

**SKRIPSI**

**POTENSI KHAMIR FERMENTATIF NIRA AREN *Arenga pinnata* Merr.  
DALAM FERMENTASI XILOSA MENJADI XILITOL**

**Disusun dan diajukan oleh**

**VENI APRILIANI**

**H041171021**



**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**POTENSI KHAMIR FERMENTATIF NIRA AREN *Arenga pinnata* Merr.  
DALAM FERMENTASI XILOSA MENJADI XILITOL**

**Disusun dan diajukan oleh**

**VENI APRILIANI**

**H041171021**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Biologi Fakultas Matematika  
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 30 April 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan



Pembimbing Utama,

Dr. Nur Haedar, M.Si.  
Nip.19680129 199702 2 001

Pembimbing Pendamping,

Drs. As'adi Abdullah, M.Si.  
Nip. 196203031 198903 1 007



Ketua Program Studi,

Dr. Nur Haedar, M.Si.  
Nip.19680129 199702 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Veni Apriliani  
NIM : H041171021  
Program Studi : Biologi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul Potensi Khamir Fermentatif Nira Aren *Arenga Pinnata* Merr. dalam Fermentasi Xilosa Menjadi Xilitol adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya gunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 30 April 2021

Yang menyatakan,



  
(Veni Apriliani)

## KATA PENGANTAR



*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

*Alhamdulillah rabbil'alamin* segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, nikmat serta hidayah dari-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam tak lupa kita haturkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW, sosok pemimpin dan suri tauladan bagi umatnya, yang telah mengangkat derajat umat manusia dari peradaban *Jahiliyah* menuju peradaban yang berilmu pengetahuan.

Penulisan skripsi yang berjudul “Potensi Khamir Fermentatif Nira Aren *Arenga Pinnata* Merr. dalam Fermentasi Xilosa menjadi Xilitol” adalah salah satu syarat ujian akhir guna memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya penulis haturkan kepada kedua orang tua tercinta Yusuf dan Halida yang telah merawat, membesarkan penulis serta seluruh kasih sayang, cinta, perhatian, do'a, dukungan dan ketulusan yang diberikan untuk penulis sejak lahir hingga saat ini. Tak lupa penulis sampaikan rasa terima kasih kepada kakak Nurhaini Yusuf dan Asri yang telah memberikan dukungan finansial kepada penulis selama penyelesaian tugas akhir ini, serta terima kasih pula kepada seluruh keluarga yang senantiasa mendukung penulis.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan pula kepada Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si. selaku Pembimbing Utama, dan Bapak Drs. As'adi Abdullah, M. Si. selaku Pembimbing Pertama, yang berkenan meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya, maupun motivasi, bimbingan, dorongan, serta semangat yang diberikan selama penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini. Tanpa beliau penulis tidak akan dapat menyelesaikan skripsi ini.

Pada kesempatan ini, penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

- Tim Penguji Ujian Sidang Sarjana Ibu Dr. Elis Tambaru, M.Si. dan selaku Penasehat Akademik (PA) yang senantiasa memberikan arahan kepada penulis hingga studinya selesai serta Bapak Dr. Ir. Slamet Santosa, M.Si.
- Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Departemen Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
- Kepada Kanda Fuad Gani, S.Si., dan Kanda Heriadi S.Si., M. Si., Kak Nenis Suardi S. Si, Kak Ifka Widya Sari S. Si, Kak Syahdan Aska S. Si, Kak Syafirah S. Si, dan Kak Syafrian S. Si penulis haturkan banyak terima kasih atas bantuan dan nasehatnya selama penulis melaksanakan penelitian hingga selesai.
- Tim Sarbat Ayu Mitha Lestari, Saraswati, Miftahul Jannah, Ayu Angraini Sujito, Siti Aras Ainun Basri dan Amalia Fauziah yang selalu menemani, membantu penulis selama kuliah serta memberikan dukungan selama penyelesaian tugas akhir ini.
- Tim Mahasiswa Tingkat Akhir Nurul Afia S. Si, Nurindah Reski, Renaldi Rhafiq S. Si, Anugrah Prima Dirgahayu, Arini Kusuma Wardani, Masykur,

dan Salman Al Farisi serta Paramitha Sudirman selaku partner penelitian yang memberi masukan, semangat, dan berjuang bersama dalam penyelesaian tugas akhir ini.

- Seluruh teman-teman seperjuangan Biologi 2017 dan Biovergent, terima kasih untuk kebersamaan yang telah dilalui bersama selama bangku perkuliahan.
- Kakak-kakak dan adik-adik warga Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) yang selalu memberi semangat dan dukungannya.
- Semua pihak yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulis mendatang. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi kita semua, bagi perkembangan dunia sains dan teknologi. Terima kasih.

Makassar, April 2021

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian “Potensi Khamir Fermentatif Nira Aren *Arenga pinnata* Merr. dalam Fermentasi Xilosa Menjadi Xilitol”. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat khamir dan mengetahui kemampuan isolat hasil isolasi nira aren *Arenga pinnata* Merr. dalam memfermentasi xilosa menjadi xilitol. Isolasi dilakukan dengan mengambil 1 mL sampel nira pagi dan sore kemudian ditumbuhkan pada media YMA yang telah ditambahkan kloramfenikol 0,1% dengan metode tuang. Hasil isolasi yang diperoleh sebanyak 12 isolat, terdiri dari 6 isolat sampel nira pagi dan 6 isolat sampel nira sore. Ke-12 isolat tersebut kemudian di skrining pada dua media uji yaitu YPX Agar dan media *Xylose Broth* dengan hasil uji menunjukkan semua isolat mampu tumbuh pada media yang mengandung xilosa. Selanjutnya, dilakukan pengukuran nilai *Optical Density* terhadap 12 isolat hasil skrining pada media *xylose broth*, dimana diperoleh 2 isolat dengan nilai OD tertinggi yaitu P1 dan S3 yang akan digunakan pada proses fermentasi. Fermentasi dilakukan selama 72 jam dengan mengukur nilai pH dan menghitung total khamir setiap 24 jam serta mengukur kadar xilosa dan xilitol di akhir fermentasi menggunakan HPLC dan UPLC. Hasil fermentasi menunjukkan isolat S3 menghasilkan xilitol yang lebih tinggi yaitu 2,05 g/100 mL dengan nilai *yield* 0,67 g/g sedangkan isolat P1 menghasilkan xilitol sebesar 1,28 g/100mL dengan nilai *yield* 0,59 g/g.

**Kata Kunci:** Khamir, Nira Aren, Fermentasi, Xilosa, Xilitol

## ABSTRACT

A study about "Potential of Fermentative Yeast *Arenga Pinnata* Merr. in the Fermentation of Xylose to Xylitol " has been done. This study aims to obtain yeast isolates and to determine the ability of isolates from palm sap *Arenga pinnata* Merr. isolates in fermenting xylose to xylitol. Isolation was carried out by taking 1 mL of morning and evening sap samples and then grown on YMA media which had been added with 0.1% chloramphenicol by pouring method. The isolation results obtained were 12 isolates, consisting of 6 isolates samples of morning sap and 6 isolates of afternoon sap samples. The 12 isolates were then screened on two test media, namely YPX Agar and Xylose Broth media with test results showing that all isolates were able to grow on media containing xylose. After that, Optical Density values were measured for 12 isolates from screening on xylose broth media, where 2 isolates were obtained with the highest OD values, namely P1 and S3 which will be used in the fermentation process. Fermentation was carried out for 72 hours by measuring the pH value and counting the total yeast every 24 hours and measuring the xylose and xylitol at the end of the fermentation using HPLC and UPLC. The fermentation results showed that S3 isolate produced higher xylitol, namely 2.07 g/100 mL with a yield value of 0.67 g/g, while isolate P1 produced xylitol 1.28 g/100mL with a yield value of 0.58 g/g.

**Keywords:** Yeast, Palm Sap, Fermentation, Xylose, Xylitol

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN SAMPUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Tujuan Penelitian .....	3
I.3 Manfaat Penelitian .....	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
II.1 Aren <i>Arenga pinnata</i> Merr. ....	4
II.2 Nira Aren .....	5
II.3 Khamir .....	7
II.4 Xilosa .....	8
II.5 Xilitol.....	9
II.6 Produksi Xilitol Secara Kimiawi .....	10
II.7 Produksi Xilitol dengan Fermentasi .....	11
II.8 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Xilosa Menjadi Xilitol.....	13
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>16</b>
III.1 Alat .....	16
III.2 Bahan.....	16
III.3 Metode Kerja.....	17

III.3.1 Persiapan Penelitian .....	17
III.3.2 Isolasi Khamir dari Nira Aren .....	18
III.3.3 Pemurnian .....	19
III.3.4 Pengamatan Morfologi Koloni dan Morfologi Sel Khamir.....	19
III.3.5 Skrining Khamir pada Media Uji Xilosa .....	20
III.3.6 Prekultur Isolat Khamir .....	20
III.3.7 Fermentasi Khamir .....	21
III.3.8 Pengukuran Hasil Fermentasi .....	21
III.3.9 Analisis Data.....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
IV.1 Isolasi Khamir Indigenous Nira Aren .....	23
IV.2 Pengamatan Morfologi Koloni dan Morfologi Sel Khamir .....	25
IV.3 Skrining Isolat Khamir pada Media Xilosa.....	28
IV.4 Fermentasi Xilosa Menjadi Xilitol.....	30
IV.4.1 Perhitungan Total Khamir .....	31
IV.4.2 Pengukuran pH .....	33
IV.4.3 Pengukuran Kadar Xilosa dan Xilitol.....	34
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>38</b>
V.1 Kesimpulan.....	38
V.2 Saran .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil perhitungan jumlah koloni khamir dengan SPC.....	24
2. Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel khamir .....	26
3. Pengukuran kadar xilosa dan xilitol.....	35

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Struktur kimia D-xilosa.....	8
2. Struktur kimia xilitol.....	9
3. Metabolisme khamir dalam memfermentasi xilosa menjadi xilitol.....	12
4. Pertumbuhan koloni khamir pada media YMA (a) isolat sampel nira pagi; (b) isolat sampel nira sore .....	23
5. Morfologi koloni isolat (a) P1 dan (b) S3 pada perbesaran 40 kali.....	27
6. Morfologi sel isolat (a) S3 dan (b) P1 pada perbesaran 1000 kali.....	27
7. Pertumbuhan koloni khamir pada media YPX agar a) isolat P3 dan b) isolat S4.....	29
8. Hasil pengukuran nilai OD (Optical Density) pada media Xilose Broth.....	30
9. Data perhitungan total khamir dengan SPC .....	32
10. Hasil pengukuran nilai pH .....	33

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Skema kerja isolasi khamir, skrining dan fermentasi .....	47
2. Skema kerja isolasi khamir dari nira aren .....	48
3. Skema kerja pengecatan sederhana dengan metilen biru .....	49
4. Skema kerja uji pada media xilosa.....	50
5. Fermentasi xilosa oleh isolat khamir.....	51
6. Skema kerja pengukuran kadar xilosa dengan HPLC.....	52
7. Skema kerja pengukuran kadar xilitol dengan UPLC ELSD.....	53
8. Hasil pengamatan morfologi koloni isolat khamir .....	54
9. Tabel hasil pengamatan morfologi sel isolat khamir .....	57
10. Foto hasil uji isolat khamir pada medium YPX Agar .....	60
11. Foto hasil uji isolat khamir pada media Xylose Broth.....	61
12. Hasil perhitungan total khamir dengan Standard Plate Count .....	62
13. Hasil perhitungan nilai yield xilitol.....	63
14. Foto media Fermentasi.....	64
15. Foto prosedur kerja .....	65

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Xilitol merupakan pemanis alternatif yang rendah kalori namun tingkat kemanisannya hampir sama dengan gula sukrosa (Mardawati dkk., 2020), sehingga dapat digunakan sebagai pengganti gula bagi penderita diabetes karena dapat dimetabolisme tanpa melibatkan insulin. Xilitol aman untuk kesehatan gigi karena tidak dapat difermentasikan oleh mikroorganisme penyebab kerusakan gigi yaitu *Streptococcus mutans* (Cardoso *et al.*, 2016) dan xilitol ini dapat diperoleh sebagai gula alami pada buah dan sayuran namun dalam jumlah yang sedikit (Ur-Rehman *et al.*, 2015). Selain itu, dapat di produksi secara komersial melalui hidrogenasi xilosa, yang dapat ditemukan pada hemiselulosa dalam lignoselulosa sebagai gula monosakarida (Kwak dan Jin, 2017).

Produksi xilitol dapat dilakukan secara kimiawi dan bioteknologi, namun pada skala industri umumnya menggunakan hidrolisis kimiawi dan hidrogenase xilan (Rice *et al.*, 2019). Secara kimia produksi xilitol membutuhkan biaya yang mahal. Selain itu, sintesis kimiawi xilitol tidak ramah lingkungan dan membutuhkan banyak energi (Carneiro *et al.*, 2019), maka sebagai alternatif produksi xilitol dapat dilakukan secara bioteknologi dengan memanfaatkan mikroorganisme yang mampu mengubah xilosa menjadi xilitol (Branco *et al.*, 2011) dengan bantuan enzim Xilosa-Reduktase (Quehenberger *et al.*, 2019). Mikroorganisme yang efisien untuk produksi xilitol adalah khamir yang merupakan salah satu mikroorganisme yang banyak digunakan dalam produk

fermentasi. Beberapa khamir yang umumnya digunakan berasal dari genus *Candida*, *Pichia* dan *Debaryomyces* (Tiwari dan Abishek, 2020).

Salah satu habitat khamir fermentatif yang banyak ditemukan adalah pada nira aren *Arenga pinnata* Merr. Kandungan sukrosa yang tinggi pada nira aren memberikan kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme. Tercatat dalam penelitian Pontoh (2012), nira segar mengandung sukrosa 13,9-14,9%, kadar abu berkisar 0,22% - 0,98%, protein berkisar 0,20% - 0,61% dan kadar lemak 0,02%. Menurut Gunawan *et al.*, (2020) nira mengandung khamir yang sangat aktif sehingga dengan mudah memecahkan sukrosa menjadi asam asetat atau etanol.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan keberadaan jenis khamir pada nira aren. Menurut Chandrasekhar *et al.*, (2012) khamir yang terdapat dalam nira sebanyak 17 jenis khamir yang terdiri dari 12 spesies *Saccharomyces*, 4 spesies *Candida* dan 1 spesies *Endomycopsis*. Sedangkan Mulyawanti dkk., (2011) dan Hermansyah dkk., (2018) berhasil mengisolasi khamir dari spesies *Candida tropicalis* dan *Candida crusei*. Sementara itu, Pinaria (2010); Pontoh (2012) melaporkan bahwa khamir yang terdapat pada nira aren terdiri dari spesies *Candida utilis*, *Rhodotula* dan *Rotula*. Walaupun berbagai penelitian telah menunjukkan keberadaan khamir pada nira aren, namun penelitian mengenai khamir potensial yang terdapat pada nira aren dalam fermentasi xilosa menjadi xilitol masih jarang dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat khamir potensial nira aren *Arenga pinnata* Merr. yang mampu memfermentasi xilosa menjadi xilitol.

## **I.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. untuk mendapatkan isolat khamir yang mampu memfermentasi xilosa menjadi xilitol dari nira aren *Arenga pinnata* Merr.
2. untuk mengetahui kemampuan khamir hasil isolasi dari nira aren *Arenga pinnata* Merr. dalam memfermentasi xilosa menjadi xilitol.

## **I.3 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi khamir yang diisolasi dari nira aren dalam biokonversi xilosa menjadi xilitol.

## **I.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2020 – Januari 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin dan pengujian kadar xilosa menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) serta pengujian kadar xilitol dengan *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) di Laboratorium Saraswanti Indo Genetech, Bogor.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Aren *Arenga pinnata* Merr.**

*Arenga pinnata* Merr. merupakan tanaman yang banyak dijumpai pada daerah tropis dan termasuk dalam suku *Arecaceae* atau tumbuhan pinang-pinangan (palma) seperti kelapa dan lontar. Pohon aren hampir ditemui diberbagai daerah di Indonesia dan menjadi tumbuhan liar di beberapa hutan. Menurut data Kementrian Pertanian (2016) luas areal aren yang tumbuh di Indonesia yaitu 61.924 ha dan tersebar di 26 provinsi salah satunya di Sulawesi Selatan yang termasuk kedalam 16 provinsi yang memiliki areal aren yang luas yaitu 5.972 ha. Sedangkan menurut Wulantika (2019): Barlina dkk., (2020) luas tanaman aren di Indonesia mencapai 70.000 ha.

Penyebaran alami dari pohon aren melalui biji dengan bantuan binatang seperti musang yang mengonsumsi biji aren dan akan dikeluarkan bersama kotoran (Jacob, 2020). Pohon aren mampu tumbuh beradaptasi pada dataran rendah hingga ketinggian 1400 m di atas permukaan laut namun tumbuh dan berproduksi optimal pada ketinggian di atas 1200 mdpl dengan suhu rata-rata 25<sup>0</sup>C (Fatah dan Sutejo, 2015), memiliki batang besar berijuk banyak dengan diameter mencapai 65 cm pada tanaman yang tua dan tinggi mencapai 15 m atau lebih dengan tajuk daun yang menjulang ke atas. Pohon aren mencapai tingkat kematangan pada usia 6-12 tahun namun usia yang baik untuk dilakukan penyadapan adalah 8-9 tahun (Jacob, 2020).

Aren merupakan komoditas tumbuhan yang bernilai ekonomis tinggi. Buahnya dapat dimakan yang dikenal oleh masyarakat sebagai kolang kaling.

Daunnya dapat dijadikan atap rumah dan kerajinan tangan, pada batangnya terdapat sagu yang dapat dibuat menjadi tepung (Fatah dan Sutejo, 2015), serta akarnya dapat digunakan untuk obat-obatan salah satunya sebagai obat tradisional untuk penyakit batu ginjal (Maruapey, 2019). Bagian pohon aren yang banyak dimanfaatkan adalah bunga jantan (Putra dkk., 2020). Pada bagian ini bunga jantan akan disadap untuk diambil niranya. Nira tanaman aren dapat dimanfaatkan oleh masyarakat untuk diolah menjadi gula aren. Gula aren inilah yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Berbagai industri membutuhkannya terutama dalam pembuatan kecap (Indasary dkk., 2019).

## **II.2 Nira Aren**

Nira aren merupakan cairan yang keluar dari hasil penyadapan tandan bunga aren baik jantan maupun betina (Widyawati, 2012; Solang dkk., 2020). Namun pada umumnya penyadapan dilakukan pada tandan bunga jantan dikarenakan kadar nira dan gulanya lebih tinggi dibandingkan tandan bunga betina (Matana dkk., 2016). Hal ini dilakukan agar bunga betina tetap mampu menghasilkan buah dan biji demi keberlangsungan populasi aren. Nira aren segar memiliki warna jernih, berbau khas serta memiliki rasa manis (Solang, 2020). Hasil sadapan nira untuk diolah menjadi gula aren memiliki daya simpan sekitar 3 jam sebelum terfermentasi dan menimbulkan rasa asam (Admoko, 2017). Menurut Karamoko *et al.*, (2012); Titilayo dan Temitope (2019) salah satu karakteristik dalam menentukan kesegaran nira aren adalah pH nira segar hampir netral yaitu berkisar 7-7,4 dan akan berkurang seiring dengan waktu fermentasi.

Menurut Pontoh (2019) kandungan yang terdapat dalam nira aren adalah sukrosa dan gula reduksi seperti glukosa dan fruktosa serta polisakarida yang

diduga adalah dextran. Tercatat dalam Pontoh (2012) Nira segar mengandung sukrosa 13,9% - 14,9%, kadar abu berkisar 0,22% - 0,98%, protein berkisar 0,20% - 0,61% dan kadar lemak 0,02%. Menurut Hasanah (2017) kandungan air dalam nira aren adalah yang paling besar dibanding kandungan lainnya yaitu antara 75% - 90%. Selain dibuat menjadi gula aren, nira aren juga dapat dibuat menjadi tuak, cuka, sirup aren, *nata de arenga* serta alkohol yang dihasilkan secara ilmiah yang dikenal sebagai etanol dengan bantuan fermentasi mikroorganisme *Saccharomyces cereviseae* (Wulantika, 2020).

Kandungan nutrisi pada nira aren memberikan kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Gunawan dkk., (2020) Nira mudah terkontaminasi oleh mikroorganisme sehingga akan terjadi proses fermentasi sukrosa oleh mikroba dalam hitungan jam dan mengubah rasa nira menjadi asam. Hal ini menyebabkan nira yang telah dipanen akan mengalami fermentasi alkohol akibat adanya mikroorganisme indigenous dari nira tersebut (Periadnadi dkk., 2018). Menurut Titilayo dan Temitope (2019) fermentasi yang cepat terjadi pada nira karena adanya mikroorganisme alami di udara atau wadah yang digunakan untuk menampung hasil penyadapan. Mikroorganisme yang mengkontaminasi nira aren adalah bakteri dan khamir, namun mikroorganisme yang paling dominan dalam nira aren adalah khamir. Fermentasi spontan pada nira menyebabkan perbanyakan khamir dan bakteri serta terjadi konversi substrat menjadi beberapa metabolit seperti etanol, asam asetat dan asam laktat (Santiago-urbina *et al.*, 2013). Khamir yang terdapat pada nira aren berdasarkan hasil penelitian Pinaria (2010): Pontoh (2012) terdiri dari khamir *Candida utilis*, *Rhodotula* dan *Rotula*. Sedangkan menurut Chandrasekhar (2012) khamir yang terdapat dalam nira terdiri dari *Saccharomyces*, *Candida* dan *Endomycopsis*.

### II.3 Khamir

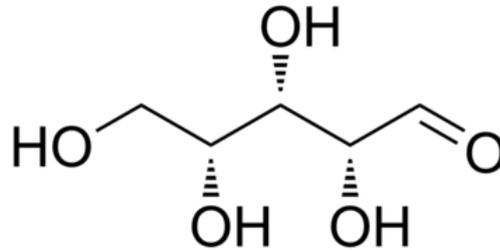
Khamir merupakan mikroorganisme uniseluler yang berukuran 5-20 mikron. Khamir dapat ditemukan cukup luas dan memiliki kemampuan dapat hidup pada daerah ekstrim. Khamir banyak ditemukan pada lingkungan dengan bahan senyawa organik yang tinggi dengan pH optimal untuk pertumbuhan khamir adalah 4,0 - 4,5 (Azizah, 2017). Khamir dapat ditemukan pada berbagai substrat seperti buah-buahan, biji-bijian, kulit binatang, udara, tanah, air dan berbagai substrat yang mengandung gula (Suryaningsih dkk., 2018). Khamir memiliki beberapa enzim antara lain fosfatase, lipase, zimase dan proteinase yang memegang peranan penting dalam dekomposisi senyawa organik (Periadnadi dkk., 2018). Semakin meningkatnya penelitian mengenai khamir juga meningkatkan pemanfaatan khamir dari berbagai bidang.

Khamir dapat dibedakan kedalam dua kelompok berdasarkan sifat metabolismenya yaitu fermentatif dan oksidatif. Khamir yang bersifat fermentatif dapat melakukan fermentasi pembentukan etanol (Pratama dkk., 2017) ataupun fermentasi beberapa jenis gula lainnya salah satunya xilitol. Pertumbuhan khamir pada substrat didukung oleh senyawa dasar seperti gula yang dapat difermentasi, asam amino, vitamin, mineral dan oksigen (Walker dan Stewart, 2016).

Salah satu pemanfaatan khamir yang digunakan sebagai mikroorganisme terbaik dalam produksi xilitol terutama dari genus *Candida* (*C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. pelliculosa*, *C. parapsilosis*) dan genus lain seperti *Debaryomyces hansenii*, dan *Penicillium* sp. khamir *Candida tropicalis* terbukti menjadi produsen xilitol terbaik (Fairus dkk., 2013). Menurut Carneiro *et al.*, (2019) Khamir yang paling mampu menghasilkan xilitol dari D-xilulosa, melalui reaksi

metabolisme yang berurutan dari genus *Candida*, *Pichia*, *Debaryomyces*, dan *Pachysolen*.

#### II.4 Xilosa



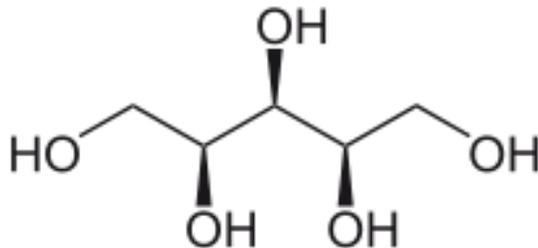
**Gambar 1.** Struktur kimia D-xilosa  
(Hyvonen *et al.*, 1982)

Xilosa merupakan gula pentosa monosakarida yang dikenal sebagai gula kayu karena keberadaannya pada tumbuhan. Xilosa dapat ditemukan pada tumbuhan yang kaya akan hemiselulosa seperti halnya pada limbah hasil pertanian meliputi tandan kosong kelapa sawit, jerami, sorgum, kulit kakao, tongkol jagung dan berbagai biomassa lainnya (Yuliana dkk., 2018). Menurut Kim *et al.*, (2012) persentase jumlah xilosa dalam biomassa sekitar 30-40% dan persentase xilosa yang terkandung dalam hemiselulosa sebesar 80% sehingga berpotensi dalam produksi gula xilitol (Mardawati dkk., 2018).

Hidrolisat hemiselulosa (xilan) dapat digunakan untuk menggantikan bahan baku xilosa murni dalam produksi xilitol dan mengurangi biaya produksi pemisahan dan pemurnian xilosa. Xilan adalah hemiselulosa yang terdiri dari polimer dari pentosa atau xilosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 dengan jumlah monomer berkisar 150-200 unit (Fairus dkk., 2013). Penggunaan xilan dalam produksi xilitol dilakukan dengan menghidrolisis hidrolisat hemiselulosa (xilan) menjadi

xilosa dengan bantuan enzim xilanase. Xilosa yang diperoleh kemudian akan dihidrogenasi menjadi gula xilitol (Mardawati dkk., 2018).

## II.5 Xilitol



**Gambar 2.** Struktur kimia xilitol  
(Hyvonen *et al.*, 1982)

Xilitol ( $C_5H_{12}O_5$ ) merupakan gula alkohol atau yang dikenal sebagai poliol dengan lima atom karbon (Alburqueque *et al.*, 2014) yang secara alami terdapat pada tumbuhan (Benahmed *et al.*, 2020). Xilitol umumnya digunakan sebagai pemanis buatan yang memiliki tingkatan rasa manis setara dengan gula sukrosa (Mardawati dkk., 2020) namun memiliki kalori 40% lebih rendah daripada sukrosa. Xilitol juga dapat ditemui pada mamalia termasuk manusia sebagai produk antara yang terbentuk dalam metabolisme karbohidrat, namun dalam kondisi yang normal xilitol hanya dapat dihasilkan dalam jumlah sedikit yaitu 5-15 g/hari (Alburqueque *et al.*, 2014).

Karakteristik xilitol adalah memiliki kelarutan yang tinggi, tingkat glikemik yang rendah yaitu 7 dibandingkan dengan gula biasa yang memiliki indeks glikemik mencapai 90 serta dilepaskan dalam darah 13 kali lebih cepat dibanding xilitol (Zuliani dkk., 2019), mengurangi produksi karsinogenik dan sifat kariostatik, daya pendingin yang tinggi serta xilitol tahan terhadap reaksi *Maillard* (Pembentukan senyawa pencoklatan pada makanan) karena tidak adanya gugus

karbonil pereduksi sehingga hal ini tidak akan mengurangi nilai gizi dari protein (Ahuja *et al.*, 2018)

Xilitol banyak dimanfaatkan secara luas pada industri farmasi, makanan dan minuman serta *nutraceutical* (produk dengan zat gizi tertentu) (Dasgupta *et al.*, 2017). Xilitol digunakan sebagai pemanis dalam produk makanan dan minuman, karena kandungan kalornya yang rendah dapat menjadi pilihan makanan fungsional bagi penderita diabetes. Selain itu, xilitol menunjukkan manfaat dalam pencegahan karies gigi (Janakiram *et al.*, 2017). Xilitol memiliki efek anti plak pada gigi yang mampu mengurangi pertumbuhan bakteri *S.mutans* yang merupakan kelompok bakteri pembentuk karies pada gigi (Alves *et al.*, 2013). Xilitol digabungkan dalam produk perawatan gigi seperti permen karet, pasta gigi dan obat kumur karena kemampuannya dalam mengurangi perkembangan biofilm (El-Marakby *et al.*, 2017). Selain itu xilitol dapat mencegah infeksi telinga karena sebagian besar bakteri penyebab infeksi telinga tidak dapat menggunakan xilitol (O'Donnell dan Kearsley, 2012).

## **II.6 Produksi Xilitol Secara Kimiawi**

Produksi xilitol dapat dilakukan dengan hidrogenasi xilosa murni dengan menggunakan katalis kimia, teknik produksi ini merupakan teknik yang paling umum digunakan saat ini. Katalis yang umum digunakan adalah katalis Raney Nikel. Katalis ini memiliki harga yang lebih murah, penggunaan yang mudah serta memiliki aktivitas dan selektivitas yang baik dibanding katalis lainnya (Yadav *et al.*, 2012). Namun, penggunaan katalis nikel di Indonesia masih terbilang mahal karena harus diimpor dari luar negeri (Novitawati, 2009).

Konversi xilosa menjadi xilitol dengan katalis Raney Nikel memiliki masalah utama yaitu deaktivasi yang relatif cepat akibat akumulasi kotoran organik pada permukaan katalis dan menyebabkan proses peracunan dan pengendapan logam pada permukaan katalis (Yadav *et al.*, 2012). Deaktivasi akan menyebabkan penurunan aktivitas dan selektivitas suatu katalis dan menyebabkan kemampuan dan umur katalis semakin berkurang (Utomo dan Endang, 2007). Selain itu, penggunaan katalis Raney nikel membutuhkan suhu dan tekanan yang tinggi yaitu dengan suhu 80 °C – 140 °C serta tekanan 50 atm (Novitawati, 2009).

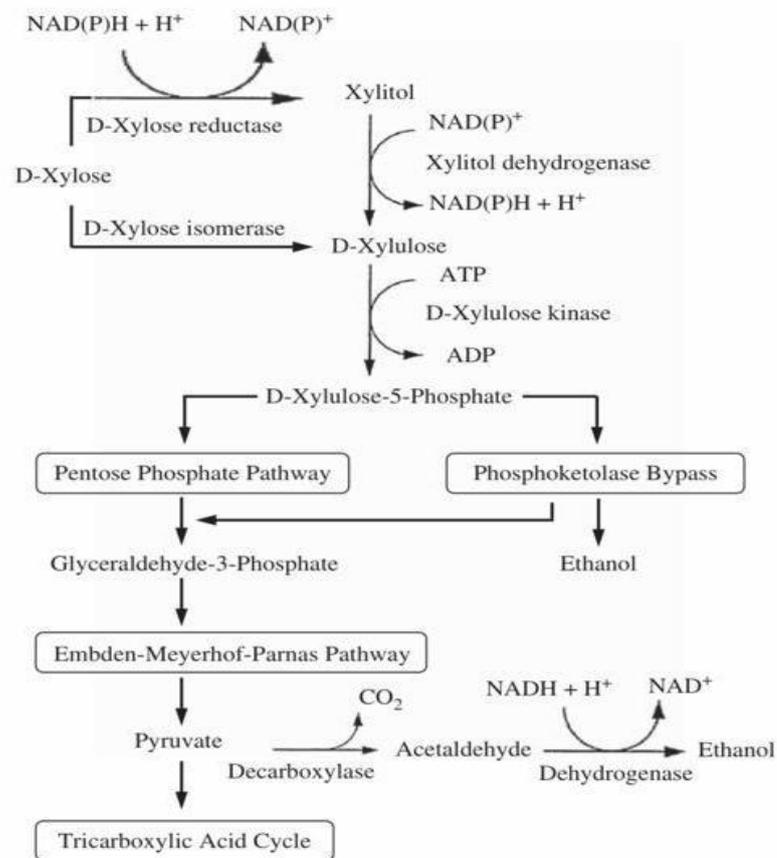
Masalah lain yang ditimbulkan katalis ini adalah menghasilkan limbah nikel bagi lingkungan serta produk xilitol yang dihasilkan harus benar-benar bersih dari nikel ketika akan digunakan pada industri makanan, kosmetik, dan farmasi (Yadav *et al.*, 2012). Bahan kimia yang digunakan pada produksi xilitol harus melalui serangkaian pemurnian hingga memenuhi standar makanan dan farmasi (Fairus dkk., 2013). Pemurnian yang dilakukan akan menambah biaya produksi karena serangkaian pemurnian yang dilakukan mahal seperti pertukaran ion, penyaringan dan kristalisasi (Yadav *et al.*, 2012). Hal inilah yang menyebabkan produk xilitol yang dihasilkan mahal.

## **II.7 Produksi Xilitol dengan Fermentasi**

Selain konversi secara kimiawi, produksi xilitol juga dapat dilakukan secara bioteknologi melalui fermentasi (Rice *et al.*, 2019) menggunakan mikroorganisme spesifik yang akan mengubah xilosa menjadi xilitol (Branco *et al.*, 2011). Menurut Lopez-lenares *et al.*, (2018) biokonversi xilosa menjadi xilitol dengan bantuan mikroorganisme dianggap sebagai alternatif yang

menguntungkan dalam produksi skala besar karena energi dan biaya yang dibutuhkan rendah serta ramah lingkungan. Selain itu, produksi xilitol dengan fermentasi memiliki efisiensi konversi sekitar 65%-85% (Islam dan Mimi, 2013) dibandingkan efisiensi konversi xilosa menjadi xilitol secara kimiawi hanya sebesar 50%-60% (Ur-Rehman *et al.*, 2015).

Mikroorganisme seperti bakteri dan jamur memiliki kemampuan dalam memfermentasi xilosa, baik xilosa komersial maupun xilosa yang terdapat dalam hidrolisat yang berasal dari residu lignoselulosa. Namun mikroorganisme yang umum digunakan pada biokonversi xilosa adalah *yeast* (khamir) karena keberadaan enzim. Metabolisme xilosa dikatalisis oleh dua jenis enzim yaitu enzim xilosa reduktase (XR) dan xilitol dehidrogenase (XDH) (Rao *et al.*, 2016).



**Gambar 3.** Metabolisme khamir dalam memfermentasi xilosa menjadi xilitol (Wilkenhausen *et al.*, 1998)

Xilosa akan direduksi menjadi xylitol dengan enzim xilosa reduktase (XR) yang dikodekan oleh gen XYL1. Berlangsungnya proses ini bergantung pada NADH dan NADPH. Kemudian xilosa akan direduksi menjadi 5-xilulosa oleh enzim xilitol dehidrogenase (XDH) yang dikodekan oleh XYL2 (Moyses *et al.*, 2016). Enzim ini menggunakan NAD untuk mengubah reaksi dan menghasilkan NADH (Pawitra, 2019).

## **II.8 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Xilosa Menjadi Xilitol**

Khamir yang berperan dalam fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor keberhasilan antara lain ukuran, keragaman morfologi, kemampuan dalam memanfaatkan berbagai sumber nutrisi seperti nitrogen, karbon, dan fosfor, kemampuan untuk toleransi terhadap stres (aktivitas perubahan pH, oksigen, tekanan osmotik yang tinggi), potensi sekresi enzim, aktivitas antimikroba dalam melawan berbagai patogen dan kemampuan untuk menghasilkan metabolit lainnya (Syah dan Vohra, 2013). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi produksi xilitol oleh khamir yaitu sumber karbon, konsentrasi substrat, aerasi, inokulum, suhu, pH dan sumber nitrogen.

### **a) Sumber karbon**

Salah satu sumber karbon yang umumnya digunakan dalam fermentasi adalah karbohidrat khususnya monosakarida seperti glukosa. Ketika glukosa digunakan pada substrat walaupun dalam kadar rendah hal ini akan mempengaruhi pertumbuhan khamir dan efisiensi xilitol yang terbentuk. Hal ini terjadi karena glukosa akan digunakan oleh khamir dalam pertumbuhan sel, sehingga xilosa hanya akan digunakan setelah

glukosa digunakan. Sumber karbon akan berpengaruh spesifik untuk spesies tertentu (Gurpilhares *et al.*, 2009).

b) Konsentrasi substrat

Konsentrasi substrat mempengaruhi pertumbuhan khamir dan proses fermentasinya, substrat yang digunakan adalah xilosa baik itu xilosa murni atau hidrolisat hemiselulosa. Konsentrasi xilosa pada substrat dapat mempengaruhi produksi xilitol karena keberadaan xilosa akan menginduksi aktivitas enzim xilosa reduktase dan xilitol dehidrogenase pada khamir. Konsentrasi xilosa yang tinggi diawal fermentasi dapat menghasilkan kadar xilitol yang tinggi dengan memperhatikan kadar oksigen yang digunakan juga harus tinggi (Ghindea *et al.*, 2010).

c) Aerasi

Keberadaan oksigen dalam degradasi xilosa oleh khamir sangat berpengaruh, dimana dalam kondisi anaerobik total metabolisme pembentukan xilitol dari xilosa akan terhenti. Tingkat oksigen yang dibutuhkan dalam metabolisme xilosa berbeda untuk setiap spesies khamir. Sebagai contoh kondisi semi-anaerobik menunjukkan produksi xilitol yang tinggi untuk khamir jenis *Candida tropicalis* dan *Debaryomyces hansenii* (Ghindea *et al.*, 2010).

d) Inokulum

Pengaruh umur inokulum pada produksi xilitol cukup besar. Hal ini dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme dan viabilitas sel. Penggunaan inokulum khamir *C. guilliermondii* yang berusia 24 jam terbukti efektif secara eksperimental dalam produksi xilitol (Ghindea *et al.*, 2010).

e) Suhu dan pH

Suhu optimal produksi xilitol secara eksperimental sekitar suhu 30 °C hingga 37 °C. Ketika suhu melebihi 37 °C maka akan terjadi penurunan produksi xilitol yang drastis (Ghindea *et al.*, 2010). Hal ini dapat terjadi karena penurunan aktivitas enzim yang bergantung dengan NADPH dan NADH (Slininger *et al.*, 1987; Barathikannan dan Agastian, 2016).

Sedangkan pH yang ideal untuk setiap jenis khamir berbeda, menurut Ghindea *et al.*, (2010) produksi xilitol pada khamir jenis *Candida* optimum pada pH 4,5-7. Sedangkan untuk pH ideal untuk spesies khamir seperti *D.hansenii* adalah 5,5, *C. Parapsilosis* dengan pH 4,5-5, *C. guillemondi* pH 6,0 dan *C. boidinii* 7,0. Peningkatan pH dari 4,5 menjadi 6,0 menyebabkan peningkatan dalam produksi xilitol. Ketika pH berkurang pada medium maka efek toksik asam asetat akan meningkat dan menyebabkan masuknya asam ke dalam sel yang tidak terdisosiasi (Barathikannan dan Agastian, 2016).

f) Sumber nitrogen

Jenis dan konsentrasi sumber nitrogen dalam media mempengaruhi produksi xilitol oleh khamir. Diantara sumber nitrogen, ekstrak khamir dan urea merupakan sumber nitrogen organik yang baik digunakan oleh khamir dalam produksi xilitol (Ghindea *et al.*, 2010). Lu *et al.*, (1995); Barathikannan dan Agastian (2016) melaporkan bahwa produksi xilitol maksimum dengan hasil 100 g/L dicapai dengan melengkapi media dengan 114 g/L xilosa dan memasukkan 3 g/L urea.