

**PENGARUH UREA PADA BIOKONVERSI
XILOSA MENJADI XILITOL DARI HIDROLISAT
HEMISELULOSA LIMBAH TANAMAN JAGUNG (*Zea mays*)
OLEH *Debaryomyces hansenii***



Disusun Oleh:

LAELI WIDIANTI

M 0303033

Skripsi

**Disusun dan diajukan untuk memenuhi sebagian
persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Sains
Jurusan Kimia**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
April, 2010**

HALAMAN PENGESAHAN

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta telah mengesahkan skripsi mahasiswa:

Laeli Widianti NIM M0303033, dengan judul “Pengaruh Urea pada Biokonversi Xilosa Menjadi Xilitol dari Hidrolisat Hemiselulosa Limbah Tanaman Jagung (*Zea mays*) Oleh *Debaryomyces hansenii*”

Skripsi ini dibimbing oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

TrianaKusumaningsih, M.Si.
NIP. 19730124 199903 2001

Tjahjadi Purwoko, M.Si.
NIP. 19701130 200003 1002

Dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 21 Mei 2010

Anggota Tim penguji:

1. Soerya Dewi Marlina, M.Si. 1.
NIP. 19690313 199702 2001
2. Sri Hastuti, M.Si. 2.
NIP. 19710408 199702 2001

Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sebelas Maret Surakarta

Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, M.Sc.,PhD.
NIP. 19560507 198601 1001

MOTTO

**"Wa laa tahinuu wa la tahzanuu wa antumul a'launa in kuntum mu'miniin"
Janganlah kamu lemah dan janganlah kamu bersedih hati, padahal kamulah orang-orang yang paling tinggi derajatnya jika kamu orang-orang yang beriman.
...Q.S. Ali Imran:139...**

**"Dakwah tidak mengenal sikap ganda, ia hanya mengenal totalitas.
Siapa yang bersedia untuk itu, maka harus hidup bersama dakwah dan dakwahpun melebur dalam dirinya"
...Hasan Al Banna....**

**" Sebuah kebaikan yang tidak tertata rapi akan mudah dihancurkan oleh kebatilan yang tertata rapi"
...Ali bin Abi Thalib...**

**" Terbaik dari cinta adalah memberi, Terbaik pada kasih adalah melindungi,
Terbaik dari hati adalah keikhlasan"**

**"janganlah engkau menyia-nyiakkan ta'rif lalu berpuas hati dengannya. Jangan pula engkau lemah dalam takwin agar tidak menuai kegagalan. Dan janganlah engkau mengabaikan tanfidz agar tidak meruntuhkan bangunan jamaah"
...Hasan Al Banna....**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya kecilku ini kupersembahkan kepada :

..... **Bapak dan Ibuku**

Dengan segala cintaku yang tercurah. Meski belum cukup pantas untuk dipersembahkan jika dibandingkan dengan cintamu yang seluas samudera karena ini hanyalah suatu alur kecil dari sebuah episode kehidupan yang akan kujalani. Semoga segala nikmat dan hidayah-Nya senantiasa melimpahi.....Amin.

.....**kakak2, ade'ku n ponakan2 tercinta (mba ning, mas syarif, mba wie, mas sabri, de'syifa, Farra, Dzaky, Fira, Qaid)**.....

Makasih atas do'a, cinta dan dukungannya selama ini

.....**Teman2 satu atap kost" pink"**

Al-π, wit-wot, Octe, Ai, the twin(Nunk-Thicko), Fathim, Datin, Fa-dhil, Rina, Hepi, Vina, Riris, Izah, Vi2, Novi, Ira, Sinta, Lu2, Tika, Esthi, Yosi . Thank's for everythings.

.....**Teman2 ISMA, FORIS, MUSNAT**.....

Makasih buat doa dan semangatnya....indahny ukhuwah itu begitu kurasakan bersama kalian...dan ku tau ternyata memang jarak bukanlah sebuah hambatan.

.....**ikhwan wa akhwat fillah**.....

Jazakumullah khoiron katsiron atas semuanya. Semoga keberkahan dan keistiqomahan senantiasa Allah limpahkan pada jalan juang kita.....Amin.

..... **Semua TemanQ di Universitas Sebelas Maret Surakarta**.....

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah, Segala puji hanya bagi Allah SWT, hanya karena rahmat dan hidayah-Nya, penulis akhirnya dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad SAW, keluarga, Sahabat, dan seluruh pengikutnya sampai akhir zaman.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan kimia Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam Penyusunan skripsi ini penulis tidak lepas dari bantuan, bimbingan, petunjuk dan dorongan dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang terdalam kepada :

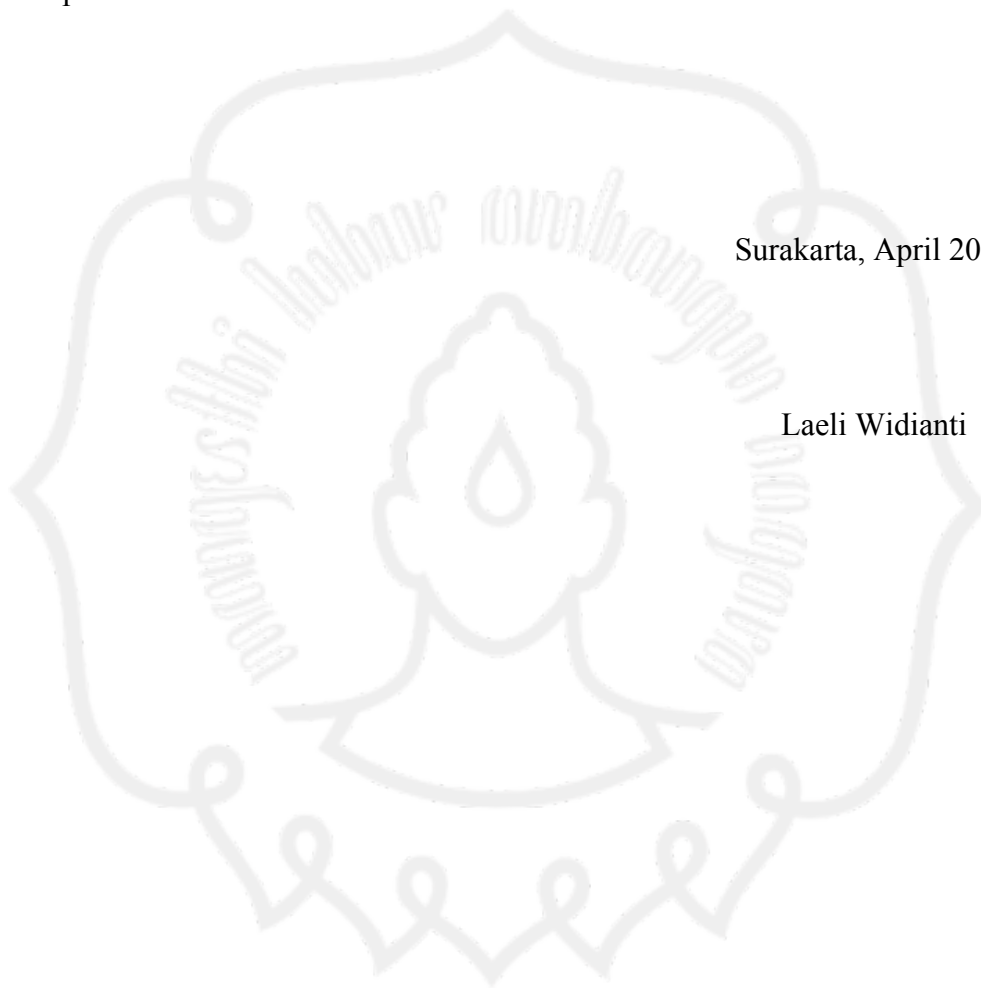
1. Bapak Prof. Drs. Sutarno, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta
2. Bapak Prof. Drs. Sentot Budi Raharjo, M.Sc., Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Ibu Triana Kusumaningsih, M.Si. selaku Pembimbing I yang telah banyak membantu penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Tjahjadi Purwoko, M.Si. selaku Pembimbing II yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.
5. PT. Indofood Sukses Makmur Tbk. yang dengan program Indofood Riset Nugraha 2006 telah memberikan dana penelitian kepada penulis
6. Bapak Dr. Atmanto Heru Wibowo, M.Si.. selaku pembimbing Akademik
7. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, atas ilmu yang telah diberikan.
8. Teman-teman kimia angkatan 2003, serta adik-adik angkatan 2004, 2005; 2006, 2007, 2008, 2009 terima kasih atas dukungan dan bantuannya selama ini.
9. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu sejak awal penyusunan proposal hingga selesainya skripsi ini.

Semoga Allah SWT membalas bantuan dan pengorbanan yang telah diberikan dengan balasan yang terbaik.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran untuk menyempurnakannya. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan pembaca. Amin.

Surakarta, April 2010

Laeli Widianti

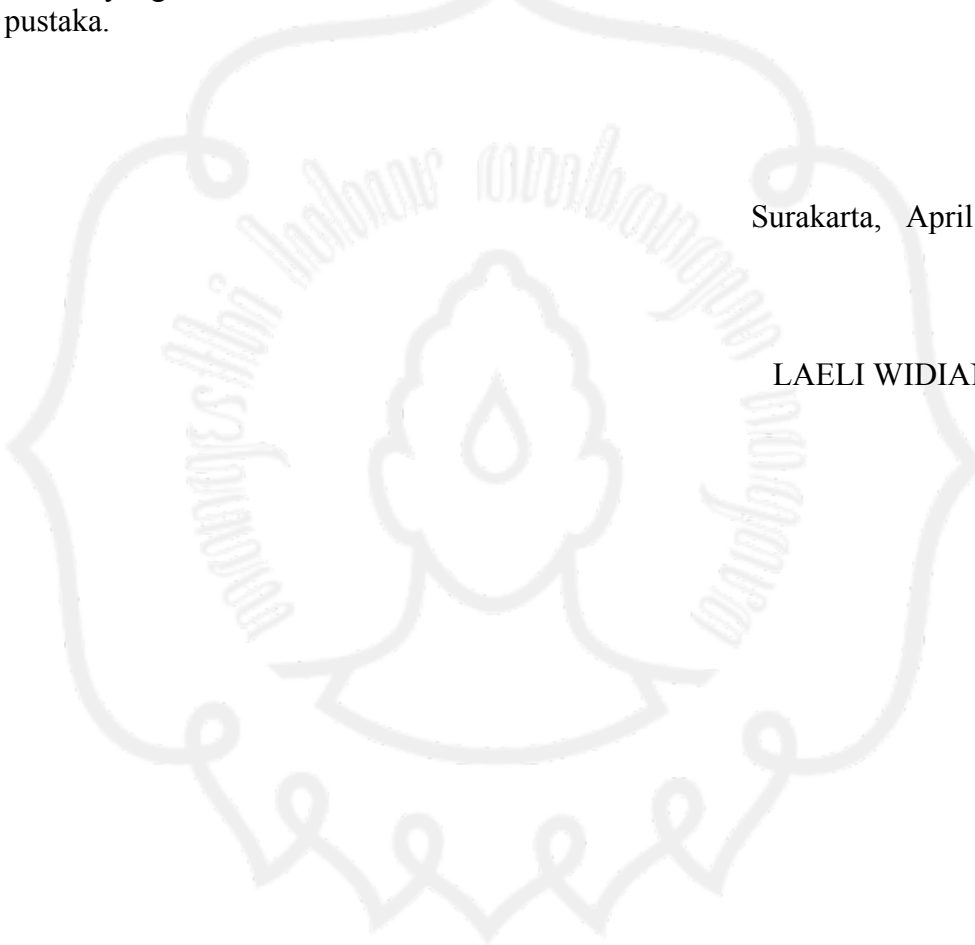


PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul **“PENGARUH UREA PADA BIONONVERSI XILOSA MENJADI XILITOL DARI HIDROLISAT HEMISELULOSA LIMBAH TANAMAN JAGUNG (*Zea mays*) OLEH *Debaryomyces hansenii*”**, adalah benar-benar hasil penelitian sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat kerja atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, April 2010

LAELI WIDIANTI



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN ABSTRAK.....	iv
HALAMAN ABSTRACT.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
1. Identifikasi Masalah.....	3
2. Batasan Masalah.....	3
3. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II LANDASAN TEORI.....	5
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Tumbuhan Jagung.....	5
a. Klasifikasi.....	5
b. Morfologi tanaman jagung.....	6
2. Hidrolisat Hemiselulosa.....	8
3. Xilitol.....	9
4. Biokonversi.....	16

5. <i>Debaryomyces hansenii</i>	23
6. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	24
B. Kerangka Pemikiran.....	27
C. Hipotesis.....	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	28
A. Metode Penelitian.....	28
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	28
C. Alat dan Bahan yang digunakan.....	28
1. Alat.....	28
2. Bahan.....	29
D. Prosedur Penelitian.....	30
1. Persiapan	30
a). Sterilisasi alat.....	30
b). Sterilisasi media prekultur dan media fermentasi.....	30
c). Pemeliharaan biakan.....	30
d). Penyiapan inokulum (prekultur).....	31
2. Pembuatan kurva xilosa dan xilitol standar.....	31
3. Hidrolisat hemiselulosa limbah tanaman jagung berupa bonggol jagung.....	31
4. Kultur fermentasi.....	32
5. Pengambilan sampel (<i>sampling</i>).....	32
E. Teknik Analisa Data.....	32
F. Teknik Penafsiran dan Penyimpulan Hasil.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
1. Pembuatan kurva standar xilosa dan xilitol.....	34
2. Hidrolisis hemiselulosa bonggol jagung.....	36
3. Pengukuran konsentrasi xilosa dan xilitol.....	40
4. Analisis dengan Kromatografi cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	47

A. Kesimpulan.....	47
B. Saran.....	47
DAFTAR	48
PUSTAKA.....	
LAMPIRAN-	54
LAMPIRAN.....	



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Susunan Kimia Batang Jagung dengan Pembanding Kayu Sengon.....	8
Tabel 2. Kandungan xilitol pada buah-buahan dan sayuran.....	10
Tabel 3. Sifat fisika dan kimia xilitol.....	10
Tabel 4. Prosentase kandungan gula pada hidrolisat dari sisa pertanian....	12
Tabel 5. pH optimum untuk beberapa jenis jamur.....	22
Tabel 6. Data konsentrasi dan luas area xilosa standar.....	35
Tabel 7. Data konsentrasi dan luas area xilitol standar.....	36
Tabel 8. Produksi xilitol dari media fermentasi oleh <i>Debaryomyces hansenii</i> dengan variasi penambahan urea 1%.....	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Pohon Jagung.....	5
Gambar 2a. Jagung.....	5
Gambar 2b. Bonggol jagung.....	5
Gambar 3. Struktur kimia xilitol.....	9
Gambar 4. Prinsip produksi xilitol.....	11
Gambar 5. Struktur kimia D-xilosa.....	13
Gambar 6. Produksi xilosa dan xilitol.....	13
Gambar 7. Jalur metabolisme D-xilosa dalam mikroorganisme.....	15
Gambar 8. Bagan alat KCKT.....	26
Gambar 9. Kromatogram xilosa dan xilitol standar pada konsentrasi 5 mg/mL.....	34
Gambar 10. Kurva Xilosa Standar.....	35
Gambar 11. Kurva Xilitol Standar.....	36
Gambar 12. Struktur Xilan.....	38
Gambar 13. Alur proses perubahan dari D-Xylopyranose menjadi D- Xylose.....	38
Gambar 14. Konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 5 mL urea 1%.....	41
Gambar 15. Konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 10 mL urea 1%.....	42
Gambar 16. Konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 15 mL urea 1%.....	43

Gambar 17. Tahapan fermentasi D-Xilosa.....	44
---	----

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kromatogram Hasil Analisis HPLC Xilosa dan xilitol standar.....	54
Lampiran 2. Kromatogram sampel.....	59
Lampiran 3. Perhitungan.....	62
Lampiran 4. Gambar alat dan sampel.....	66
Lampiran 5. Diagram alir pembuatan hidrolisat hemiselulosa.....	70
Lampiran 6. Diagram alir produksi xilitol dari hidrolisat hemiselulosa bonggol jagung oleh <i>Debaryomyces hansenii</i>	71

PENGARUH UREA PADA BIOKONVERSI
XILOSA MENJADI XILITOL DARI HIDROLISAT HEMISELULOSA
LIMBAH TANAMAN JAGUNG (*Zea mays*) OLEH *Debaryomyces hansenii*

LAELI WIDIANTI

Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Sebelas Maret

ABSTRAK

Telah dipelajari pengaruh urea pada biokonversi xilosa menjadi xilitol dari hidrolisat hemiselulosa limbah tanaman jagung (*Zea mays*) oleh *Debaryomyces hansenii*. *Debaryomyces hansenii* memerlukan urea sebagai sumber nitrogen pada proses fermentasi. Optimasi produksi xilitol dilakukan dengan penambahan urea dengan variasi konsentrasi yaitu 5 ml, 10 ml dan 15 ml. Konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media fermentasi selama 4 hari kultivasi diukur dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa urea dapat digunakan sebagai sumber nitrogen pada produksi xilitol dengan hasil xilitol optimal sebesar 70,52 % diperoleh dengan penambahan 15 mL urea 1 % pada hari ketiga kultivasi.

Kata kunci: biokonversi, xilosa, xilitol, urea, *Debaryomyces hansenii*

THE INFLUENCE OF UREA TO THE BIOCONVERSION XYLOSE
BECOMES XYLITOL FROM HEMICELLULOSE HYDROLYSATE OF
PLANT CORN RESIDUES BY *Debaryomyces hansenii*

LAELI WIDIANTI

Department of Chemistry. Mathematic and Natural Science Faculty. Sebelas
Maret University

ABSTRACT

The influence of urea to the bioconversion xylose becomes xylitol from hemicellulose hydrolysate of plant corn residues by *Debaryomyces hansenii* has been studied. *Debaryomyces hansenii* need urea as the source of nitrogen in fermentation process. Optimization of xylitol production was performed through added urea with concentration variation of 5 mL, 10 mL and 15 mL. The concentrations of xylose and xylitol in fermentation medium for four days cultivation were determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Result indicates that urea could be used as the source of nitrogen in xylitol production with optimal xylitol yield equals to 70,52 % obtained by addition of 15 mL urea 1 % on the third day cultivation.

Key words: bioconversion, xylose, xylitol, urea, *Debaryomyces hansenii*

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Satu fakta teramat penting tentang gula belakangan ini adalah harganya yang melambung terus. Hal ini tentu saja menjadi penyumbang kesulitan ekonomi kebanyakan rakyat yang hidup miskin. Harga gula di pasar dalam negeri hampir dipastikan akan bertahan dikisaran Rp 11.000 per kilogram (kg) sepanjang tahun 2010.

Badan Kebijakan Fiskal menilai kebijakan impor gula perlu diteruskan. Menurut Kepala Badan Kebijakan Fiskal, Anggito Abimanyu (2009) dalam Rapat Dengar Pendapat dengan Komisi XI DPR, angka ramalan produksi gula tahun 2009 hanya 966.469 ton sedangkan konsumsi gula sekitar 1.65 juta ton sehingga dibutuhkan impor sebesar 753.914 ton dan terbentuk ketersediaan 1,7 juta ton. Ada hal yang terlupakan untuk terus diusahakan yaitu mencari alternatif bahan pemanis lain atau gula substitusi.

Gula alternatif yang sekarang sudah digunakan antara lain adalah gula siklamat, aspartam, stevia dan gula alkohol. Gula alkohol antara lain adalah sirup glukosa, fruktosa, maltosa, manitol, sorbitol, dan xilitol.

Xilitol dibuat dari bahan lignoselulosa khususnya hemiselulosa atau xilan, melalui proses hidrolisis xilan menjadi xilosa, kemudian dihidrogenasi menjadi xilitol. Xilitol mempunyai kelebihan dibanding gula pasir (sukrosa) yaitu sebagai pemanis rendah kalori, indeks glikemik jauh lebih rendah yaitu tidak meningkatkan gula darah dalam tubuh dan dimetabolisme tanpa membutuhkan insulin, sehingga sangat baik untuk penderita diabetes. Di samping itu xilitol saat ini banyak digunakan untuk pasta gigi karena dapat menguatkan gusi.

Xilitol merupakan gula tereduksi atau polioliol yang memiliki kemanisan sama dengan sukrosa, sehingga xilitol dapat digunakan sebagai pengganti gula dalam industri pengolahan makanan. Penggunaan xilitol dalam makanan adalah pada produk industri gula-gula (misalnya permen karet, coklat dan permen), es krim, yoghurt, selai dan marmalade, produk roti dan minuman (Hyvonen dan Koivistoinen, 1982 : 392-398; Pepper dan Olinger, 1988 : 101).

Ekstraksi xilitol dari sumber aslinya di alam tidak praktis untuk dilakukan dan tidak ekonomis karena konsentrasinya relatif kecil (Parajo, Dominguez dan Dominguez, 1996 : 531). Xilitol umumnya diperoleh melalui proses hidrogenasi xilosa yang diperoleh dari bahan alam yang mengandung xilan

(Rodrigues *et. al.*, 1998 : 73-77). Penggunaan xilitol masih terbatas disebabkan oleh harganya yang mahal. Hal ini disebabkan oleh proses pembuatan xilitol yang rumit. Proses pembuatan xilitol dengan cara hidrogenasi xilosa, membutuhkan xilosa yang benar-benar murni, menyebabkan banyaknya langkah-langkah pemurnian yang dibutuhkan untuk memperoleh larutan xilosa murni yang penting untuk proses kimia.

Permasalahan di atas telah diatasi dengan dilakukannya banyak penelitian untuk memproduksi xilitol dengan cara lain yaitu dengan proses biokonversi. Pada proses biokonversi ini, digunakan suatu mikroorganisme yaitu khamir untuk mengkonversi xilosa menjadi xilitol dalam media semisintetik atau media yang mengandung hidrolisat hemiselulosa. Kombinasi hidrolisis asam encer dapat dilakukan secara efisien, biaya yang relatif rendah dan proses bioteknologi hidrogenasi mempunyai beberapa keuntungan, sehingga tidak memerlukan larutan xilosa yang benar-benar murni (Pfeifer, *et. al.*, 1996 : 423). Beberapa khamir yang dapat digunakan untuk memproduksi xilitol dari xilosa adalah *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida boidinii*, *Debaryomyces hansenii*, *Pachyolen tannophilus*, dan *Hansenula polymorpha* (Suryadi, *et. al.* , 2000 : 236-240).

Pemanfaatan tanaman jagung masih terbatas buahnya saja. Sedangkan limbahnya yang berupa bonggol, daun dan batang jagung hanya dimanfaatkan sebagai campuran pakan ternak dan bahan bakar. Limbah tanaman jagung tersebut merupakan sumber bahan berpati yang potensial di mana hidrolisat hemiselulosanya dapat diolah lebih lanjut untuk proses biokonversi xilosa menjadi xilitol oleh *Debaryomyces hansenii*.

Perumusan Masalah

Identifikasi Masalah

Tanaman yang mengandung jumlah xilosa yang sesuai untuk digunakan dalam proses produksi xilitol adalah bonggol jagung, bagase gula tebu, jerami dan kulit beberapa jenis kacang. Biokonversi xilosa menjadi xilitol dari hidrolisat hemiselulosa limbah tanaman jagung dilakukan dengan menggunakan khamir. Pertumbuhan khamir membutuhkan nutrisi atau suplemen lain, di antaranya adalah sumber nitrogen (Hardjo, 1989 : 70). Optimasi konsentrasi urea sebagai sumber nitrogen dilakukan untuk mendapatkan xilitol yang optimal.

Kandungan xilan atau xilosa pada bonggol jagung sekitar 20 – 30 % dari berat keringnya (Hyvonen, *et. al.* ; 1982 : 378-379). Sedangkan presentase xilitol yang dihasilkan bonggol jagung sekitar 25 % dari berat keringnya (Kiyoshi Tada *et. al.*. 2004).

Batasan Masalah

Dari identifikasi masalah di atas, untuk penelitian ini permasalahan dibatasi pada:

Limbah tanaman jagung yang digunakan berupa bonggol jagung dari jenis jagung manis.

Xilitol diproduksi melalui proses biokonversi xilosa menjadi xilitol dari hidrolisat hemiselulosa dari bonggol jagung.

Khamir yang digunakan untuk memproduksi xilitol yaitu *Debaryomyces hansenii*.

Sumber nitrogen yang digunakan pada proses biokonversi yaitu urea 1 % (b/v) dengan variasi penambahan sebesar 5 mL, 10 mL dan 15 mL.

Rumusan Masalah

- a. Berapa konsentrasi urea sebagai sumber nitrogen yang menghasilkan presentase xilitol optimal?
- b. Berapa presentase xilitol optimal yang dihasilkan dari proses biokonversi xilosa bonggol jagung?

Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui konsentrasi urea sebagai sumber nitrogen yang menghasilkan presentase xilitol optimal.
- b. Mengetahui presentase xilitol optimal yang dihasilkan dari proses biokonversi xilosa bonggol jagung.

Manfaat Penelitian

1. Manfaat dari segi IPTEK:
 - a. Meningkatkan pemanfaatan limbah tanaman jagung
 - b. Memberikan alternatif pembuatan xilitol melalui proses biokonversi xilosa dari hidrolisat hemiselulosa limbah tanaman jagung berupa bonggol jagung, daun jagung dan batang jagung dengan sumber nitrogen urea oleh *debaryomyces hansenii*.
2. Manfaat dari segi ekonomi:
 - a. Meningkatkan nilai ekonomis limbah tanaman jagung.
 - b. Mendorong peningkatan produksi xilitol sebagai pemanis alternatif pengganti gula sukrosa.
3. Manfaat dari segi kesehatan:

Memberikan alternatif xilitol sebagai pemanis pengganti gula sukrosa yang aman dikonsumsi terutama oleh penderita diabetes.

BAB II LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Tumbuhan Jagung

a. Klasifikasi

Jagung berasal dari Amerika yang dalam penemuannya ternyata Peru dan Meksiko telah membudidayakan sejak ribuan tahun yang lalu. Sedangkan di Indonesia jagung sudah dikenal empat ratus tahun yang lalu. Pohon jagung ditampilkan pada Gambar 1. Buah dan bonggol jagung ditampilkan pada Gambar 2a dan 2b.



Gambar 1. Pohon Jagung



a.

b

Gambar 2. Jagung (a), Bonggol Jagung (b)

Tanaman jagung dapat tumbuh optimum pada curah hujan antara 500-1200 mm per tahun dan tingkat kelerengan tidak lebih dari 8%. Tanaman jagung dapat tumbuh baik pada ketinggian 0-1300 meter diatas permukaan laut dengan tanah gembur kaya humus, pH tanah 1,5-7,0 serta menghendaki temperatur 23°C – 27°C (Suprato, 1992).

Klasifikasi tanaman jagung adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Sub Kelas : Commelinidae
Ordo : Poales
Famili : [Poaceae](#)
Genus : [Zea](#)
Spesies : *Zea mays* L.

b. Morfologi tanaman jagung

1). Akar

Seperti pada jenis rumput-rumputan yang lain, akar tanaman jagung dapat tumbuh dengan baik pada kondisi tanah yang memungkinkan untuk pertumbuhan tanaman.

2). Batang

Batang jagung tidak bercabang, padat dan terisi oleh berkas-berkas pembuluh sehingga makin memperkuat tegaknya tanaman. Batang jagung juga didukung oleh jaringan kulit yang keras dan tipis yang terdapat dalam batang disebelah luar. Tanaman jagung mempunyai batang yang beruas-ruas 10-40 ruas, tinggi batang sekitar 90 cm. Untuk varietas-varietas berumur ganjah yang berhabitat pendek dan pada umumnya ketinggian 1,5-3 meter (Effendi dan Sulistiadi, 1991)

Pertumbuhan batang tidak hanya memanjang tetapi juga kesamping atau membesar, bahkan batang jagung dapat membesar dengan diameter 3-4 cm.

3). Daun

Pada tanaman jagung menempel daun yang jumlahnya antara 8 sampai 48 helai, tetapi biasanya berkisar 12-18 helai. Hal ini tergantung varietas dan umur tanaman jagung, jagung berumur ganjah biasanya memiliki jumlah daun sedikit, sedangkan berumur dalam mempunyai jumlah daun banyak. Tipe daun digolongkan kedalam lisear. Panjang daun bervariasi biasanya antara 30 cm dan 150 cm sedangkan lebarnya dapat mencapai 15 cm. Sedangkan tangkai daun normal biasanya 3 cm sampai 6 cm.

4). Bunga

Terdapat bunga jantan dan bunga betina yang letaknya terpisah. Bunga jantan terletak pada bagian ujung tanaman, sedangkan bunga betina pada sepanjang pertengahan batang jagung dan berada pada salah satu ketiak daun.

5). Buah

Biji jagung terletak pada tongkol yang tersusun memanjang. Pada tongkol tersimpan biji-biji jagung yang menempel erat, sedangkan pada buah jagung terdapat rambut-rambut yang memanjang hingga keluar dari pembungkus.

Tanaman jagung sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia maupun hewan. Di Indonesia, jagung merupakan tanaman pokok kedua setelah padi. Sejalan dengan perkembangan dunia perternakan ayam, kebutuhan akan jagung mengalami peningkatan pula. Jagung hibrida sebagai jenis jagung yang berproduksi tinggi menjadi incaran untuk diusahakan. Jagung hibrida sebagai jagung jenis unggul yang menjadi perhatian para pecinta tanaman jagung. Jagung ini memiliki keunggulan dalam segi produksi dan ketahanan terhadap salah satu atau dua penyakit yang sering menyerang. Kemampuan menghasilkan yang cukup tinggi menyebabkan orang tertarik untuk mengelolanya agar dapat memenuhi permintaan peternak.

Peningkatan produksi jagung berarti peningkatan produksi limbah baik berupa jerami, pucuk atau tongkol jagung. Jerami jagung yang terdiri dari daun dan batang yang diperoleh setelah panen sebagai pakan ternak pemamah biak, karena banyak mengandung karbohidrat yang bernilai tinggi.

Susunan kimia batang jagung pada penelitian Joedodibroto (1991) dengan contoh batang jagung A (berasal dari jawa tengah) dan batang jagung B (berasal dari jawa timur) dengan pembanding kayu sengon. Susunan kimia batang jagung dengan pembanding kayu sengon ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Susunan Kimia Batang Jagung dengan Pembanding Kayu Sengon
(Joedodibroto,1991)

Komponen (%)	Batang jagung A	Batang jagung B	Kayu sengon
Abu	5,50	4,90	0,78
Silika	2,73	1,85	-

Lignin	21,53	21,33	21,63
Halo selulosa	72,60	71,02	73,42
Alfa selulosa	48,68	43,94	49,51
Pentosan	24,93	21,63	17,73

2. Hidrolisat hemiselulosa

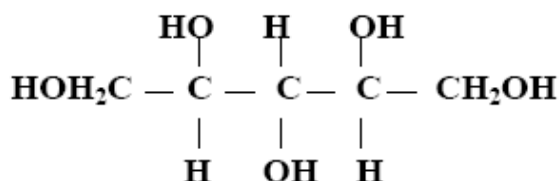
Hemiselulosa adalah salah satu fraksi terbesar dalam residu-residu hasil pertanian seperti ampas tebu, jerami dan bongkol jagung. Hemiselulosa terdiri dari zat-zat polimer seperti xilan dan glukomanan. Hemiselulosa berbeda dengan selulosa dalam hal rantai molekul yang dimiliki oleh hemiselulosa lebih pendek. Hemiselulosa mempunyai struktur homopolimer atau heteropolimer, berupa molekul dengan struktur cabang seperti asam asetat dan berbagai macam pentosa dan heksosa (Fengel dan Wegener, 1995 : 124).

Hemiselulosa, dalam hal ini poliosa maupun monosakarida yang menyusunnya atom karbon asimetri, sehingga senyawa-senyawa tersebut menunjukkan putaran optik dalam larutan. Klasifikasi klasik poliosa adalah heksosan, pentosan dan poliuronida. Dalam sistem ini, poliosa diklasifikasikan menurut komponen utama masing-masing poliosa, yaitu sebagai xilan, mannan, galaktan, dan sebagainya (Fengel dan Wegener, 1995 : 125).

Hemiselulosa sangat mudah dihidrolisis menjadi campuran gula pereduksi dengan xilosa sebagai komponen terbesar. Hasil dari hidrolisis hemiselulosa ini disebut dengan hidrolisat hemiselulosa. Meskipun hidrolisis dapat dilakukan secara enzimatik, banyak studi fermentasi yang telah memusatkan perhatiannya pada hidrolisat dengan hidrolisis asam. Karena strukturnya yang heterogen dan derajat polimerisasi yang relatif rendah, hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis dibandingkan dengan komponen biomassa kristal selulosa. Pada beberapa keadaan, penguapan yang sederhana dan tanpa penambahan katalis asam pun dapat menjadi efektif. Keuntungan dari hidrolisis hemiselulosa dengan asam lemah adalah dapat mencegah terbentuknya beberapa produk degradasi yang dapat menghambat proses biokonversi oleh mikroorganisme, mengurangi persyaratan yang harus dipenuhi jika menggunakan peralatan anti karat yang berharga mahal dan menghindari timbulnya masalah lingkungan yang mungkin terjadi akibat penggunaan bahan kimia yang kuat atau pekat (Winkelhausen dan Kuzmanova, 1998 : 1-14). Dalam penyiapan hidrolisat dengan menggunakan katalis asam, yang harus diperhatikan adalah kemungkinan terbentuknya inhibitor metabolisme mikrobial yang menyebabkan hidrolisat tersebut sukar digunakan dibandingkan dengan campuran gula murninya.

3. Xilitol

Xilitol merupakan poliol monosakarida selain sorbitol dan manitol dengan rumus kimia $C_5H_{12}O_5$ dan berat molekul 152,15. Emil Fisher dan Stahel pertama kali mensintesis xilitol pada tahun 1891 (Fisher dan Stahel, 1891). Struktur kimia dari xilitol ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia Xilitol (Beutler, 1984)

Xilitol merupakan gula alkohol dengan lima atom karbon yang terdapat luas di alam khususnya pada buah-buahan dan sayuran. Selain itu, xilitol adalah senyawa antara hasil metabolisme karbohidrat mamalia termasuk manusia. Jumlah xilitol yang diproduksi oleh tubuh manusia dewasa adalah 5 – 15 g/hari. (Jean, *et al.*; 1995 : 167; Pepper dan Olinger, 1988 : 98). Xilitol juga dapat dihasilkan dari beberapa buah-buahan dan sayuran meskipun jumlahnya sangat rendah (Parajo *et al.*, 1998). Kandungan xilitol pada buah-buahan dan sayuran ditampilkan pada Tabel 2. Sedangkan sifat fisika dan kimia dari xilitol ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 2. Kandungan xilitol pada buah-buahan dan sayuran (Jaffe, 1978)

Produk	Xilitol (mg/100g substrat kering)
Jus wortel	12
Pisang	21
Wortel	86,5
Bawang	89
Strawberry	362
Raspberry	268
Labu	96,5

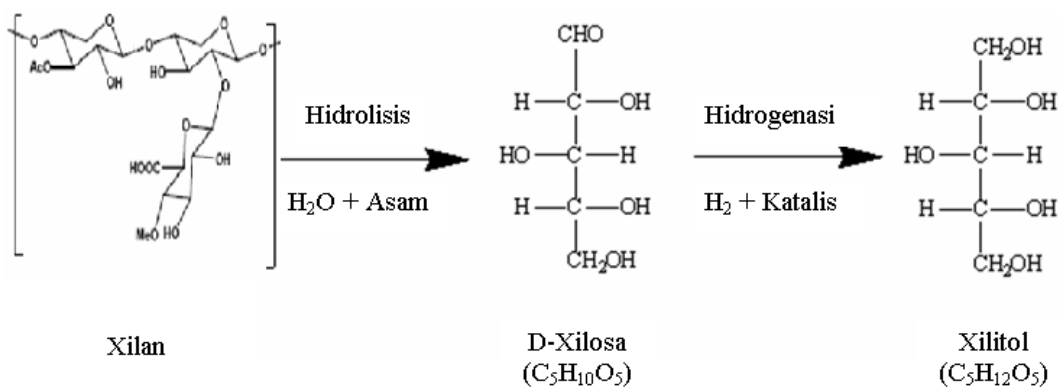
Tabel 3. Sifat fisika dan kimia dari xilitol (Counsell, 1978; Jaffe, 1978; Bar, 1991)

Sifat	Keterangan
Rumus kimia	C ₅ H ₁₂ O ₅
Berat molekul	152,15
Bentuk, warna	Bubuk kristal, putih
Kelarutan pada 20°C	169 g / 100 g H ₂ O
pH dalam air (1 g / 10 mL)	5-7
Densitas (15°C)	1,50 g /L
Nilai kalori	4,06 cal/g (16,88 J/g)
Viskositas (cP) (20°C)	
10 %	1,23
40 %	4,18
50 %	8,04
60 %	20,63
Kemanisan relatif	Sama dengan sukrosa, lebih tinggi dari sorbitol dan manitol

Kelarutan xilitol dalam air sama dengan sukrosa yaitu 68g/100g pada suhu 30°C. Sedangkan di bawah suhu tersebut kelarutannya berkurang dan di atas suhu tersebut akan lebih mudah larut daripada sukrosa. Xilitol bersifat sangat higroskopis pada kelembaban relatif yang lebih rendah dari 80 %. Dari semua poliol, xilitol memiliki viskositas paling rendah yaitu 45 cP pada suhu 25°C dan 20 cP pada suhu 40°C (Marie dan Piggott, 1991 : 80-82).

Berdasarkan kemanisan per gramnya, poliol termanis adalah xilitol, yang secara umum dilaporkan telah menjadi sama manisnya dengan sukrosa. Larutan xilitol mempunyai kemanisan relatif (pada suhu 20°C) sebesar 80 – 100, dan larutan sukrosa kemanisan relatifnya adalah 100 (deMan, 1999 : 183). Sorbitol, manitol dan malsitol mempunyai kemanisan yang rendah, dengan nilai 45 – 90% dari kemanisan sukrosa. Laksitol dan palanitik adalah poliol yang sangat kurang manis, dengan tingkat kemanisan 25 – 50%. Pada manusia sorbitol dan xilitol mempunyai kandungan kalori yang sama dengan sukrosa, walaupun dosis yang tinggi akan menghasilkan penurunan angka kalori karena poliol tersebut diabsorpsi secara tidak lengkap pada tingkat diet yang lebih tinggi (Dills, 1989 : 163-164).

Berdasarkan terbentuknya secara alami, xilitol sulit untuk diproduksi secara komersial karena permasalahan dalam pemisahannya dari karbohidrat lainnya seperti glukosa. Faktanya adalah xilan lebih mudah dihidrolisis daripada selulosa untuk ekstraksi xilosa dan produksi xilitol. Dengan demikian, perolehan kembali xilosa dari tanaman dan kemudian menghidrogenasinya merupakan reaksi pembentukan xilitol (Gambar 4).



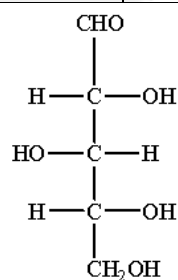
Gambar 4. Reaksi pembentukan xilitol (Hyvonen, *et. al* ; 1982: 379)

Tanaman yang mengandung jumlah xilosa yang sesuai untuk digunakan dalam proses produksi xilitol adalah bonggol jagung, bagase gula tebu, jerami dan kulit beberapa jenis kacang. Kandungan xilan atau xilosa pada bahan-bahan tersebut sekitar 20 – 30 % dari berat keringnya (Hyvonen, *et al* ; 1982 : 378-379). Menurut Kiyoshi Tada *et. al.* (2004) komposisi rata-rata dari bonggol jagung adalah 32 % selulosa, 35 % hemiselulosa, 20 % lignin, 4 % abu dan sisanya komponen lainnya. Berdasarkan eksperimen yang dilakukan oleh Kiyoshi Tada *et.*

al. (2004), dari 100 gr/L bonggol jagung dihasilkan 0,25 gr xilosa/gr bonggol jagung sehingga rata-rata konsentrasi xilosa yang dihasilkan adalah 25 gr/L. D-xilosa merupakan gula pentosa utama yang ditemukan pada hidrolisat dari sisa pertanian (Tabel 4). Struktur kimia dari D-xilosa dengan formasi Haworth dan Fischer ditampilkan pada Gambar 5.

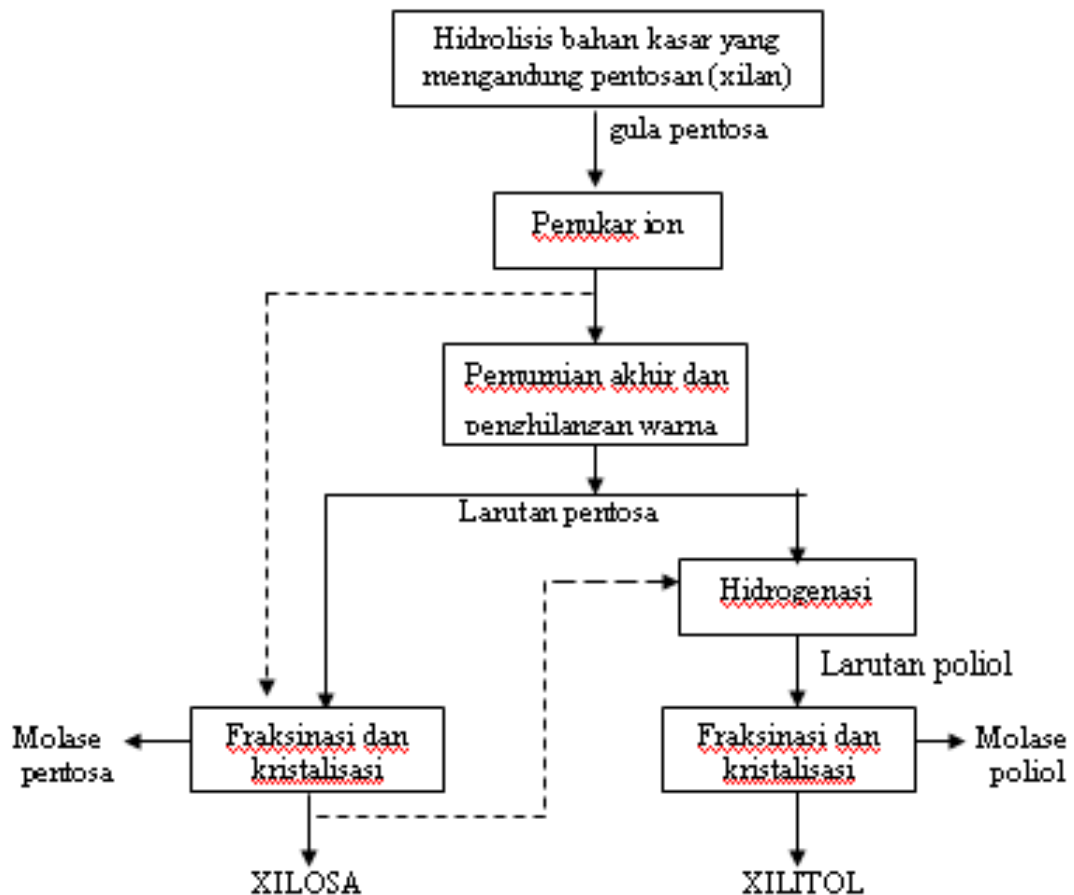
Tabel 4. Prosentase kandungan gula pada hidrolisat dari sisa pertanian (Rangaswamy, 2003)

Hidrolisat	Xilosa (%)	Glukosa (%)	Arabinosa (%)	Galaktosa (%)	Mannosa (%)	Referensi
Bagase	58	16	26	-	-	Chen dan Gong, 1985
	75	14	11	-	-	Roberto <i>et.al.</i> , 1995
Serat jagung	16	71	11	2	-	Saha <i>et.al.</i> , 1998
	31	41	25	4	-	Hespell <i>et.al.</i> , 1997
Isolasi serat jagung	26 - 60	16 - 37	24 - 46	-	-	Hespell <i>et.al.</i> , 1997
Kayu keras	70	14	5	5	5	Parego <i>et.al.</i> , 1990
	62	16	4	8	9	Jeffries dan Sreenath, 1988
	27	11	5	14	43	Olsson <i>et.al.</i> , 1993
Jerami padi	67	21	12	-	-	Roberto <i>et.al.</i> , 1995



Gambar 5. Struktur kimia dari D-xilosa (Hyvonen, *et.al.* ; 1982: 379)

Xilitol pertama kali diproduksi secara komersial pada awal tahun 1970 dengan menghidrolisis hemiselulosa xilan dari tanaman birch untuk mendapatkan D-xilosa yang kemudian dikonversi menjadi xilitol dengan hidrogenasi. Xilitol yang dihasilkan dimurnikan dengan kristalisasi sampai kemurnian lebih dari 98,5% (Pepper dan Olinger, 1988 : 98). Alur produksi xilosa dan xilitol ditampilkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Alur produksi xilosa dan xilitol (Hyvonen, *et al* ; 1982 : 379).

Tahap-tahap utama dari proses produksi xilitol, seperti pada gambar 7 dapat dijelaskan sebagai berikut (Hyvonen, *et al* ; 1982 : 379-381) :

a. Hidrolisis

Bahan dari tanaman diperlakukan dengan larutan asam encer, pada suhu dan tekanan tertentu untuk menghidrolisis hemiselulosa dan untuk mengendapkan lignin. Gula-gula monomerik dilarutkan dalam media reaksi bersama-sama dengan produk dapat larut lainnya. Secara kebetulan selulosa tidak diserang, sebaliknya xilosa akan terkontaminasi dengan sejumlah besar glukosa yang dapat menjadi masalah dan mahal untuk dipisahkan.

b. Pemurnian xilosa

Pada fase berikutnya dalam proses pembuatan xilitol, hidrolisat diproses melalui berbagai langkah pemurnian untuk menghilangkan produk-produk yang tidak diinginkan. Ada dua cara untuk memperoleh pemurnian hasil yang diinginkan, yaitu :

1) Isolasi xilosa

Kristal xilosa yang murni diperoleh dari hidrolisat dengan perlakuan penukar ion, dekolorisasi dan kristalisasi dari methanol. Alternatif lain adalah xilosa diisolasi dari pengotornya dengan pengendapan alcohol dan dikristalisasi dari larutan pekat yang diencerkan dengan asam asetat. Larutan kaya pentosa yang diperoleh dari hidrolisis asam dimurnikan dengan filtrasi mekanik dan teknik penukar ion untuk penghilangan warna dan garam. Larutan ini kemudian diarahkan pada fraksinasi kromatografi untuk memperoleh larutan xilosa dengan kemurnian yang tinggi.

2) Non isolasi xilosa

Dalam hal ini, hidrolisat diperlakukan dalam beberapa jenis proses eksklusif penukar ion dan proses dekolorisasi untuk menghilangkan semua produk kecuali karbohidrat dari aliran xilosa. Campuran xilosa dan karbohidrat lain dalam larutan berada pada tingkat kemurnian kimia yang tinggi.

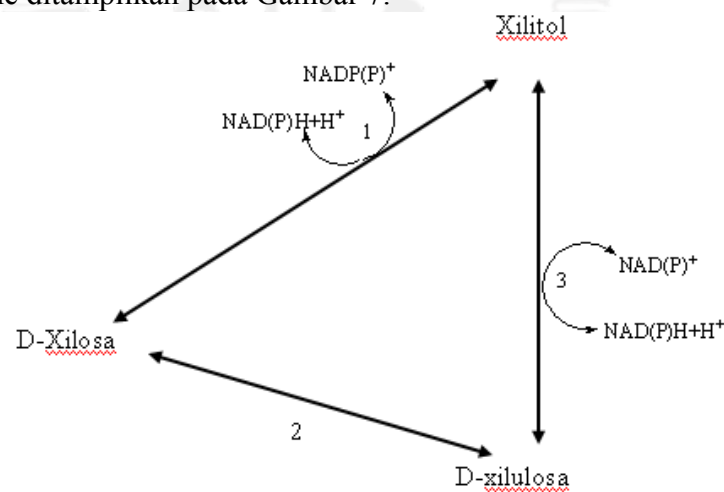
c. Hidrogenasi

Pada konversi xilosa menjadi xilitol, xilosa yang terisolasi dilarutkan dalam air atau dalam larutan campuran xilosa – karbohidrat dihidrogenasi pada suhu 80 – 140 °C dan tekanan hidrogen sampai 50 atm dengan katalis logam (raney-nikel).

d. Pemurnian xilitol

Setelah menghilangkan katalis dengan penyaringan dan penukar ion pada larutan terhidrogenasi, proses lebih lanjut untuk memperoleh xilitol dengan pemurnian, pemekatan dan kristalisasi.

Xilitol terbentuk sebagai senyawa antara hasil metabolisme D-xilosa dalam mikroorganisme dengan 2 cara, yaitu D-xilosa dikonversikan secara langsung menjadi xilitol dengan NADPH-dependen aldehid reduktase atau diisomerisasi terlebih dahulu menjadi D-xilulosa oleh D-xilosa isomerase dan kemudian direduksi menjadi xilitol oleh NADH-dependen xilitol dehidrogenase (Vongsuvanlert dan Tani, 1989 : 35). Jalur metabolisme D-xilosa dalam mikroorganisme ditampilkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Jalur metabolisme D-xilosa dalam mikroorganisme (Vongsuvanlert dan Tani, 1989 : 35).

Keterangan : (1) NADPH-dependen aldehid reduktase, (2) D-xilosa isomerase, (3) NADH-dependen xilitol dehidrogenase.

Xilitol dapat digunakan secara luas dalam industri makanan, farmasi dan perawatan gigi karena memiliki beberapa kelebihan, antara lain :

- a. Dapat digunakan sebagai pemanis pengganti gula bagi penderita diabetes karena metabolismenya tidak tergantung pada insulin dan dapat menghasilkan

glukosa dengan kecepatan rendah sehingga kadar glukosa dalam darah relatif stabil (Dills, 1989 : 162).

- b. Memiliki sifat antikariogenik dan kariostatik yaitu dapat mengurangi kemungkinan terjadinya karies gigi karena xilitol difermentasi sangat lambat bahkan tidak difermentasi oleh bakteri dalam mulut dan umumnya tidak dikatabolisme menjadi produk asam. Selain itu, xilitol dapat mencegah terjadinya demineralisasi enamel gigi, menstimulasi aliran saliva sehingga meningkatkan pH mulut dan plak serta dapat menstimulasi perubahan komposisi saliva antara lain meningkatkan konsentrasi total protein dalam saliva, meningkatkan aktivitas laktoperoksidase dan enzim lain. Perubahan ini akan menyebabkan peningkatan kapasitas dapar dan aktivitas bakteriostatik dari saliva (Dills, 1989 : 168-169).
- c. Xilitol memiliki efek pemanasan negatif paling baik dibandingkan poliol lainnya. Efek ini timbul bila xilitol padat atau kristal berubah menjadi cair sehingga memberikan rasa dingin dan segar dalam mulut. Peristiwa ini lebih dikenal sebagai '*cooling effect*' (Marie dan Piggott, 1991 : 84).
- d. Memiliki kemanisan yang relatif sama dengan sukrosa sehingga dapat digunakan sebagai pemanis pengganti dalam makanan. Selain itu, xilitol memiliki nilai kalori serupa dengan kebanyakan karbohidrat lain yaitu 16,7 KJ/g (4,06 Kkal/g) (Hyvonen, *et al* ; 1982 : 389-390).

Satu-satunya efek samping dari penggunaan poliol adalah kemungkinan terjadinya diare osmotik yang memberikan rasa tidak nyaman namun relatif tidak berbahaya apabila diberikan dosis oral hingga 20 g sampai 30 g (Dills, 1989:178).

4. Biokonversi

Biokonversi adalah suatu proses mikroorganisme yang akan mengubah suatu senyawa menjadi produk yang memiliki kemiripan struktur dan lebih bermanfaat. Sel-sel mikroorganisme dapat digunakan sebagai alat konversi terhadap senyawa-senyawa kimia tertentu sehingga diperoleh senyawa kimia baru. Beberapa reaksi yang dapat dikatalisir oleh mikroorganisme antara lain adalah reaksi dehidrogenasi, hidrogenasi, hidroksilasi, kondensasi, dekarboksilasi, aminasi, deaminasi dan isomerisasi (Rachman, 1989 : 9).

Konversi mikrobiologis ini mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan penggunaan pereaksi-pereaksi kimia, di antaranya adalah dapat berlangsung pada suhu relatif rendah dan tidak memerlukan katalisator logam berat yang dapat mencemari proses konversi (Rachman, 1989 : 9).

Keuntungan lain dari biokonversi adalah spesifitas yaitu organisme yang mengkatalisir biokonversi bertindak sebagai katalis stereospesifik, produksi yang tinggi, kondisi reaksi baik sehingga menghindari konversi substansi yang labil dalam nilai pH yang rendah atau tinggi dalam prosesnya (Hardjo, 1989 : 17-21).

Ada beberapa alasan digunakannya biokonversi daripada langkah-langkah kimiawi, di antaranya adalah:

- a. Suatu konversi zat yang bersifat labil terhadap pH rendah maupun tinggi atau panas dapat berlangsung.
- b. Reaksi dapat dilangsungkan pada berbagai posisi dalam molekul yang biasanya tidak dapat bereaksi karena kurang aktivasi.
- c. Penggabungan beberapa reaksi sering dapat dilakukan oleh mikroorganisme yang mengandung beberapa enzim.

Salah satu cara dari biokonversi adalah dengan fermentasi. Menurut Timotius (1982), pengertian fermentasi adalah semua proses metabolisme atau katabolisme atau bioenergi yang menggunakan senyawa organik sebagai aseptor elektron terminal atau terakhirnya. Dari segi biokimia, fermentasi adalah aktivitas mikroba untuk memperoleh energi melalui pemecahan substrat atau katabolisme guna keperluan metabolisme dan pertumbuhannya. Jadi salah satu fungsi substrat yang terpenting adalah sebagai sumber energi di samping sebagai bahan pembentuk sel dan produk metabolisme (Rachman, 1989 : 17).

Fermentasi dapat dilakukan dalam medium padat maupun cair. Dibandingkan dengan medium padat, medium cair mempunyai beberapa kelebihan yaitu:

- a. Jenis dan komponen – komponen medium dapat diatur sesuai dengan yang diinginkan.
- b. Memberikan kondisi yang optimum untuk pertumbuhan.
- c. Pemakaian medium lebih efisien.
- d. Tidak memerlukan jumlah inokulum yang tinggi (Muchtadi, 1992).

Medium cair digunakan pada fermentasi permukaan dan fermentasi terendam. Fermentasi permukaan merupakan cara fermentasi yang telah sejak lama dipraktekkan untuk memproduksi berbagai produk fermentasi misalnya, produk asam asetat secara tradisional. Fermentasi permukaan ini mulai ditinggalkan sejak fermentasi terendam terbukti lebih efisien, khususnya yang bernilai ekonomis tinggi dan menghendaki sterilitas yang tinggi seperti produksi antibiotik (Rahman, 1992). Metode – metode fermentasi yang lazim digunakan antara lain sebagai berikut:

- a. Fermentasi *batch* (sistem tertutup)

Metode *batch* merupakan metode fermentasi di mana setelah inokulasi tidak dilakukan penambahan medium kecuali penambahan oksigen (udara steril), antibiuh dan asam / basa untuk mengontrol pH. Waktu

fermentasi yang semakin lama menyebabkan laju pertumbuhan spesifik mikroba semakin menurun sampai akhirnya pertumbuhan terhenti. Ini dikarenakan akumulasi outotoksin yang mempengaruhi laju pertumbuhan atau kombinasi keduanya.

b. Fermentasi *fed-batch*

Metode *fed-batch* merupakan metode fermentasi di mana unsur yang penting dari larutan nutrisi ditambahkan dalam konsentrasi kecil pada permulaan fermentasi dan ditambahkan terus dalam dosis kecil selama fase produksi.

c. Fermentasi kontinyu

Metode kontinyu merupakan metode fermentasi di mana larutan nutrisi steril dalam volume tertentu ditambahkan ke dalam fermentor secara terus menerus dan pada saat bersamaan, cairan fermentasi yang mengandung sel dan produk fermentasi dikeluarkan dari fermentor dengan volume yang sama. Konsentrasi sel, laju pertumbuhan spesifik, konsentrasi produk dan konsentrasi nutrisi dalam medium tidak mengalami perubahan dengan bertambahnya waktu fermentasi (Rahman, 1992; Cruger and Cruger, 1984).

Pada fermentasi, perancangan medium pertumbuhan dan pembentukan hasil merupakan kunci keberhasilan percobaan atau produksi. Konstituen medium harus mencakup semua unsur yang diperlukan dan suplai energi untuk sintesis serta pemeliharaan yang dilengkapi dengan vitamin dan mineral (Hardjo, 1989 : 69-70). Pada fermentasi skala besar, diperlukan sumber-sumber nutrisi yang memenuhi kriteria sebagai berikut (Rachman, 1989 : 91) :

- a. Dapat memproduksi produk atau biomassa dengan hasil maksimal untuk setiap gram substrat yang digunakan.
- b. Memungkinkan pembentukan produk fermentasi dengan laju yang maksimal.
- c. Dapat menekan pembentukan produk yang tidak diinginkan sampai serendah mungkin.
- d. Mutu yang efisien, murah dan tersedianya sepanjang tahun.
- e. Tidak menimbulkan masalah terhadap aerasi, agitasi, ekstraksi, dan pemurnian hasil serta perlakuan limbah.

Pada proses biokonversi, produk yang dihasilkan berhubungan dengan pertumbuhan mikroba yaitu khamir dalam media produksinya. Ada beberapa fase dalam pertumbuhan khamir di dalam suatu kultur media yaitu (Fardiaz, 1987 : 15-16):

- a. Fase adaptasi yaitu khamir menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan di sekitarnya. Lamanya fase adaptasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah medium dan lingkungan pertumbuhan serta jumlah inokulum. Fase adaptasi dapat berjalan lambat karena beberapa sebab,

misalnya kultur dipindahkan dari medium yang kaya nutrisi ke medium yang kandungan nutrisinya terbatas, atau karena mutan yang baru dipindahkan dari fase statis ke medium baru dengan komposisi sama seperti sebelumnya.

- b. Fase pertumbuhan awal, pada fase ini khamir mulai berkembangbiak (tumbuh) dengan kecepatan yang rendah karena baru mulai penyesuaian diri.
- c. Fase pertumbuhan logaritmik, pada fase ini khamir tumbuh dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan dan kelembaban udara.
- d. Fase pertumbuhan lambat, pada fase ini pertumbuhan populasi sel khamir diperlambat karena beberapa sebab, di antaranya adalah zat-zat nutrisi dalam medium sudah sangat berkurang dan adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.
- e. Fase pertumbuhan tetap (statis), pada fase ini jumlah populasi sel khamir tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati.
- f. Fase menuju kematian dan fase kematian, pada fase ini sebagian populasi khamir mulai mengalami kematian karena beberapa sebab, yaitu nutrisi di dalam medium sudah habis dan energi cadangan di dalam sel habis.

Menurut Winkelhausen dan Kuzmanova (1998) ada dua enzim utama dalam produksi xilitol oleh khamir, yaitu D-xilosa reduktase dan xilitol-dehidrogenase. Salah satu khamir yang dapat memproduksi kedua enzim tersebut adalah *Debaryomyces hansenii*.

Pada proses biokonversi xilosa menjadi xilitol oleh khamir dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain :

a. Nutrisi

Nutrisi penting yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah karbon, hydrogen, oksigen, nitrogen, fosfor, dan unsur-unsur mikro seperti besi, kalsium, mangan, magnesium, seng dan lainnya (Hardjo, 1989 : 70) :

1) Sumber karbon

Sumber energi yang biasa digunakan adalah senyawa organik sumber karbon seperti karbohidrat, lemak dan protein. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang paling banyak digunakan dalam proses fermentasi (Rachman, 1989 : 92). Pada beberapa spesies bakteri, senyawa-senyawa karbon yang dapat berfungsi sebagai sumber karbon terbatas pada beberapa senyawa. Salah satu sumber karbon yang umum digunakan dan mudah dioksidasi adalah karbohidrat khususnya monosakarida seperti glukosa (Pelczar dan Chan, 1986 : 132-133).

2) Sumber nitrogen

Sebagian besar mikroorganisme menggunakan baik senyawa anorganik maupun senyawa organik sebagai sumber nitrogen. Sumber nitrogen anorganik antara lain gas ammonia, garam ammonium dan nitrat. Sedangkan asam amino, protein dan urea merupakan sumber nitrogen organik. Sumber nitrogen yang digunakan akan mempengaruhi proses fermentasi (Rachman, 1989 : 92).

3) Mineral

Magnesium, fosfat, kalium, sulfur, kalsium dan klorin merupakan komponen penting dalam medium fermentasi. Konsentrasi mineral baik tunggal maupun campuran sangat berpengaruh terhadap proses fermentasi tertentu (Rachman, 1989 : 93). Sedangkan kobalt, besi, mangan, molibdat, tembaga dan seng umumnya terdapat dalam media sebagai bagian dari komponen makro, jumlah yang dibutuhkan biasanya amat kecil dan diukur dalam ppm (Pelczer dan Chan, 1986 : 133).

4) Vitamin

Sebagian besar sumber karbon dan sumber nitrogen alami mengandung semua atau beberapa vitamin yang dibutuhkan. Defisiensi vitamin tertentu dapat diatasi dengan cara mencampur berbagai substrat sumber karbon atau nitrogen (Rachman, 1989 : 93).

b. Substrat

Substrat adalah zat yang dapat bereaksi dengan enzim. Dalam proses biokonversi xilosa menjadi xilitol, substrat yang digunakan adalah xilosa baik xilosa murni maupun xilosa yang berasal dari hidrolisat hemiselulosa.

Konsentrasi xilosa dalam media sangat mempengaruhi pertumbuhan khamir dan proses fermentasi. Bersama-sama dengan aerasi, konsentrasi xilosa merupakan faktor utama yang mempengaruhi pembentukan xilitol. Xilosa akan menginduksi aktivitas enzim xilosa reduktase dan xilitol dehidrogenase pada khamir (Winkelhausen dan Kuzmanova, 1998 : 6-7).

Konsentrasi xilosa yang tinggi akan menginduksi pembentukan xilitol pada khamir. Semua khamir membutuhkan waktu yang relatif lama untuk mengkonversi xilosa menjadi xilitol karena hal ini berkaitan dengan pembentukan enzim D-xilosa reduktase yang dihasilkan oleh khamir (Winkelhausen dan Kuzmanova, 1998 : 6-7).

c. Temperatur dan pH

Xilitol diproduksi oleh sebagian besar jamur pada temperatur antara 24-45°C, dan temperatur optimum antara 28-30°C. Produksi xilitol dengan bantuan *D. hansenii* berlangsung pada temperatur antara 28-37°C (Dominguez *et al.*, 1997). Selama proses fermentasi pH akan turun secara tidak terkontrol, oleh karena itu kondisi pH awal harus lebih tinggi daripada pH yang teramati (Winkelhausen dan Kuzmanova, 1998 : 6). Sedangkan pH yang sesuai untuk produksi xilitol menggunakan *Debaryomyces hansenii* adalah sekitar 5,5 – 6,5 (Winkelhausen dan Kuzmanova, 1998 : 10; Tavares, Duarte, Collaco dan Girio, 2000 : 744). pH optimum untuk produksi xilitol dari beberapa jamur ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. pH optimum untuk beberapa jenis jamur (Rangaswamy, 2003)

Khamir	pH Optimal
<i>C.tropicalis</i>	4
<i>C.shehatae</i>	4,5
<i>C.parapsilosis</i>	4-5,5
<i>Candida sp.</i>	4-6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	5,5
<i>C.guilliermondii</i>	6,0
<i>C.boidinii</i>	7,0
<i>P.tannophilus</i>	8,0

d. Aerasi

Kondisi percobaan yang sangat menentukan ada tidaknya akumulasi xilitol dalam media adalah faktor aerasi. Jika kondisi percobaan sepenuhnya aerob maka xilitol tidak akan diproduksi, begitu pula jika kondisinya anaerob. Oleh sebab itu telah diketahui bahwa pertumbuhan yang stabil dan simultan hanya akan diperoleh dalam kondisi keterbatasan oksigen.

Ketergantungan khamir yang memfermentasi xilosa terhadap ketersediaan oksigen dapat dibagi menjadi tiga tingkat, yaitu :

- 1) Dalam kondisi anaerob atau rendahnya transfer oksigen, sistem transport elektron dari khamir tidak akan mampu untuk mengoksidasi NADH secara sempurna. Akibatnya konsentrasi NADH secara intraseluler meningkat dan menyebabkan tidak seimbangnya konsentrasi NADH dan NAD yang berperan dalam sekresi xilitol.
- 2) Peningkatan kecepatan transfer elektron menyebabkan peningkatan fermentasi xilosa. Hal ini berhubungan dengan peran oksigen sebagai akseptor elektron terminal yang akan membantu mengembalikan keseimbangan 2 tahap awal metabolisme anaerobik xilosa.
- 3) Ketika persediaan oksigen sangat berlebih, akan terjadi penyimpangan aliran piruvat dari jalur fermentasi ke siklus asam karboksilat sehingga menghasilkan peningkatan massa sel.

(Winkelhausen dan Kuzmanova, 1998 : 7-8).

e. Inokulum

Inokulum adalah kultur mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi pada saat kultur mikroorganisme tersebut berada pada fase pertumbuhan logaritmik (Rachman, 1989 : 108). Konsentrasi inokulum yang dimasukkan ke dalam media produksi akan mempengaruhi jumlah xilitol yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Felipe, *et al* (1997), konsentrasi inokulum yang dapat menghasilkan xilitol dari hidrolisat hemiselulosa bagase dalam jumlah maksimal adalah 3,0 g/l (Roberto, *et al* ; 1996 : 348-350).

5. *Debaryomyces hansenii*

Klasifikasi *Debaryomyces hansenii* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Ascomycota
Subdivisi	: Ascomycotina
Kelas	: Hemiascomycetes
Ordo	: Endomycetes
Famili	: Saccharomycetaceae
Subfamili	: Saccharomycoideae
Genus	: <i>Debaryomyces</i>
Spesies	: <i>Debaryomyces hansenii</i>

Debaryomyces hansenii ini terbentuk sel oval sampai elips dengan pertunasan multilateral. *Debaryomyces hansenii* mungkin membentuk pseudomiselium, tidak membentuk miselium sejati. Askus mengandung 1 – 2 , kadang-kadang 4 spora bulat dengan dinding bergerigi. Khamir ini tidak mengasimilasi nitrat (Fardiaz, S, 1991 : 116).

Debaryomyces hansenii merupakan khamir laut yang mempunyai toleransi yang tinggi terhadap kadar garam (salinitas) sampai 24 %. Khamir ini merupakan khamir yang banyak terdapat pada semua jenis keju. Dapat tumbuh dengan adanya garam dan pada suhu yang rendah. *Debaryomyces hansenii* ini dapat memetabolisir asam laktat dan asam sitrat, mempunyai aktivitas proteolitik dan lipolitik selama proses pematangan keju dan bersifat non-patogenik (Lepingle, et al, 2000 : 82).

Khamir jenis ini dapat digunakan untuk memproduksi xilitol dengan proses fermentasi. Parajo, et al (1996) telah melakukan produksi xilitol dari kayu *Eucalyptus globules* dengan menggunakan khamir *Debaryomyces*

hansenii dengan yield produk sebesar 0,79 g/g dan produksi xilitol sampai 0,033 g/L/jam.

6. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi merupakan metode yang digunakan untuk pemisahan, identifikasi dan penentuan kadar suatu senyawa kimia yang terdapat dalam campuran. Prinsip kerja kromatografi adalah memisahkan komponen dalam suatu campuran pada saat campuran tersebut dilewatkan pada fase diam yang dibawa oleh fase gerak berupa cairan atau gas. Pemisahan komponen dalam suatu campuran tersebut didasarkan pada perbedaan kecepatan pemisahan dari setiap komponen dalam sampel (Skoog, *et. al.*, 1996).

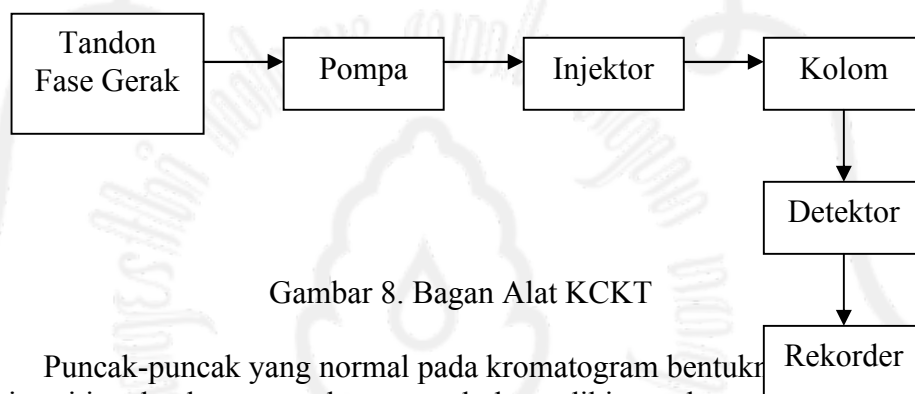
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fasa gerak cairan dan fasa diam cairan atau padat. Banyak kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan metode lainnya. Kelebihan itu antara lain:

- a. Mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran
- b. Mudah melaksanakannya
- c. Kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi
- d. Dapat dihindari terjadinya dekomposisi / kerusakan bahan yang dianalisis
- e. Resolusi yang baik
- f. Dapat digunakan bermacam-macam detektor
- g. Kolom dapat digunakan kembali
- h. Mudah melakukan "sample recovery"

Molekul besar dan ion tidak dapat dipisahkan dengan kromatografi gas (KG) karena keatsiriannya rendah, sedangkan KCKT dapat untuk menganalisis molekul besar dan ion. KG biasanya menggunakan senyawa turunan yang lebih atsiri agar dapat menganalisa. Jadi komponen-komponen sampel diubah menjadi derivat yang atsiri yang kemudian dapat dikromatografikan.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan suatu metoda pemisahan canggih dalam analisis farmasi yang dapat digunakan sebagai uji identitas, uji kemurnian dan penetapan kadar. Titik beratnya adalah untuk analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap dan tidak stabil pada suhu tinggi, yang tidak bisa dianalisis dengan Kromatografi Gas. Banyak senyawa yang dapat dianalisis, dengan KCKT mulai dari senyawa ion anorganik sampai senyawa organik makromolekul. Untuk analisis dan pemisahan obat /bahan obat campuran rasemis optis aktif dikembangkan suatu fase pemisahan kiral (chirale Trennphasen) yang mampu menentukan rasemis dan isomer aktif" (Putra, Effendi de lux, 2004).

Alat KCKT terdiri dari tandon fase gerak, pompa, kolom, detektor dan rekorder. Tandon fase gerak berisi larutan sebagai fase gerak yang kemudian dipompa ke dalam kolom oleh pompa. Sampel diinjeksikan ke dalam kolom melalui injektor dan selanjutnya dibawa fase gerak ke dalam kolom. Kolom merupakan jantung KCKT, sebab keberhasilan atau kegagalan analisis bergantung pada pilihan kolom dan kondisi kerja yang tepat. Setelah sampel melewati kolom, maka komponen-komponennya akan terpisah dan keluar dari kolom dengan waktu yang berbeda. Detektor diperlukan untuk mengindera adanya komponen cuplikan di dalam eluen kolom dan mengukur jumlahnya. Hasil pembacaan detektor dikirim ke rekorder. Rekorder akan membuat suatu tampilan yang disebut kromatogram yang merupakan grafik tinggi puncak (mm) versus waktu retensi (menit) (Padmawinata, 1991). Bagan alat KCKT ditampilkan pada gambar 8.



Gambar 8. Bagan Alat KCKT

Puncak-puncak yang normal pada kromatogram berbentuk seperti segitiga dan karenanya luas puncak dapat dihitung dengan cara pendekatan tinggi puncak dikalikan lebar puncak pada setengah tinggi

. Umumnya pengukuran melibatkan lebar puncak pada setengah tinggi ternyata paling berguna karena hal ini dapat dipakai pada puncak yang tidak terpisah sempurna / puncak yang menunjukkan pembentukan ekor sedikit (Padmawinata, 1991).

B. Kerangka Pemikiran

Tanaman jagung merupakan sumber bahan berpati yang potensial di mana salah satu komponen terbesarnya adalah hemiselulosa. Kandungan hemiselulosa terbesar pada limbah tanaman jagung ditemukan dalam bonggol jagung. Hemiselulosa sangat mudah dihidrolisis menjadi campuran gula pereduksi dengan xilosa sebagai komponen terbesar. Hasil dari hidrolisis hemiselulosa ini disebut dengan hidrolisat hemiselulosa. Hidrolisis hemiselulosa dilakukan dengan asam untuk mencegah terbentuknya beberapa produk degradasi yang dapat

menghambat proses biokonversi oleh mikroorganisme. Xilosa yang merupakan komponen terbesar dalam hidrolisat hemiselulosa, melalui proses biokonversi oleh *Debaryomyces hansenii* dapat diubah menjadi xilitol. *Debaryomyces hansenii* dapat menghasilkan enzim D-xilosa reduktase dan xilitol-dehidrogenase yang merupakan enzim utama dalam produksi xilitol.

Proses biokonversi xilosa menjadi xilitol oleh *Debaryomyces hansenii* dipengaruhi beberapa faktor, antara lain: nutrisi, substrat, temperatur, pH, aerasi dan inokulum. Salah satu nutrisi penting yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah nitrogen. Sumber nitrogen yang digunakan akan mempengaruhi proses fermentasi. Sumber nitrogen dapat berasal dari senyawa anorganik maupun organik. Salah satu sumber nitrogen organik yaitu urea. Dengan membuat variasi penambahan urea diharapkan xilitol yang dihasilkan dari proses biokonversi lebih optimal.

C. Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas, dapat diajukan hipotesis sebagai berikut:

1. Optimasi konsentrasi urea sebagai sumber nitrogen tambahan akan menghasilkan prosentase xilitol yang optimal.
2. Prosentase xilitol yang dihasilkan bonggol jagung sekitar 25 % dari berat keringnya (Kiyoshi Tada *et. al.*, 2004).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Metode yang dipakai adalah metode eksperimen di laboratorium.

Variabel yang dipelajari dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi yaitu konsentrasi urea sebagai sumber nitrogen dalam proses produksi xilitol oleh *Debaryomyces hansenii*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Desember 2008 – September 2009 di Laboratorium Pusat Biologi MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Analisis KCKT dilakukan di Laboratorium Afiliasi Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Indonesia, Depok.

C. Alat dan Bahan Yang Digunakan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- 1) Autoklaf (Ogawa Seiki OSK 6500)
- 2) Timbangan analitik (Mettler Toledo)
- 3) Rotary shaker (VSJ-10B)
- 4) Sentrifuge (Hettich Mikro 22)
- 5) Inkubator (Selecta Hotcold-M)
- 6) Oven (Lab Line)
- 7) Rotary evaporator (BIBBY RE200)
- 8) pH meter (TPS 900-P)
- 9) Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Shimadzu, kolom Zorbax carbohydrat, pompa LC-6A, detector RID-2A, oven CTO-6A, λ 254 nm)
- 10) Penyaring bakteri (milipore 0,45 μ m)
- 11) Ose
- 12) Lemari pendingin
- 13) Peralatan gelas

Gambar alat utama ditampilkan pada lampiran 5.

2. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain :

- 1) Mikroorganisme

Khamir yang digunakan adalah *Debaryomyces hansenii* UICC Y-276 yang diperoleh dari University of Indonesia Cultur Collection (UICC) Departemen Biologi FMIPA UI, Depok.

- 2) Substrat

Substrat yang digunakan adalah hidrolisat hemiselulosa dari limbah tanaman jagung berupa: bonggol jagung.

3) Media

Media yang digunakan dalam percobaan terbagi menjadi tiga macam, yaitu :

a) Media pemeliharaan dengan komposisi :

- ekstrak khamir 0,3 g
 - pepton 0,5 g
 - glukosa 1 g
 - agar 1,5 g
- akuades ditambahkan sampai volume 100 mL

b) Media prekulturan dengan komposisi :

- ekstrak khamir 3 ose
 - xilosa 1,0 g
 - glukosa 0,5 g
 - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,3 g
 - $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g
 - methanol 1,0 mL
- akuades ditambahkan sampai volume 50 mL

c) Media fermentasi dengan komposisi :

- hidrolisat hemiselulosa limbah jagung 9,0 mL
- prekulturan 5 mL
- urea - *)
- methanol 1,0 mL

- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g

- akuades ditambahkan sampai volume 50 mL

*) konsentrasi urea 1 % (b/v) divariasikan penambahannya yaitu : 5, 10 dan 15 mL

4) Bahan kimia

- Xilitol
- H_2SO_4 0.036 M (E MERCK)
- $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (E MERCK)
- akuabidestilata

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan

a). Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan untuk melakukan percobaan ini disterilkan dengan cara yang cocok untuk masing-masing alat. Semua alat-alat gelas dan alat-alat lain yang tahan panas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian alat-alat tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu $\pm 70^\circ\text{C}$ selama 2 jam.

b). Sterilisasi Media Prekultur dan Media Fermentasi

Larutan-larutan yang mengandung nutrisi disterilisasi secara terpisah menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Larutan urea disterilisasi secara filtrasi melalui membran dengan pori-pori berukuran $0,45 \mu\text{m}$.

c). Pemeliharaan Biakan

Debaryomyces hansenii dipelihara di media agar miring (media pemeliharaan) dan diinkubasi pada suhu kamar, $28 - 30^\circ\text{C}$ selama 2 hari.

Setelah tumbuh, biakan dapat disimpan dalam lemari pendingin (4°C) sebagai biakan stok (*stock culture*).

d). Penyiapan Inokulum (Prekultur)

Prekultur disiapkan dengan cara memindahkan sel dari media pemeliharaan (media agar miring) ke dalam Erlenmeyer 125 mL yang berisi 50 mL media prekultur sebanyak ± 3 ose dengan diameter 3 mm. Prekultur diinkubasi pada rotary shaker dengan kecepatan tetap selama 48 jam.

2. Pembuatan kurva xilosa dan xilitol standar

Kurva xilosa dan xilitol standar dibuat dengan konsentrasi 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL, 25 mg/mL dan 50 mg/mL. Kurva xilitol standar dibuat dengan menggunakan konsentrasi 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL, 25 mg/mL dan 50 mg/mL.

3. Hidrolisis hemiselulosa dari limbah tanaman jagung berupa bonggol jagung

- a. Bonggol jagung dikeringkan terlebih dahulu di bawah sinar matahari kemudian dipotong kecil-kecil
- b. Bonggol jagung sebanyak 100 gram dihidrolisis menggunakan H_2SO_4 0,036 M dengan perbandingan 1 g limbah tanaman jagung dalam 6 mL H_2SO_4 . Hidrolisis dilakukan dalam autoklaf, suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 20 menit.
- c. Fraksi cair diambil kemudian dipekatkan hingga $\pm 1/5$ volume awal, dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C.
- d. Hidrolisat hasil hidrolisis yang telah dipekatkan dinetralkan dengan menambahkan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ hingga diperoleh pH 10, disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit, lalu ditambahkan H_2SO_4 untuk menurunkan pH sampai ± 6 .

- e. Hidrolisat yang telah dinetralisasi, disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit, lalu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk selanjutnya digunakan sebagai substrat.

4. Kultur fermentasi

Media fermentasi dibuat sebanyak 3 buah, masing-masing 50 mL di dalam labu Erlenmeyer 125 ml yang terdiri dari hidrolisat hemiselulosa bonggol jagung ditambah urea 1 % (b/v) dengan variasi penambahan 5 mL, 10 mL dan 15 mL. Selain kedua komponen tersebut (hidrolisat hemiselulosa dan urea), kultur fermentasi ini juga mengandung methanol, ekstrak khamir dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Khamir dipipet sebanyak 5 mL dari prekultur, dimasukkan ke dalam kultur fermentasi, dan kemudian diinkubasi pada suhu 28 - 30 °C menggunakan rotary shaker dengan kecepatan 200 rpm selama 4 hari. Teknik fermentasi yang digunakan adalah fermentasi *batch*. Suhu yang dipakai selama proses fermentasi sekitar 28 - 30°C. Hasil fermentasi dimonitor dengan cara menganalisis sampel secara periodik setiap hari selama 4 hari.

5. Pengambilan sampel (*sampling*)

Setiap harinya diambil 2,5 mL sample dari media produksi selama 4 hari. Sebelum digunakan sample terlebih dahulu disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit, diambil filtratnya dan disaring melalui penyaring bakteri berdiameter 0,45 μm .

E. Teknik Analisa Data

Teknik analisis data yang digunakan adalah dengan mengukur konsentrasi xilosa dan xilitol dari sampel yang diambil dari media fermentasi setiap hari mulai hari pertama sampai hari keempat. Pengukuran konsentrasi sampel tersebut dilakukan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan

fase geraknya acetonitril : aquades (3 : 1), kecepatan alir 2 mL/menit, suhu 35 °C, detektor Refractive Index Detector (RID), λ 254 nm dan kolom Zorbax Carbohydrate 4.6 X 150 mm.

Dari hasil kromatogram untuk larutan xilosa dan xilitol standar, dibuat kurva standarnya (konsentrasi vs luas area) dan dicari persamaan garisnya. Dari data kromatogram untuk masing-masing sampel, dicari konsentrasi xilosa dan xilitolnya dengan cara memplotkan pada kurva xilosa dan xilitol standar, sehingga akan didapatkan konsentrasi xilosa dan xilitol untuk masing-masing sampel.

Untuk menentukan produk xilitol (Y), digunakan rumus:

$$Y = \frac{\text{jumlah xilitol yang dihasilkan}}{\text{Jumlah xilosa yang dikonsumsi}}$$

Jumlah xilosa yang dikonsumsi

Sedangkan untuk jumlah xilosa yang dikonsumsi (X) ditentukan dengan:

$$X = \text{jumlah xilosa awal} - \text{jumlah xilosa akhir}$$

Sehingga konsumsi xilosa (%):

$$X (\%) = \frac{\text{jumlah xilosa awal} - \text{jumlah xilosa akhir}}{\text{Jumlah xilosa awal}} \times 100\%$$

F. Teknik Penafsiran dan Penyimpulan Hasil

Data hasil eksperimen diolah secara deskriptif. Pembuktian hipotesis tersebut dilakukan dengan pengukuran konsentrasi masing-masing sampel dengan komposisi bahan yang berbeda.

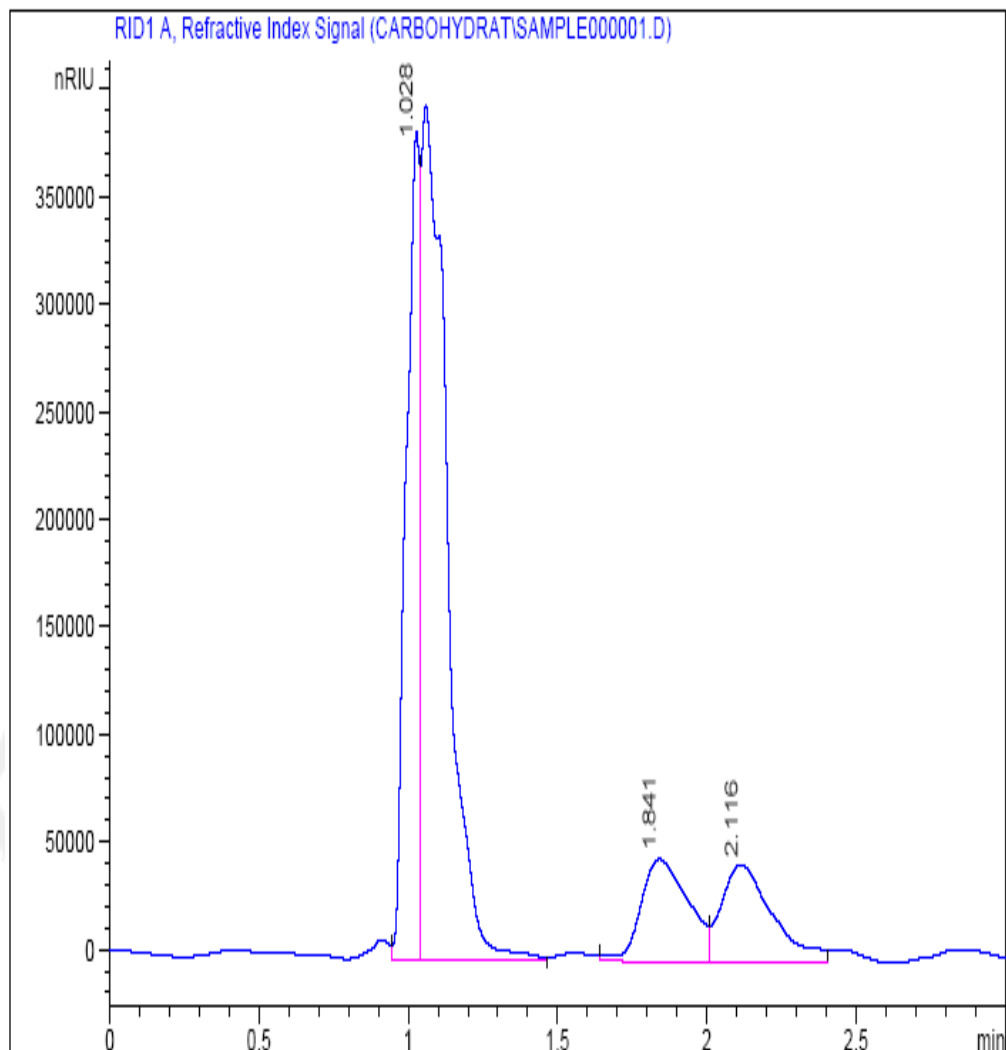
Hasil yang optimal dari variasi jumlah penambahan urea diketahui dengan cara membandingkan harga atau nilai produknya. Dari hasil tersebut akan diperoleh konsentrasi urea sebagai sumber nitrogen yang dapat digunakan untuk pembuatan xilitol oleh *Debaryomyces hansenii* sehingga diperoleh produk yang optimal.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan kurva xilosa dan xilitol standar

Pembuatan kurva standar ini dilakukan dengan membuat larutan xilosa dan xilitol standar pada berbagai konsentrasi yang diukur menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Kromatogram untuk xilosa dan xilitol standar pada konsentrasi 5 mg/ml ditampilkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Kromatogram xilosa dan xilitol standar pada konsentrasi 5 mg/ml

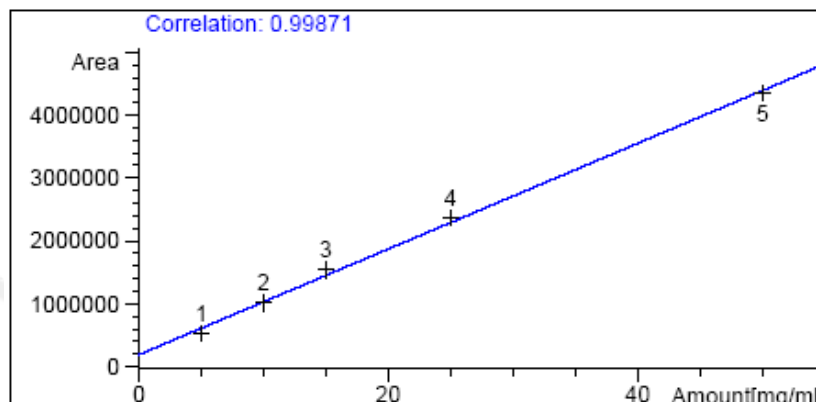
Hasil analisis dengan KCKT tersebut menunjukkan bahwa xilosa muncul pada waktu retensi 1,841, sedangkan xilitol muncul pada waktu retensi 2,116. Konsentrasi xilosa dan xilitol standar yang digunakan untuk membuat kurva standar adalah 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL, 25 mg/mL dan 50 mg/mL. Kromatogram untuk xilosa dan xilitol standar pada konsentrasi 10 mg/mL, 15 mg/mL, 25 mg/mL dan 50 mg/mL ditampilkan pada lampiran 1.

Dari data hasil kromatografi tersebut diperoleh data konsentrasi (mg/mL) dan luas area untuk xilosa dan xilitol. Data konsentrasi dan luas area xilosa standar ditampilkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Data konsentrasi dan luas area xilosa standar.

Konsentrasi (mg/mL)	Luas area
5	523258,031
10	1014611,438
15	1537399,500
25	2365155,250
50	4343931,500

Berdasarkan data pada Tabel 6 diperoleh kurva seperti pada Gambar 10 dengan persamaan garis $y = 192\,914,4140 + 83997,9395 x$ ($r = 0,9987119$).



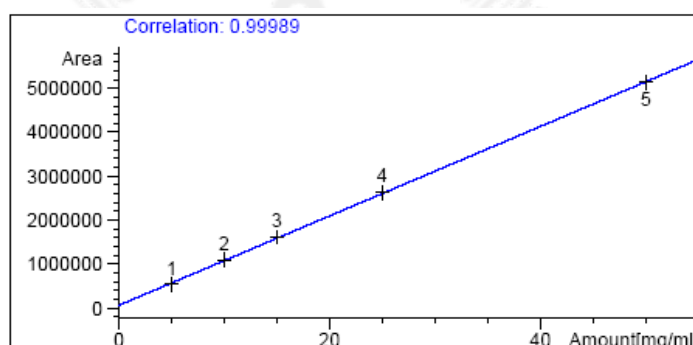
Gambar 10. Kurva xilosa standar

Sedangkan data konsentrasi dan luas area untuk xilitol standar ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Data konsentrasi dan luas area xilitol standar

Konsentrasi (mg/mL)	Luas area
5	537514,688
10	1098943,000
15	1613211,375
25	2630201,500
50	5135325,500

Berdasarkan data pada Tabel 7 diperoleh kurva seperti pada gambar 11 dengan persamaan garis $y = 68689,0125 + 101635,7238 x$ ($r = 0,9998935$).



Gambar 11. Kurva xilitol standar

2. Hidrolisis hemiselulosa bonggol jagung

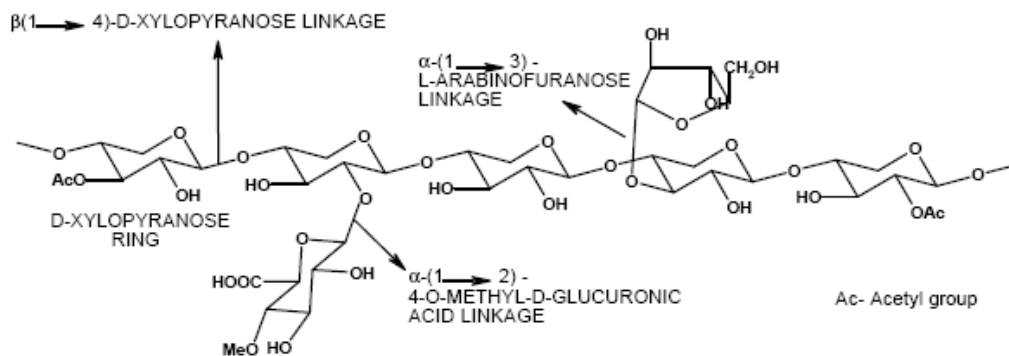
Produksi xilitol dilakukan melalui proses fermentasi oleh *Debaryomyces hansenii* menggunakan hidrolisat hemiselulosa sebagai substratnya. Hemiselulosa yang dihidrolisis merupakan hemiselulosa dari limbah tanaman jagung berupa bonggol jagung. Hidrolisat hemiselulosa diperoleh melalui proses hidrolisis asam pada bonggol jagung yang sebelumnya telah dipotong kecil-kecil. Pemotongan bonggol jagung menjadi bagian yang lebih kecil bertujuan memperlebar luas permukaannya sehingga proses hidrolisis hemiselulosa berlangsung lebih optimal.

Komponen utama dari hidrolisat hemiselulosa bonggol jagung adalah xilosa yang nantinya akan dikonversi menjadi xilitol melalui proses fermentasi.

Hidrolisis dilakukan dalam larutan H_2SO_4 0,036 M dengan perbandingan H_2SO_4 : bonggol jagung adalah 6 : 1. Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 1 atm selama 20 menit. Dari proses hidrolisis asam ini diperoleh larutan berwarna coklat kekuningan, beraroma harum dan sangat encer. Pemisahan bonggol jagung dengan larutan hasil hidrolisis dilakukan melalui proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Selanjutnya hidrolisat tersebut diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan putar tetap hingga volume larutan berkurang menjadi $\pm 1/5$ volume awalnya. Penguapan ini juga bertujuan untuk meningkatkan konsentrasi xilosa sebagai substrat dalam produksi xilitol.

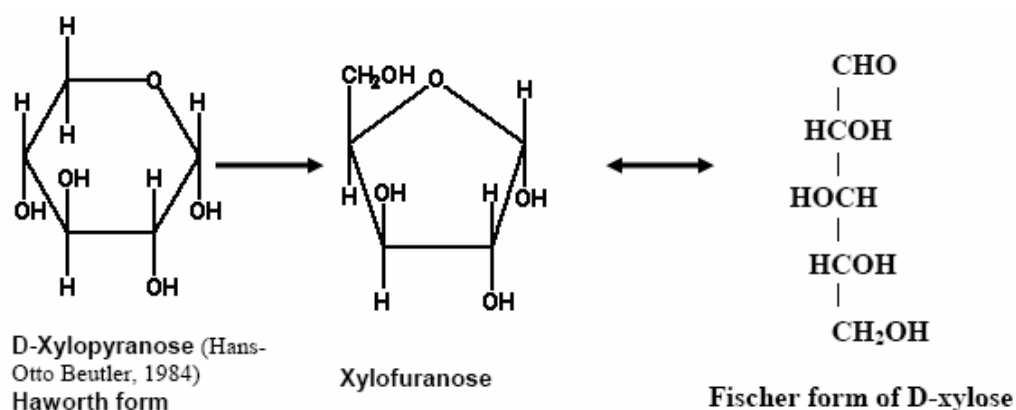
Hasil hidrolisis hemiselulosa bonggol jagung tersebut ditambah dengan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sampai diperoleh pH sekitar 10. Penambahan basa tersebut bertujuan agar inhibitor yang tidak dikehendaki akan terendapkan. Hal ini dapat terlihat ketika ditambahkan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ terbentuk endapan yang berwarna putih dan larutan hidrolisat semakin keruh.

Hidrolisat tersebut kemudian disentrifugasi untuk memisahkan endapan yang terbentuk. Filtrat diambil dan ditambah asam sulfat encer sampai diperoleh pH sekitar 6. Penambahan asam sulfat tersebut dilakukan untuk mengurangi zat-zat dalam hidrolisat yang dapat berperan sebagai inhibitor dalam fermentasi. Hal ini dikarenakan hidrolisat hemiselulosa tidak hanya mengandung komponen xilosa saja, melainkan juga komponen lain yang dapat bersifat sebagai inhibitor dalam proses fermentasi. Menurut Marie *et al.*, (1996), ada beberapa macam inhibitor yang dihasilkan selama hidrolisis asam dari hemiselulosa bonggol jagung, diantaranya adalah asam asetat, asam phitat dan furfural. Nilai pH tersebut dipilih karena merupakan pH yang sesuai dengan kondisi fermentasi oleh *Debaryomyces hansenii* (Wilkenhausen dan Kuzmanova, 1998). Struktur xilan ditampilkan pada Gambar 12.



Gambar 12. Struktur Xilan (Lachke, 2002)

Dari struktur xilan terlihat adanya cincin D-Xylopyranose yang akan diubah menjadi xylofuranose. Cincin xylofuranose yg terbuka membentuk D-Xylose. Alur proses perubahan dari D-Xylopyranose menjadi D-Xylose ditampilkan pada Gambar 13.



Gambar 13. Alur proses perubahan dari D-Xylopyranose menjadi D-Xylose (Rangaswamy, 2003)

Hidrolisat hemiselulosa bonggol jagung dikondisikan dengan pH 6 (Tavares, Duarte, Collaco dan Girio, 2000: 744) yang merupakan pH yang sesuai untuk produksi xilitol menggunakan *Debaryomyces hansenii*. Sebelum digunakan, hidrolisat tersebut disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sama seperti sterilisasi bahan-bahan lainnya yang digunakan untuk media fermentasi.

Menurut Kiyoshi Tada *et. al.* (2004) komposisi rata-rata dari bonggol jagung adalah 32 % selulosa, 35 % hemiselulosa, 20 % lignin, 4 % abu dan sisanya komponen lainnya. Berdasarkan eksperimen yang dilakukan oleh Kiyoshi Tada *et. al.* (2004), dari 100 gr/L bonggol jagung dihasilkan 0,25 gr xilosa/gr bonggol jagung sehingga rata-rata konsentrasi xilosa yang dihasilkan adalah 25 gr/L. Sedangkan dari pengukuran konsentrasi xilosa pada hidrolisat hemiselulosa bonggol jagung dengan berat awal 100 g dalam 600 mL larutan asam sulfat 0,036 M menggunakan KCKT diketahui bahwa konsentrasi xilosa awal sebesar 45,760 g/L. Prosentase xilosa yang dihasilkan sebesar 27,46 % (menurut Hespell *et. al.*, 1997 sebesar 31 %). Selanjutnya xilosa akan dikonversi menjadi xilitol oleh *Debaryomyces hansenii*. Dasar dari produksi xilitol ini adalah reduksi xilosa menjadi xilitol, yang apabila dilakukan secara kimiawi memerlukan katalis logam, sedangkan dalam penelitian ini digunakan proses biokonversi dengan menggunakan mikroorganisme khamir yaitu *Debaryomyces hansenii*. Menurut Vongsuvanlert dan Tani (1998), khamir ini menghasilkan enzim xilosa reduktase yang dapat mengkatalisis NADPH-dependen xilosa reduktase sehingga dapat mereduksi xilosa menjadi xilitol.

Pada produksi xilitol dengan cara biokonversi, hidrolisat yang telah dinetralkan dan disterilisasi, ditambahkan ke dalam media produksi atau media fermentasi yang terdiri dari ekstrak khamir (*yeast extract*), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, metanol dan urea sebagai sumber nitrogen. Metanol berfungsi sebagai kosubstrat yang dalam proses oksidasinya mampu melepaskan elektron dari hasil oksidasi NADH dan NADPH yang diperlukan untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol. Khamir *Debaryomyces hansenii* dipindahkan secara aseptis (pemindahan biakan dalam keadaan steril di dekat nyala api) dari media prekultur sebanyak 5 mL. Khamir yang diinokulasikan dalam media produksi tersebut merupakan khamir yang telah dioptimasi kondisinya pada media prekultur. Sistem fermentasi yang digunakan adalah sistem tertutup atau kultur batch. Pada kultur ini tidak ada penambahan medium segar ke dalam kultur media dan pertumbuhan berlangsung sampai terjadinya kekurangan nutrisi penting atau akumulasi produk toksik hasil metabolisme.

Pada penelitian ini, sumber nitrogennya yaitu urea divariasikan konsentrasinya melalui penambahan urea dalam jumlah yang berbeda. Ada tiga macam media fermentasi yang digunakan yaitu media dengan penambahan urea 1% (b/v) sebesar 5 mL, 10 mL dan 15 mL.

Fermentasi dengan penambahan *Debaryomyces hansenii* dilakukan dalam erlenmeyer di atas shaker dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 28 -30 °C selama 4 hari. Hal ini dilakukan untuk menjaga homogenitas nutrisi dan aerasi di dalam media karena persediaan oksigen dalam media dapat mempengaruhi pertumbuhan khamir, ketepatan pengambilan substrat dan kecepatan pembentukan produk. Selama fermentasi, larutan media fermentasi semula berwarna coklat kekuningan jernih kemudian semakin lama berubah menjadi berwarna coklat keruh, hal ini menandakan ada aktivitas mikroorganisme dalam media tersebut.

3. Pengukuran konsentrasi xilosa dan xilitol

Konsentrasi xilos dan xilitol yang dihasilkan selama 4 hari kultivasi, diukur dengan menggunakan KCKT. Kromatogram sampel ditampilkan pada lampiran 2.

Berdasarkan perhitungan (lampiran 3) diperoleh data konsumsi xilosa (%), produksi xilitol (%) yang ditampilkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Produksi xilitol dari media fermentasi oleh *Debaryomyces hansenii* dengan variasi penambahan urea 1 %

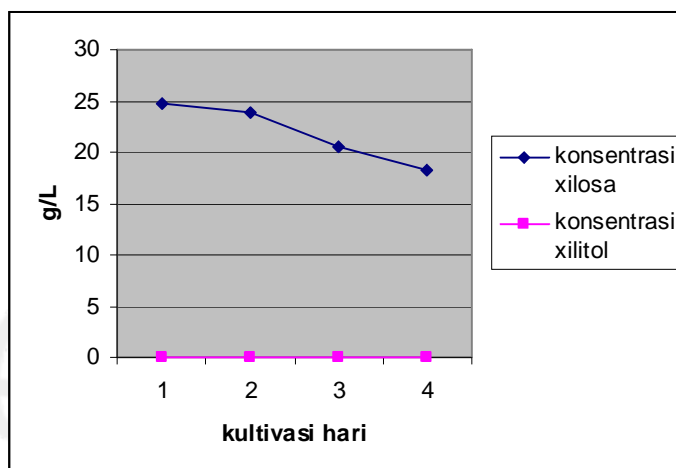
Penambahan urea 1 % (mL)	Konsentrasi xilosa awal (%)	Waktu kultivasi (hari)	Konsumsi xilosa (%)	Produksi xilitol (%)

5	27,46	1	45,60	Tidak Terdeteksi
		2	47,92	Tidak Terdeteksi
		3	55,05	Tidak Terdeteksi
		4	60,28	Tidak Terdeteksi
10	27,46	1	67,05	Tidak Terdeteksi
		2	70,33	Tidak Terdeteksi
		3	70,74	Tidak Terdeteksi
		4	74,01	35,68
15	27,46	1	51,76	Tidak Terdeteksi
		2	53,45	69,55
		3	57,07	70,52
		4	59,56	68,32

Produksi xilitol pada media fermentasi dengan penambahan 5 mL urea 1 %

Pada media produksi dengan penambahan 5 mL urea 1 % tidak dihasilkan xilitol sama sekali selama 4 hari kultivasi. Dengan sedikitnya jumlah urea yang ditambahkan dalam media, maka sedikit jumlah nitrogen yang ada dalam media yang digunakan sebagai nutrisi bagi pertumbuhan sel khamir. Pertumbuhan khamir berjalan lambat sehingga mengakibatkan konsumsi xilosa pada media produksi dengan penambahan 5 mL urea memperlihatkan prosentase paling rendah dibanding konsumsi xilosa pada media produksi lainnya. Pada hari pertama kultivasi konsumsi xilosa sebesar 21,040 g/L dengan prosentase konsumsi xilosa sebesar 45,60 %, pada hari kedua kultivasi sebesar 21,929 g/L dengan prosentase sebesar 47,92 %, pada hari ketiga kultivasi sebesar 25,189 g/L dengan prosentase sebesar 55,05 %, dan pada hari keempat kultivasi sebesar 27,584 g/L dengan prosentase sebesar

60,28 %. Grafik konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 5 mL urea 1 % ditampilkan pada Gambar 14.

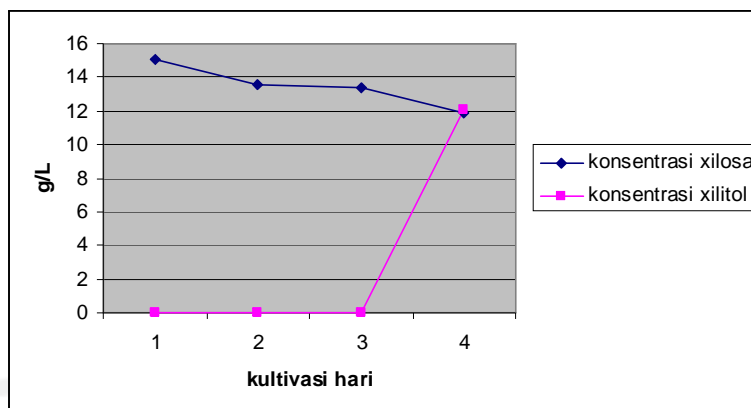


Gambar 14. konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 5 mL urea 1 %

Produksi xilitol pada media fermentasi dengan penambahan 10 mL urea 1 %

Pada media produksi dengan penambahan 10 mL urea 1 %, untuk hari pertama sampai ketiga kultivasi tidak dihasilkan xilitol sama sekali. Sedangkan pada hari keempat kultivasi dihasilkan xilitol sebesar 12,086 g/L dengan produk xilitol 0,3568.g/g (35,68%). Konsumsi xilosa pada hari keempat kultivasi menunjukkan selisih yang paling besar dibanding pada hari-hari sebelumnya. Hal ini menunjukkan adanya pertumbuhan khamir yang cepat yang berarti bahwa sel khamir yang ada dalam media juga bertambah, sehingga aktivitasnya untuk memproduksi xilitol juga meningkat. Xilitol dihasilkan pada hari keempat dikarenakan adanya peningkatan aktivitas sel khamir dan juga masih adanya xilosa dalam media yang dikonversi menjadi xilitol oleh sel khamir tersebut. Ini dapat ditunjukkan dengan meningkatnya konsumsi xilosa oleh khamir yang cukup besar serta ketersediaan jumlah sumber nitrogen dalam hal ini urea yang ditambahkan ke dalam media mencukupi kebutuhan sel khamir untuk tumbuh dan memproduksi xilitol. Grafik konsentrasi xilosa dan

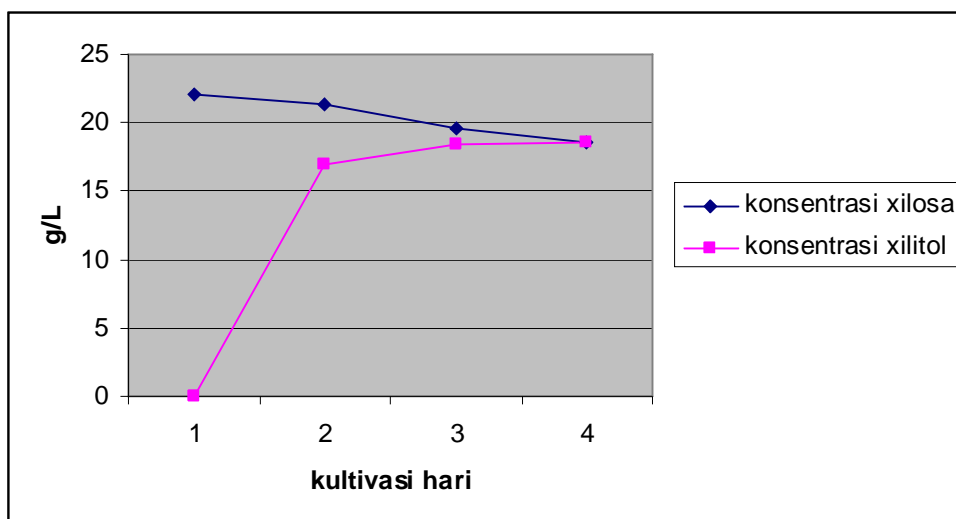
xilitol dalam media produksi dengan penambahan 10 mL urea 1 % ditampilkan pada Gambar 12.



Gambar 12. konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 10 mL urea 1 %

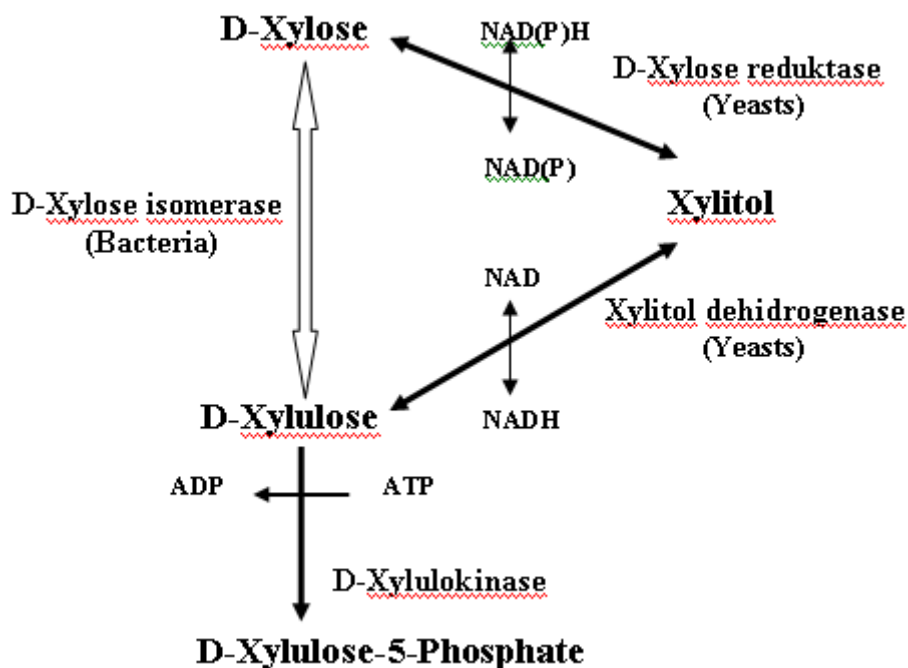
Produksi xilitol pada media fermentasi dengan penambahan 15 mL urea 1 %

Pada media produksi dengan penambahan 15 mL urea 1 %, mulai dihasilkan xilitol pada hari kedua kultivasi sebesar 17,012 g/L dengan produk sebesar 0,6955 g/g (69,55%). Ini merupakan hasil yang cukup besar untuk hari kedua kultivasi. Hal ini dapat disebabkan oleh cukup banyaknya sumber nitrogen yang tersedia di samping nutrisi lainnya yang ada dalam media. Karena cukupnya nutrisi yang tersedia serta konsumsi xilosa yang cukup, maka pertumbuhan sel dan produksi xilitol cukup tinggi pada hari kedua kultivasi. Pada hari ketiga kultivasi terjadi peningkatan xilitol yang dihasilkan yaitu sebesar 18,416 g/L dengan produk sebesar 0,7052 g/g (70,52%). Pada hari keempat kultivasi terjadi peningkatan xilitol yang dihasilkan yaitu sebesar 18,621 g/L dengan produk sebesar 0,6832 g/g (68,32%). Menurunnya produksi xilitol pada hari keempat kultivasi ini disebabkan khamir telah berproduksi pada hari kedua dan ketiga kultivasi cukup tinggi sehingga pada hari keempat terjadi penurunan akibat berkurangnya jumlah nutrisi. Grafik konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 15 mL urea 1 % ditampilkan pada Gambar 13.



Gambar 13. konsentrasi xilosa dan xilitol dalam media produksi dengan penambahan 15 mL urea 1 %

Secara umum terlihat bahwa xilitol yang dihasilkan dari substrat xilosa hasil hidrolisat hemiselulosa bonggol jagung cukup banyak. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah konsentrasi xilosa awal yang digunakan. Xilosa berfungsi sebagai substrat bagi khamir dan juga sebagai sumber karbon dalam pertumbuhannya. Pada penambahan urea 1% dengan konsentrasi 5 mg/mL dari hari pertama sampai keempat serta penambahan urea 1% dengan konsentrasi 10 mg/mL dari hari pertama sampai ketiga kultivasi tidak dihasilkan xilitol sama sekali. Kemungkinan yang terjadi adalah khamir mengonsumsi xilosa untuk pertumbuhannya dan juga mengkonversi xilosa menjadi xilitol. Menurut Vongsuvanlert dan Tani (1998), selain menghasilkan enzim xilosa reduktase yg dapat mengkatalisis NADPH-dependen xilosa redutase untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol, *Debaryomyces hansenii* juga menghasilkan enzim xilitol dehidrogenase yang dapat mengubah xilitol menjadi xilulosa. Hal inilah yang menyebabkan xilitol tidak terdeteksi pada kromatogram. Tahapan fermentasi D-Xilosa ditampilkan pada Gambar 14



Gambar 14. Tahapan fermentasi D-Xilosa (Lachke, 2002)

Ketersediaan oksigen dalam hal ini faktor aerasi juga berperan penting dalam jumlah xilitol yang dihasilkan. Pada produksi xilitol, jika kondisi fermentasi sepenuhnya aerob, maka xilitol tidak akan dihasilkan. Adanya keterbatasan oksigen akan mempengaruhi pertumbuhan yang stabil dan simultan. Hal ini mempengaruhi xilitol yang diproduksi selama proses fermentasi. Sedikitnya jumlah xilitol yang diproduksi dapat disebabkan oleh oksigen yang ada dalam sistem fermentasi sangat anaerob yang dikarenakan oksigen yang ada sebelumnya dalam sistem tersebut (media) digunakan untuk pertumbuhan sel khamir. Menurut Winkelhausen dan Kuzmanova (1998), dalam kondisi anaerob atau rendahnya transfer oksigen, sistem transport elektron dari khamir tidak akan mampu untuk mengoksidasi NADH secara sempurna, sehingga konsentrasi NADH secara intraseluler meningkat dan menyebabkan tidak seimbangnya konsentrasi NADH dan NAD yang berperan pada sekresi xilitol.

Selain itu, konsentrasi inokulum (media prekultur) juga mempengaruhi produktifitas dan konsumsi xilosa. Ini berkaitan dengan populasi khamir yang ada dalam inokulum jumlahnya mungkin kurang untuk melakukan produksi xilitol. Menurut Vogel, Shoper dan Lea (1998), adanya zat-zat inhibitor dalam hidrolisat baik yang terbentuk selama proses hidrolisis maupun proses fermentasi atau produksi seperti asam asetat, asam phitat dan asam laktat dapat pula mempengaruhi proses biokonversi sehingga mempengaruhi produk yang dihasilkan. Asam asetat yang terbentuk selama proses biokonversi tidak mudah terdisosiasi dan dapat melalui membran sel khamir lalu masuk ke dalam sitoplasma sehingga pertumbuhan khamir menjadi terhambat. Akibatnya, produksi xilitol menjadi terbatas karena adanya hambatan dalam penggunaan xilosa oleh khamir.

Sedikitnya jumlah xilosa yang dihasilkan dapat disebabkan adanya zat-zat kimia lain yang tidak teridentifikasi dalam hidrolisat pun dapat menghambat pelepasan xilitol ke dalam media.

Berdasarkan hasil secara keseluruhan, media produksi dengan penambahan 15 mL urea 1 % memberikan produk xilitol paling optimal. Pada media ini dihasilkan produk xilitol optimal pada hari ketiga kultivasi sebesar 70,52 %.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan percobaan yang dilakukan pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Penambahan urea 1% sebesar 15 mL pada hari ketiga kultivasi menghasilkan prosentase xilitol optimal.
2. Presentase xilitol optimal yang dihasilkan dari proses biokonversi xilosa bonggol jagung sebesar 70,52 %.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah berlangsung , saran yang dapat disampaikan adalah:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan xilitol murni
2. Perlu dikaji lebih lanjut tentang variasi penambahan urea yang digunakan pada proses biokonversi ini.
3. Perlu dikaji lebih lanjut usaha menghambat kerja enzim xylitol dehidrogenase dan optimalisasi kerja enzim D-xylose reduktase untuk mendapatkan produk xilitol optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Z., 2001, Production of Natural and Rare Pentoses Using Microorganism and Their Enzymes, *EJB Electronic Journal of Biotechnology*. Vol 4. No 2.3.
- Bar, A., 1991, Xylitol. In *Alternative sweetener*, ed. Nabors, L. O. and Gelardi, R. C. 2nd. edition, 349-379. N.Y., Basel, Hong-Kong: Marcel Dekker Inc.
- Cao, N.J., R. Tang, C.S. Gong, and L.F. Chen, 1994, The effect of cell density on the production of xylitol from D-xylose by yeast, *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 45/46: 515-519.
- Chen, L.- F., C.- S. Gong, 1985, Fermentation of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolyzate to xylitol by a hydrolyzate-acclimatized yeast, *J. Food Science* 50:226-228.
- Counsell, J.N, 1978, *Xylitol*. London: Applied Science Publishers.
- Cruger, W. And A. Cruger, 1984, *Biotechnology: a text book of industrial microbiology*. Science Tech, Inc. Medison.
- Debus, D., H. Methner, D. Schulze, and H. Dellweg, 1983, Fermentation of xylose with the yeast *Pachysolen tannophilus*. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*. 17: 287-291.
- Dills, W.L Jr., 1989, "Sugar alcohols as Bulk Sweeteners". *Annual Review Nutrition*, Vol 9. 161-186
- Domingues, J.M; Gong, C.S dan Tsao, G.T., 1996, Pretreatment of Sugar Cane Bagasse Hemicellulosa Hidrolyzate for Xylitol Production by Yeast. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol 57/58.53.
- Dominguez, J.M., N.J. Cao, C.S. Gong, and G.T. Tsao. 1997. Dilute acid hemicellulose hydrolysates from corncobs for xylitol production of yeast. *Bioresource Technology* 6: (1) 85-90.
- Effendi, Suryatna dan Sulistiadi, 1991, *Bercocok Tanam Jagung*, CV Yasaguna, Jakarta.

- Fardiaz, S., 1987, *Fisiologi Fermentasi*, Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. 15-16
- Fardiaz, S., 1991, *Khamir dan Produk Khamir dalam Industri*, Laboratorium Mikrobiologi Pangan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. 116
- Felipe, M.G.A., Vitolo, M., Mancilha, I.M dan Silva, S.S., 1997, Environmental Parameters Affecting Xylitol Production from Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolyzate by *Candida guilliermondii*, *Journal of Industrial Mikrobiology and Biotechnology*, Vol 18. 251-254.
- Fengel, D dan Wegener, G., 1995, *Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*, Terjemahan : Hardjono Sastrohamidjojo. Gajah Mada University Press. 124-125.
- Fesenden, 1986, *Organic Chemistry*, Wadsworth, Inc, Belmont, California, Alih Bahasa : Pudjaatmaka, A.H., Jilid 2, Pt Gelora Aksara Pratama, Jakarta.
- Fischer, E., and R. Stahel, 1891, Zur Kenntnis der Xylose, *Berichte Dtsch. Chem. Gesellschaft*. 24.528-539.
- Frazier, W.C dan Westhoff, D.C., 1978, *Food Microbiology*. Mc Graw-Hill Book Company, USA. 41
- Hardjo, S., 1989, *Biokonversi : Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor, 17-21, 69-70.
- Hespell, R B., P. J. Q'Bryan, M. Moniruzzaman, and R. J. Bothast, 1997, Hydrolysis by commercial enzyme mixtures of AFEX-treated corn fiber and isolated xylans, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 62: 87-96.
- Hyvonen, L dan P.Koivistoinen, 1982, Food Technology Evaluation of Xylitol. *Advance of Food Research*, Vol 28. 378-398.
- Jean Lu; Tsai, L.B., Gong, C.S dan Tsao, G.T., 1995, Effect of Nitrogen Source on Xylitol Production from D-Xylose by *Candida Sp.L-102*, *Biotechnology Letters*, Vol 17. No 2. 167-170.
- Jaffe, G.M., 1978, Xylitol – A Specialty Sweetner, *Sugar y Azucar*, 93: 36-42.

- Jeffries, T.W., and H.K. Sreenath, 1988, Fermentation of Hemicellulosic sugars and sugar mixtures by *Candida shehatae*, *Biotechnology and Bioengineering* 31: 502-506.
- Joedodibroto, R, 1991, Hambatan Delignifikasi pada Pembuatan Pulp Kimia Suhu Tinggi, *Berita Selulosa*, Vol XXVII, No 4.
- John M de Man, 1999, *Principles of Food Chemistry*, Aspen Publisher Inc. Maryland. 183.
- Kantasubrata, J., 1989, *Kursus Teknik Analisis Kromatografi* (GLC, HPLC, TLC). Puslitbang Kimia Terapan LIPI. Bandung.
- Kastner, J.R., R.S. Roberts, and W.J. Jones, 1996, Effect of pH on cell viability and product yields in D-xylose fermentations by *Candida shehatae*, *Applied Microbiology Biotechnology* 45: 224-228
- Lepingle, A., Casaregola, S., Neuveglise, C., Bon, E., Nguyen, H., Ariguenave, F., Wincker, P dan Gaillardin, C., 2000, Genomic Exploration of Hemiascomycetous Yeasts : 14. *Debaryomyces hansenii* var. *Hansenii*, *FEBS Letters*. Vol 487. 82-86.
- Marie, S dan Piggot, J.R., 1991, *Handbook of Sweeteners*, Blackie and Sond Ltd. London, 80-82, 84.
- Muchtadi, D., 1992, *Bahan Kuliah Enzim dalam Industri Pangan*, Yogyakarta.
- Nolleau, Y., L. Preziosi-Belloy, and J.M. Navarro, 1995, The reduction of xylose to xylitol by *Candida guilliermondii* and *Candida parapsilosis*: Incidence of oxygen and pH, *Biotechnology Letters*, 17-4: 417-422
- Olsson, L., and B. Hahn-Hagerdal, 1993, Fermentative performance of bacteria and yeasts in lignocellulose hydrolyzates, *Process Biochemistry*, 28: 249-257.
- Padmawinata, K., 1991, *Dasar Kromatografi Cair*. Penerbit ITB. Bandung, Terjemahan : *Basic Liquid Chromatography*. Johnson, E. L. and R. Stevenson. 1978. Varian Associates, Inc. Blacksburg, Virginia.
- Parajo, J.C., Dominguez, H dan Dominguez, J.M., 1996, Xylitol from Wood : Study of some Operational Strategies, *Food Chemistry*, Vol 57. No 4. 531-535.
- Parajo, J.C., H. Dominguez and J.M. Dominguez, 1998, Biotechnological production of xylitol. Part1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis, *Bioresource Technology*, 65:(3)191-201.

- Parajo, J.C., H. Dominguez, and J.M. Dominguez, 1998, Biotechnological production of xylitol. Part 2: Operation in culture media made with commercial sugars, *Bioresource Technology*, 65:203-212.
- Parajo, J.C., H. Dominguez, and J.M. Dominguez, 1998, Biotechnological production of xylitol. Part 3: Operation in culture media made with lignocellulose hydrolyzates, *Bioresource Technology*, 66:25-40.
- Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S., 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Terjemahan : Ratna Siri H; Tejalmas; S Sutarmi dan Sri Lestari A., Universitas Indonesia Press, 132-133.
- Pepper, T dan Olinger, P.M., 1988, Xylitol in Sugar Free Confections, *Food Technology*, Vol 10. 98-106.
- Perego, P., A. Convery, E. Palazzi, M.D. Borghi, G. Ferraiolo, 1990, Fermentation of hardwood hemicellulose hydrolyzate by *Pachysolen Tannophilus*, *Candida Shehatae* and *Pichia stipitis*, *Journal of Industrial Microbiology* 6:157-164.
- Pfeifer, M.J., Silva, S.S,m Felipe, M.G.A., Roberto, I.C dan Mancilha, I.M., 1996, Effect of Culture Conditions on Xylitol Production by *Candida Guilliermondii* FTI 20037, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol 57/58. 423.
- Pudjaatmaka, A.H., 1989, *Analisis Kimia Kuantitatif*, Erlangga, Jakarta.
Terjemahan : *Quantitative of Chemical Analysis*. Day, R.A. and A.L. Underwood, 1986, Prentice-Hall. Atlanta, Georgia.
- Purseglove, JW, 1972, *Tropical Crop Monocotyledons*, Langmann, London.
- Rachman, A., 1989, *Pengantar Teknologi Fermentasi*, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor, 9, 17, 23, 91-93, 108.
- Rahman, A., 1992, *Teknologi Fermentasi*, Cetakan I, Arcan, Jakarta.
- Roberto, I.C; Sato, S dan Mancilha, I.M., 1996, Effect of Inokulum Level on Xylitol Production from Rice Straw Hemicellulose Hidrolysate by *Candida Guilliermondii*, *Journal of Industriaal Microbiology*, Vol 16. 348-350.
- Roberto, I.C., M.G.A. Felipe, I.M. de Mancilha, M.Vitolo,S. Sato, and S.S. da Silva,1995, Xylitol production by *Candida guilliermondii* as an approach

- for the utilization of agroindustrial residues, *Bioresource Technology* 51: 255-257.
- Rodrigues, D.C.G.A; Silva, S.S dan Felipe, M.G.A., 1998, Using Response-surface Methodology to Evaluate Xylitol Production by *Candida Guilliermondii* by Fed-Batch Process with Exponential Feeding Rate, *Journal of Biotechnology*, Vol 62. 73-77.
- Saha, B.S., B.S. Dien, and R.J. Bothast, 1998, Fuel ethanol production from corn fiber: Current status and technical prospects, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 70-72: 115-125.
- Saptorahardjo, A., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Cetakan I, UI Press, Jakarta. Terjemahan : *Basic Concepts of Analytical Chemistry*. Khopkar, S. M. 1985. Wiley Eastern Limited, Bombay.
- Skoog, D.A., D.M. West, and F.J. Holler, 1996, *Chemical Instrumentation : a systematic approach*. 3th Edition, John Wiley and Sons, New York.
- Suprato, H. S, 1992, *Bertanam Jagung*, Cetakan ke-9, PT Penebar Swadaya, Jakarta.
- Suryadi, H; Katsuragi, T; Yoshida, N; Suzuki, S dan Tani, Y., 2000, Polyol Production by Culture of Methanol Utilizing Yeast, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol 89. No 3. 236-240.
- Tavares, J.M; Duarte, L,C; Amaral-Collaco, M.T dan Girio, F.M., 2000, The Influence of Hexose Addition on The Fermentation of D-Xylose in *Debaryomyces hansenii* Under Continuous Cultivation, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol 26. 743-747.
- Timotius, K. H., 1982, *Mikrobiologi Dasar*, Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.
- Vandeska, E., S. Kuzmanova and T.W. Jeffries, 1995, Xylitol formation and key enzyme activities in *Candida boidinii* under different oxygen transfer rates, *J. Ferment. Bioeng.* 80:513-516.
- Vongsuvanlert, V and Tani, Y., 1989, Xylitol Production by A Methanol Yeast, *Candida boidinii* (Kloeckera Sp.) No 2201, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol 67. No.1. 35-39.
- Winkelhausen, E dan Kuzmanova, S., 1998, Microbial Conversion of D-Xylose to Xylitol, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol 86.No1. 1-14.

Yahashi, Y., H. Horitsu, K. Kawai, T. Suzuki, and K. Takamizawa, 1996,
Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: the effect of
D-xylose feeding, *J. Ferm. Technol*, 81:148-152.

