Jeong, Y., Yoo, S.H., Johnston, T.V., Ku, S., & Ji, G.E., 2019. Isolation and Characterization of High ExopolysaccharideProducing *Weissella Confusa* VP30 from Young Children's Feces. *J. Microbiol Cell Factories*.
- Kamboj, K. Vasquez, A., Balada L. 2015. *Identification and significance of Weissella species infections*. Clinical Microbiology Laboratory, Department of Pathology, The Ohio State University Wexner Medical Center, Columbus, OH, USA.
- Karlinda, Nende Widya Dwi. 2020. Pengaruh penambahan jenis dan konsentrasi gula terhadap produksi eksopolisakarida oleh *Leuconostoc mesenteroides* pada media air kelapa. *Skripsi*, UIN Malang
- Kim, Kyukwang., Kim Seunggyu., Jessie, S.Jeon. 2018. Visual Estimation of Bacterial Growth Level in Microfluidic Culture Systems. *Sensors* 18
- Kato, C., Nishihara, Sadafumi., Tunashima, Ryo., Tatewaki, Yoko., Okada, Shuji., Ren Xiao Ming., Inoue, Katsuya., Long, De Liang., Cronin, Leroy. 2013. Quick and selective synthesis Li6[α -P2W18O62].28H2O soluble in various organic solvents. aGraduate School of Science, Hiroshima University, 1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8526
- Kavitake., Devi, P.B., Singh, S.P., & Shetty, P.H., 2016. Characterization of a Novel Galactan Produced by *Weissella Confusa* KR780676 from an Acidic Fermented Food. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86.
- Kementrian Agama RI., Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur-an, dan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2015. *Jasad Renik : Dalam Prespektif Al-Qur'an dan Sains*. Jakarta.
- Khalid, K. 2011. Antimikrobia interaction of lactococcus lactis subsp. Lastis against some pathogenic bacteria. *International journal of bioscience*. Vol 1(3): Hal 39-44
- Kirk, R. E. dan Othmer. 1963. Encyclopedia of chemical technology. Interscience Publ. Co., New York.
- Klinchongkon, K., Bunyakiat, T., Khuwijitjaru, P., & Adachi, S. (2019). Ethanol Precipitation of Mannooligosaccharides from Subcritical 64 Water-Treated Coconut Meal Hydrolysate. *Food and Bioprocess Technology*, 12(7), 1197–1204
- 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.

- Kusdianawati, K., Mustopa, Apon Z., Fatimah F., Budiarto, Bugi R. 2020. *Genetic diversity of lactic acid bacteria isolated from Sumbawa horse milk, Indonesia*. Department of Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Universitas Teknologi Sumbawa.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. Jakarta : Erlangga.
- Leroy, F., De Vuyst, L. 2004. Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for The Food Fermentation Industry. *Trends Food Sci Technol*. 15
- Lewkowski, J. 2001. Synthesis, chemistry and applications of 5-hydroxymethylfurfural and its derivatives. *Arkivoc*, 1,
- Liu, Jun., Jianguang, Luo., Yi, Sun., Zhaoxin, Lu., Xiaoxing, Zeng. 2009. Production, Characterization and Antioxidant Activities in vitro of Exopolysaccharides from Endophytic Bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. *Carbohydrate Polymers* 78
- Maier, R. M. 2009. *Edvironmental Microbioplogy Second Edition*. New Yoyk: Academic Press
- Malaka, R dan A. Laga. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Lactobacillus bulgaricus strain ropy dari yoghurt komersial*. Sain & Teknologi
- Malik, A., Donna, M., Ariesranti, A.N dan Arry, Y. 2010. Skrining Gen Glukonsiltransferase (GTF) dari Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida. *Markara Sains*, Vol. 12, No. 1.
- Manvar, A. V., Sonwane, P. A. 2019. Lipolytic Activity of Lactic Acid Bacteria from Different Dairy Samples. *Indian Jounal of Pure & Applied Bioscences*. 7(6), 47-52
- 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
- Mao, H dan Zhengsong, Q., 2016. Development and Application of Ultra-High Temperature Drilling Fluids in Offshore Oilfield Around Bohai Sea Bay Basin, China. China University of Petroleum
- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S. I., & Lee, Y. C. 2005. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical biochemistry*, 339(1)
- McLaughlin, J.L and Roger, L.L. 1998, The Use of Medical Assays To Evaluate Botanicals, *J. Drugs Information*. 32 : 513-524.
- Meyer B, N.R., Ferrighni, J. E., Put-Nam, L.B., Jacobson, D.E., Nichols, J. L & Mclaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituent. *Planta Medica*, 45.

- Mundiri, Nur A., Megantara, Imam., Anggaeni, Trianing T. 2020. Kajian Pustaka : Pemanfaatan Eksopolisakarida Bakteri Asam Laktat Probiotik Asal Produk Pangan Fermentasi sebagai Imunomodulator. *Indonesia Medicus Veterinus*. 9 (5)
- Mutia, Ulfa. 2013. “Uji Kadar Asam Laktat Pada Keju Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea* L.) Berdasarkan Variasi Waktu dan Konsentrasi Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus lactis*”. *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol 10. No 2.
- Naessens, M., Cerdobbel, A., Soetart, W., Vandamme, E.J. 2005. *Leuconostoc Dextranucrase and Dextran : Procutio, Properties and Applications*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80 (8)
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., Ragadhita, R. 2019. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. *Indonesian Journal of Science & Technology*. 4(1): 97-118.
- Ningdyah, Arimbi W., Alimuddin, Andi H., Jayuska A. 2015. *Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (Baccaurea macrocarpa)*. Universitas Tanjungpura. Volume 4(1), halaman 75-83.
- Nielsen, S., 2017. *Food Analysis Laboratory Manual, Food Science Text Series: Total Carbohydrate by Phenol-Sulfuric Acid Method*. Department of Food Science, Purdue University, West Lafayette, IN, USA. Chapter 4
- Ningsih, Nia Purna., Sari, Rafika., Apridamayanti, Pratiwi. 2018, Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus brevis* dari Es Pisang Ijo. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*. 7 (2)
- Nouha, K. dkk. 2012. *Ritical Review Of EPS Production, Synthesis And Composition For Sludge Flocculation*. Université du Québec, Institut national de la Recherche Scientifique, Centre Eau, Terre & Environnement, 490 de la Couronne, Québec G1K 9A9, Canada
- Nurhidayati, Elza. 2022. *Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Madu Mangga (Mangifera indica L.)*. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Malang
- Okomoda, V., Solomon, S. G., Ataguba, G. A., Ayuba, V. O., & Asuwaju, F. P. (2013). Acute Toxicity Test in Aquaculture: A Review. *Banat's Journal of Biotechnology*. 4(8):59.
- Panturau, 1982. *By Production Of The Come Sugar Industry*. Amsterdam. Elsevier Scientific Publishing Company
- Patten, DA, Laws AP. 2015. *Lactobacillus* produced Exopolysaccharides and their potential health benefits. *Benef Microb*. 6

- Patil, R. T., Jose De J. Berrios, Juming Tang, James Pan, Barry S. 2005. Physical Characteristics of Food Extrudates - A Review. *ASAR Paper* No. 056166.
- 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. St. Joseph.
- Pine, S. H. dan Hammond. 1980. Organic chemistry. New York: McGraw-Hill Inc
- Prastika, H. H., Laksmiwati, A. A. I. A. M., Ratnayani, K., & Puspawati, N. M. 2019. Penggunaan Enzim Pepsin untuk Produksi Hidrolisat Protein Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang Aktif Antioksidan. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 7(2), 180–188
- Purwanto, N. 2015. Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (*Salacca Zalacca* (Gaert) Voss) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Leathality Test (BSLT). In Bandung: Fakultas MIPA Universitas Islam :616-622
- Rajabi, Somayeh., Ramazani, Ali., Hamidi, Mehrdad., Naji, Tahereh. 2015. *Artemia Salina* as a Model Organism in Toxicity Assesment of Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 23 : 20
- Rahmah, Susilowati S. 2023. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarida Oleh *Weissella confusa* B. *Skripsi*. UIN Malang
- Rizqillah, Nur. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak n- Heksan Daun *Garcinia benthami* Pierre Terhadap Larva *Artemia Salina* L. dengan Metode BSLT.
- 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 Macromolecues*. BIOMAC-8343: No. 8.
- Salminen, S. dan A. Von-Wright. 1998. Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Functional Aspects 2nd Ed*. New York: Marcel Dekker, In
- Sanlibaba, Pinar., Gurcu, Aybige Cakmak. 2016. Exopolysachharides Procuction by Lactic Acid Bacteria. *Appi Micro Open*
- Santi, Tahara Dilla. 2015. Uji Toksisitas Akut dan Efek Antiinflamasi Ekstrak Metanol dan Ekstrak n-Heksana Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). *Pharm Sci Res*

- Saravanan, C, dan Prathap. K.,. 2015. Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* KC117496 isolated from idli batter. Department of Food Science and Technology, Pondicherry University, Pondicherry 605014, India
- Setianingsih, Tutik. 2020. Spektroskopi Inframerah untuk Karakteristik Material Anorganik. Malang : UB Press
- Shingle, K.I. 2002. Determination of Structural peculiarities of dextran, pullulan, and c-irradiated pullulan by Fourier-transform IR spectrophotometry. *Carbohydrates Res.* 337:
- 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
- Stella, Klaudia Maris. 2019. Pengaruh Varietas dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kefir Susu Kacang Tanah (*Arachis hypogea*). *Bistek Pertanian* 6 (2)
- Sudarmadji, Slamet. dkk., 1981. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta
- Surayot, U., Wang, J., Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Tabarsa, M. 2014. Exopolysaccharide from Lactic Acid Bacteria : Structural Analysis, Molecular Weight, Effect on Immunodulation. *Int. J Biol Macromol* 68
- Tallon, R., Bressolier, P., Urdaci, M. 2003. Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Research in Microbiology*, 154 (10)
- Tampungan, W., Simbala, H., Queljoe, E., Wullur, S. 2011. Uji Toksisitas Ekstrak Batang Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) pada *Artemia Salina* L. *Jurnal Bioslogos.* 1 (1)
- Trenggono dan Sutardi, 1990. Biokimia dan Teknologi Pasca Panen. UGM Press. Yogyakarta.
- Velasco, S., Arsklod E, Paese, M., Grgae, H, Irastorza, A., Radstorm, P., Van Niel, E. 2006. Environmental Factors Influencing Growth Of And Exopolysaccharide Formation by *Pediococcus palvulus* 2.6. *Int J Food Microbiol* 111
- Wahyuni, Dwi., Loren, Intania. 2015. Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) Terhadap Larva Nyamuk *aedes aegypty* L. *Saintifika* 17 (1)
- Wanto dan Soebagy, 1980. *Dasar-dasar Mikrobiologi Industry*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI

- Widodo, D. 2017. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press
- Widodo, Hannan A. 2021. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Pada Air Kelapa Terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Weissella confusa*. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Widowati, S. 2003. *Efektivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein atau Susu Nabati*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika Pertanian.
- 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., Kittikun, H., Maneerat, Suppasil. 2010. Optimization of exopolysaccharides production by *Weissella confusa* NH 02 isolated from Thai fermented sausages. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 32 (1)
- Wu, Jiayi., Zhang, Yuheng, Ye, Ling., Wang, Chelin. 2020. The Anti-cancer Effects and Mechanisms of Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides in vitro : A review. *Carbohydrate Polymers*.
- Xu, R. H., Shen Q., Ding, X., Gao, W., Li, P. 2010. Chemical Characterization and Antioxidant Activity of an Exopolysaccharide Fraction Isolated from *Bifidobacterium* animals RH. *European Food Research and Technology*, 232
- Yuliana, Neti. 2008. Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2).
- Zhang, S., Liu, L., Su, Y., Li, H., Sun, Q., Liang, X., & Lv, J. (2011). Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt. *Afr J Microbiol Res*, 5(29)
- Zhang, Lingxiu, Yi, Huilan. 2022. Potential Antitumor and Anti-inflammatory Activities of an Extracellular Polymeric substance (EPS) from *Bacillus subtilis* isolated from Housefly. *Scientific Reports* 12
- Zhou, Q., Fang, F., Yang, Y., Zhao, F., Rempeng Du., Zhpu, Zhijiang., Han Ye. 2017. Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, PR China.
- Zisu, B., & Shah, N. P. 2003. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *Journal of dairy science*, 86 (11)

Zubaidah, E., Yusnita, L., dan Ella, S. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9(1): 59-68.