

SKRIPSI

**POTENSI KHAMIR YANG DIISOLASI DARI NIRA KELAPA
Cocos nucifera L. DALAM MEMFERMENTASI XILOSA MENJADI
XILITOL**

Disusun dan diajukan oleh

AYU MITHA LESTARI

H041171022



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**POTENSI KHAMIR YANG DIISOLASI DARI NIRA KELAPA
Cocos nucifera L. DALAM MEMFERMENTASI XILOSA MENJADI
XILITOL**

Disusun dan diajukan oleh

**AYU MITHA LESTARI
H041171022**

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

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pertama



Dr. Nur Haedar, M.Si.
NIP. 196801291997022001



Drs. As'adi Abdullah, M.Si.
NIP. 196203031989031007

Ketua Departemen,



Dr. Nur Haedar, M.Si.
NIP. 196801291997022001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayu Mitha Lestari

NIM : H041171022

Program Studi : Biologi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul Potensi Khamir yang Diisolasi dari Nira Kelapa *Cocos nucifera* L. dalam Memfermentasi Xilosa menjadi Xilitol adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 30 April 2021

Yang Menyatakan



(Ayu Mitha Lestari)

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil'alamin segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, karena dengan hidayah dan berkah-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "*Potensi Khamir yang diisolasi dari Nira Kelapa Cocos Nucifera L. dalam Memfermentasi Xilosa menjadi Xilitol*" dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Sarjana Sains di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Tak lupa pula penulis kirimkan shalawat dan salam kepada junjungan Nabiullah Muhammad SAW, keluarga serta para sahabatnya yang telah menunjukkan jalan kebenaran di muka bumi ini.

Skripsi ini disusun dengan segala keterbatasan dari penulis, sehingga masih memiliki kekurangan yang mungkin belum sadari. Oleh karena itu, untuk sempurnanya skripsi ini, penulis membutuhkan dukungan berupa kritik serta saran dari berbagai pihak yang sifatnya membangun. Tanpa bantuan, motivasi, kritik dan saran serta doa dari berbagai pihak penulis akan kesulitan dalam menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua Ayahanda Masdin Amin dan Ibunda Nurwati Nasruddin, S.Pd.I yang penulis hormati dan sangat penulis sayangi atas kasih sayang, cinta, pengorbanan dalam membesarkan, mendidik dan menyekolahkan penulis serta mengajarkan penulis banyak hal tentang kehidupan dengan sabar membesarkan penulis hingga

sampai pada titik ini yang dimana semuanya tidak dapat penulis balas dengan apapun.

Terima kasih juga penulis ucapkan kepada kakak Ferry Setiawan, S.Pd yang telah menjaga, memperhatikan dan bersama-sama melewati suka duka selama jauh dari kedua orang tua di perantauan. Juga kepada adik-adikku Putri Wahyuni, Nuraqilah Salsabilah dan Muh. Ghaza Alghazali yang senantiasa menjadi penghibur, pembawa tawa dan sumber semangat penulis saat merasa jenuh dan lelah dalam menyelesaikan skripsi ini dan menjadikan salah satu alasan penulis untuk terus bersemangat dalam menyelesaikan studi. Begitu pula dengan semua keluarga penulis yang selalu memberikan semangat dalam menyelesaikan studi S1 ini.

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Markarma, M.Si. selaku Pembimbing Akademik, ibu Dr. Nur Haedar, M.Si, selaku Pembimbing Utama bersama Bapak Drs. As'adi Abdullah, M.Si. sebagai Pembimbing Pertama, atas dukungan serta motivasi, bantuan, arahan, kritik, saran, waktu dan kesabarannya menghadapi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Hasanuddin Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina P., M.A., beserta staf.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc., beserta staf yang telah membantu dan penulis dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si., atas ilmu, motivasi dan saran-sarannya.

4. Tim penguji skripsi Bapak Dr. Eddyman W. Ferial, S.Si., M.Si.,CPS®, CMC dan ibu Andi. Evi Erviani, S.Si, M,Sc. terima kasih banyak atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis dari awal studi hingga penyusunan skripsi ini.
5. Bapak/Ibu Dosen Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu yang telah membina, mendidik dan memberikan ilmunya kepada penulis selama proses perkuliahan. Serta telah menjadi orang tua di perantauan dan juga kepada staf dan Pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu, dalam bidang administrasi dan dukungan kepada penulis selama ini.
6. Kak Heriadi, S.Si, Kak Fuad Gani, S.Si dan Kak Nenis Sardiani, S.Si yang telah banyak membantu selama perkuliahan, penelitian, baik ilmu, bimbingan, kritik dan sarannya.
7. Veni Apriliani dan Paramita Sudirman sebagai partner penelitian yang selalu membagikan informasi mengenai penelitian, memberikan semangat serta motivasi selama penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini.
8. Saudara tak sedarah penulis A. Tenri Ampareng, Mimi Sriyuyun, Serly Saputri Lukman, Hilda Utami Aksan, Amd. Farm., Syahri Istigfarni, Utari Theosofi Febrilia, Sasa Astrina, Megawati Ikmal yang selalu memberikan bantuan dan semangatnya serta ada dalam suka duka yang penulis alami.
9. Sahabat seperjuangan di kampus Saraswati, Amalia Fauziah, Miftahul Jannah, Siti Aras Ainun Basri, Ayu Angreni Sujito, Indah Khaerunnisa, Putri Fahrani, Aisyanang Deng Ngai, Renaldi Rhafiq, Nurul Afia Abd Majid, Nurindah Rezky, Eka Triana yang telah banyak membantu selama kuliah, penelitian dan penyusunan skripsi ini. Juga kepada Kiky Venna

Violetta teman dari maba yang meskipun telah pindah fakultas tetap menjadi pendengar dan tempat penulis berkeluh kesah. Serta Kakak Ifka Widya Sari S.Pd., S.Si dan Kakak Aida Ameliya Annisa Amran, S.Si yang selalu penulis jadikan tempat bertanya ketika penulis mengalami kekusahan dalam mengerjakan tugas kuliah hingga skripsi.

10. Teman-teman Biologi Unhas Angkatan 2017 BIOVERGENT, terkhusus kepada ketua angkatan Salman Al Farisi dan ketua golongan Islah Madjid yang telah banyak membantu terlebih dimasa-masa awal perkuliahan.
11. Kakak-kakak dan adik-adik anggota Himpunan Mahasiswa Biologi FMIPA Unhas yang telah banyak memberikan pelajaran yang tidak diperoleh dibangku perkuliahan.
12. Teman-teman KKN Tematik Unhas Gel.104 Kelompok Luwu 1 yang telah memberikan kesan dan cerita baru selama 1 bulan meskipun kegiatan KKN sebagian besar dilakukan secara online.
13. Teman-teman MIPA 2017 yang selalu membantu dan memberikan semangatnya dari maba hingga saat ini

Pada akhirnya penulis berterima kasih kepada semua pihak yang berperan dalam kehidupan penulis terlebih di masa pekuliahan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi yang tidak dapat saya sebutkan namanya satu persatu yang telah banyak berkontribusi selama ini memberikan masukan, kritik, saran, bantuan, semangat serta motivasinya yang membuat penulis merasa terdorong dan tetap semangat dalam menjalani kehidupan kampus yang tidak mudah dan tidak gampang dilalui dengan segala keterbatasan dan jauh dari orang tua serta sampai pada tahap penelitian dan penyelesaian skirpsi. Terima Kasih yang sebesar-

besarnya, semoga Tuhan memberi rahmat dan melindungi kepada kita semua,
Aamiin.

Makassar, April 2021

Penulis

ABSTRAK

Telah dilaksanakan penelitian berjudul **Potensi Khamir yang Diisolasi dari Nira Kelapa *Cocos nucifera* L. dalam Memfermentasi Xilosa menjadi Xilitol.** Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh dan mengetahui kemampuan isolat dari nira kelapa *Cocos nucifera* L. dalam fermentasi xilosa menjadi xilitol. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif. Sampel nira kelapa *Cocos nucifera* L. ditumbuhkan pada media *Yeast Malt Agar* yang ditambahkan 1% kloramfenikol. Khamir yang tumbuh kemudian dimurnikan dan selanjutnya dilakukan seleksi pada media *Yeast Pepton Xylose Agar* dan *Xylose Broth*. Khamir hasil seleksi *Xylose Broth* kemudian digunakan pada tahap fermentasi selama 72 jam dan diamati setiap interval waktu 24 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan enam isolat yaitu KP1, KP2, KP3, KP4, KP5 dan KP6 mampu tumbuh pada media yang mengandung xilosa. Dua isolat yaitu KP3 dan KP4 yang memiliki kemampuan paling baik dilihat dari tingkat kekeruhannya pada media *Xylose Broth* dilanjutkan pada tahap fermentasi dan dilakukan analisis kadar xilitol dengan menggunakan UPLC. Berdasarkan hasil pengukuran kadar xilitol, kadar xilitol isolat KP3 yaitu 2,23 g/100 dengan jumlah yield xilitol sebesar 0,63 g/g dan isolat KP4 yaitu 2,19 g/100 mL dengan jumlah yield sebesar 0,62 g/g.

Kata Kunci: Khamir, Nira Kelapa *Cocos nucifera* L, Xilosa, Xilitol

ABSTRACT

The research entitled **Potential Yeast Isolated from Coconut *Cocos nucifera* L. sap in fermenting xylose to xylitol** has been carried out. This study was carried out to obtain and determine the ability of isolates from coconut *Cocos nucifera* L. sap in the fermentation of xylose to xylitol. The descriptive method is implemented in this study. Coconut *Cocos nucifera* L. sap samples were grown on Yeast Malt Agar medium which added 1% chloramphenicol. The yeast that grows is then purified and then selected on Yeast Pepton Xylose Agar and Xylose Broth media. Yeast selected by Xylose Broth is then used in the fermentation stage for 72 hours and observed every 24 hours. The results of the study showed that six isolates, namely KP1, KP2, KP3, KP4, KP5 and KP6 were able to grow on media containing xylose. Two isolates, namely KP3 and KP4 which had the best ability seen from the level of turbidity in Xylose Broth media were continued to the fermentation stage and analyzed for xylitol content using UPLC. Based on the measurement results of xylitol content, the xylitol content of KP3 isolate was 2.23 g / 100 with the amount of xylitol yield of 0.63 g / g and KP4 isolate of 2.19 g / 100 mL with a total yield of 0.62 g / g.

Key Words : Yeast, Coconut *Cocos nucifera* L. sap , Xylose, Xylitol

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	2
I.3 Manfaat Penelitian	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II. 1 Nira Kelapa	4
II. 2 Xilosa	8
II.3 Xilitol	9
II.4 Khamir dalam Produksi xilitol	10
BAB III METODE PENELITIAN	15
III.1 Alat	15
III.2 Bahan	15
III.3 Metode Kerja	15

III.3.1	Persiapan Penelitian.....	15
III.3.2	Isolasi Khamir dari Nira	17
III.3.3	Pemurnian.....	17
III.3.4	Pengamatan Morfologi Khamir	18
III.3.5	Seleksi Khamir menggunakan Xilosa pada Media <i>Yeast Pepton Xylose</i>	18
III.3.6	Persiapan Fermentasi.....	19
III.3.7	Fermentasi	19
III.3.8	Pengukuran Hasil Fermentasi.....	19
III.3.9	Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		22
IV.1	Isolasi Khamir dari Nira Kelapa <i>Cocos nucifera</i> L.....	22
IV.2	Pengamatan Morfologi Koloni dan Sel.....	24
IV.3	Seleksi Khamir dalam menggunakan Xilosa pada Media <i>Yeast Pepton Xylose</i>	27
IV.4	Fermentasi.....	30
IV.4.1	Perhitungan Total Khamir	30
IV.4.2	Pengukuran Derajat Keasaman (pH).....	31
IV.4.3	Pengukuran Kadar Xilosa Akhir dan Kadar Xilitol yang Terbentuk .	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		35
V.1	Kesimpulan.....	35
V.2	Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Pengamatan Morfologi Koloni.....	24
Tabel 2. Pengukuran nilai OD.....	29
Tabel 3. Hasil analisis xilosa dan xilitol.....	33
Tabel 4. Hasil perhitungan total khamir pada isolasi	48
Tabel 5. Hasil perhitungan total khamir Fermentasi	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Penyadapan nira kelapa	6
Gambar 2. Struktur kimia xilosa	8
Gambar 3. Struktur kimia xilitol	9
Gambar 4. Pertumbuhan koloni khamir media Yeast Malt Agar	22
Gambar 5. Hasil Pemurninan Khamir pada media Yeast Malt Agar	24
Gambar 6. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni.....	25
Gambar 7. Hasil Pengamatan Morfologi Sel.....	26
Gambar 8. Isolat Khamir pada media YPXA	27
Gambar 9. Isolat khamir pada media Xylose Broth	29
Gambar 10. Hasil Perhitungan Total Koloni	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja isolasi dan fermentasi.....	42
Lampiran 2. Skema kerja Uji Kemampuan Khamir menggunakan Xilosa pada Media YPX	43
Lampiran 3. Skema Kerja Fermentasi.....	44
Lampiran 4. Skema Kerja analisis Xilosa	45
Lampiran 5. Skema Kerja Analisis Xilitol	46
Lampiran 6. Hasil Perhitungan	48
Lampiran 7. Foto Presedur Penelitian	50
Lampiran 8. Foto hasil seleksi Khamir yang dapat tumbuh pada media YPXA	53
Lampiran 9. Foto hasil seleksi Khamir yang tidak dapat tumbuh pada media YPXA.....	54
Lampiran 10. Kultur Fermentasi	55

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Xilitol adalah gula alhokol yang dijadikan pengganti gula tebu sebagai pemanis tetapi memiliki kalori yang rendah (Nadia, dkk., 2017; Azizah, 2019). Xilitol telah banyak digunakan dalam bidang farmasi dan industri makanan (Carneiro, *et al.*, 2019). Beberapa negara telah merekomendasikan penggunaan xilitol sebagai pengganti gula pada produk makanan dan obat-obatan yang diproduksi, seperti permen karet, kembang gula, obat kumur, obat kunyah dan pasta gigi (Zuliani, dkk., 2019). Xilitol dipercayai menjadi alternatif pemanis yang digunakan untuk mengobati penderita diabetes dan sebagai antimikroba terhadap patogen gigi *Streptococcus mutans* (Reshma, *et al.*, 2015).

Pada skala industri xilitol umumnya diproduksi menggunakan metode kimia. Produksi dengan menggunakan bahan kimia memiliki pemurnian yang luas dalam standarisasi makanan dan farmasi, membutuhkan suhu dan tekanan yang tinggi menyebabkan metode tersebut terbilang lebih mahal. Pada skala industri xilitol dibuat dengan mereduksi xilosa murni dengan gas hidrogen pada suhu 80°C-140°C dan menggunakan katalis Raney nikel, namun cara ini tidak ramah lingkungan karena akan menghasilkan polutan logam (Yulianto, dkk., 2006; Fairus, dkk., 2013). Mahalnya metode kimia mengharuskan adanya metode yang lebih murah dan efektif dalam produksi xilitol.

Produksi xilitol dengan metode bioteknologi kini lebih di perhatikan karena memiliki keuntungan yaitu lebih ekonomis serta ramah lingkungan serta

dapat berlangsung pada suhu relatif rendah serta tidak memerlukan katalisator logam berat yang dapat mencemari proses konversi (Ghindea, *et al.*, 2010). Menurut Mahyati (2017). Produksi xilitol dengan metode bioteknologi dilakukan melalui proses fermentasi yang melibatkan mikroorganisme yaitu khamir.

Menurut Febriyanti, dkk., (2015) nira merupakan salah satu media terbaik untuk pertumbuhan mikroorganisme, termasuk khamir yang dapat dimanfaatkan dalam menghasilkan produk fermentasi karena kandungannya yang kaya gula, lemak dan protein. Nira merupakan cairan yang memiliki rasa manis mengandung gula yang terdapat pada bunga yang pucuknya belum membuka dengan konsentrasi gula antara 7,5 hingga 20,0 % dan diperoleh dengan cara penyadapan.

Keberadaan khamir pada nira kelapa didukung dengan hasil penelitian Widyaningrum dan Listiatie (2018) yang mengisolasi khamir dari empat jenis nira dan diperoleh 48 isolat. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Wiratno dan Novi (2018) yang mengisolasi khamir dari nira tanaman siwalan menunjukkan bahwa nira siwalan menghasilkan khamir yang teridentifikasi sebagai *Candida tropicalis* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian dengan mengisolasi khamir dari nira kelapa untuk memperoleh serta mengetahui kemampuan isolat yang diperoleh dalam fermentasi xilosa.

I.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk memperoleh isolat khamir dari nira kelapa *Cocos nucifera* L. yang mampu menfermentasi xilosa menjadi xilitol.
2. Untuk mengetahui kemampuan isolat khamir yang diperoleh dari nira kelapa *Cocos nucifera* L. dalam fermentasi xilosa menjadi xilitol.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi serta tambahan pengetahuan tentang potensi khamir yang diperoleh dari nira kelapa dalam memfermentasi xilosa.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 - Februari 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin dan dilakukan uji kadar xilosa dan xilitol di Laboratorium Saraswanti Indo Genetech, Bogor.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Nira Kelapa

Kelapa *Cocos nucifera* L merupakan tanaman yang dikenal sebagai komoditas sosial yang tersebar di Nusantara. Perkembangannya terjadi terus menerus. Kelapa telah menjadi komoditi penting yang memberikan nilai ekonomis yang tinggi karena bagian tanamannya mulai dari daun, buah hingga batang dapat dimanfaatkan (Gunawati, dkk., 2018; Hamka, 2012). Sulawesi Selatan menjadi salah satu daerah yang memiliki tanaman kelapa yang cukup melimpah, sekitar 22 kabupaten di Sulawesi Selatan merupakan daerah penghasil kelapa, baik kelapa dalam maupun kelapa hibrida (Pratiwi, dkk., 2019).

Manfaat produk dari tanaman kelapa selain untuk memenuhi kebutuhan masyarakat, juga sebagai sumber devisa negara melalui ekspor. Serta tenaga kerja yang diserap dari komoditas ini tidaklah sedikit, yaitu sekitar 6,9 juta KK. Selain sebagai sumber minyak dan lemak nabati produk tanaman kelapa sebagai sumber bahan baku berbagai industri lainnya, seperti santan, kelapa segar, berbagai jenis *oleo chemical*, berbagai produk dari sabut dan tempurung kelapa, mempunyai prospek pasar yang baik.

Dijelaskan dalam hasil penelitian sebelumnya, minyak kelapa khususnya VCO ternyata juga baik untuk kesehatan. Disamping itu minyak kelapa ternyata dapat dimanfaatkan untuk substitusi energi, yaitu untuk biodiesel maupun minyak bakar. Dengan demikian, pada sentra-sentra pengembangan kelapa sangat memungkinkan untuk mengembangkan penyediaan energi berbasis minyak kelapa

(Hamka, 2012). Selain buahnya yang dimanfaatkan dalam berbagai macam produk dan bernilai ekonomi tinggi, kelapa juga dapat menghasilkan nira yang diperoleh dengan cara menyadap tandan bunga (Mashud dan Yulianus, 2014).

Nira kelapa adalah cairan yang diperoleh dari bunga tanaman kelapa yang belum membuka. Nira yang belum mengalami fermentasi memiliki rasa manis dan berwarna seperti madu atau berupa cairan bening (Ghosh, *et al.*, 2018; Mashud dan Yulianus, 2014). Nira diperoleh dengan melalui proses penyadapan tandan dengan produksi nira sekitar 10-20 liter nira/pohon/hari (Anam, dkk., 2012).

Proses penyadapan nira dilakukan sebanyak dua kali sehari, yaitu pagi dan sore hari. Setiap pohon dapat disadap dua tandan (Mashud dan Yulianus, 2014). Nira diperoleh dari penyadapan yang dilakukan dengan mengikat mayang kemudian dimemarkan selama 5-10 menit, apabila posisi mayang agak tegak, maka mayang harus ditarik ke bawah untuk mempermudah penampungan nira. Untuk mengeluarkan nira, ujung tandan dipotong beberapa kali untuk mengoptimalkan nira yang keluar.

Menurut Mashud dan Yulianus, (2014) apabila hari pertama dilakukan pememarkan, maka hari kedua dilakukan pemotongan tandan setebal 0,5 cm, demikian seterusnya hingga tandan mengeluarkan nira. Nira yang keluar disadap menggunakan penampung botol plastik atau bambu sebagai wadah. Menurut Kurniawan, dkk., (2018) memasang tabung bambu untuk menyimpan nira dilakukan sehari sebelum pengumpulan nira.. Pengambilan nira dilakukan pada tandan yang belum terbuka serta bebas dari serangan hama dan penyakit



Gambar 1. Penyadapan nira kelapa
Sumber : Kurniawan, dkk., (2018)

Nira kelapa merupakan bagian dari tanaman kelapa yang banyak dikembangkan menjadi berbagai produk baik pangan maupun non pangan, namun yang paling umum diolah menjadi gula kelapa (Mashud dan Yulianus, 2014). Salah satu kendala yang dihadapi dalam pengolahan nira kelapa adalah mudahnya terjadi kontaminasi oleh ragi liar (Pratama, dkk., 2015).

Kontaminasi nira kelapa oleh ragi liar yang menghasilkan enzim sukrase atau invertase akan menyebabkan sukrosa terpecah menjadi glukosa dan fruktosa (Pratama, dkk., 2015). Hal tersebut juga menyebabkan nira mudah sekali mengalami kerusakan jika proses pengolahannya terlambat.

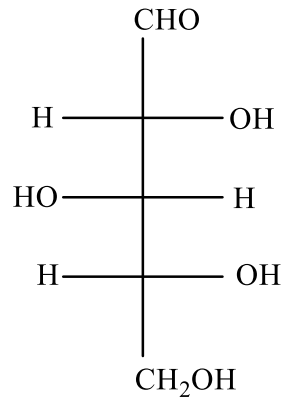
Pemanfaatan nira kelapa yang sangat dikenal saat ini adalah produksi gula merah kelapa menjadi produk yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan kesejahteraan masyarakat (Pratiwi, 2019). Namun menunda pemasakan nira kelapa menjadi permasalahan yang biasanya dialami oleh petani nira kelapa dalam proses pembuatan gula kelapa. Adanya penundaan pengolahan membuat nira menjadi rusak dan sulit untuk diolah menjadi gula kelapa. Nira yang telah rusak atau terfermentasi apabila diolah akan menghasilkan gula kelapa dengan tekstur yang sulit untuk dicetak,

sehingga mengakibatkan kerugian (Febryanti, 2015). Selain itu juga membuat nilai rendemen dari gula kelapa akan menurun yang dapat merugikan petani nira kelapa. Nira kelapa yang tidak dapat diolah menjadi gula kelapa kemudian mengalami proses fermentasi. Pembuatan sirup nira kelapa merupakan alternatif atau usaha yang dapat dilakukan untuk mengurangi kerugian pengrajin gula kelapa.

Hasil penelitian Asghar (2019) menunjukkan bahwa didalam nira kelapa mengandung vitamin C dan mineral yang tinggi. Sifat-sifat tersebut menunjukkan bahwa nira kelapa berpotensi menjadi sumber gula yang lebih sehat dibandingkan dengan sari aren dan sari tebu. Berdasarkan hasil penelitian Mashud dan Yulianus, (2014) kadar gula dalam nira segar yang paling tinggi diperoleh berkisar antara 13,51-14,77 %. Nira segar mengandung sukrosa 25,40 %, total bahan padat 18,90 %, gula invert 0,70 %, nitrogen 0,03 %, fosfor 0,02 %, kalium 0,16 %, kalsium 0,002 %, magnesium 0,004 %, kadar air 65-80 %, serta pH 7,2 (Rukmana dan Yuyun, 2001).

Menurut Shetty, *et al.*, (2017) nira yang berasal dari bunga berbagai spesies palma kaya akan sumber gula dan mineral dan memberikan kondisi optimal untuk pertumbuhan ragi dan bakteri asam laktat. Nira merupakan media terbaik untuk pertumbuhan mikroorganisme karena kaya akan kandungan gula, lemak dan protein. *Saccaromyces cerevisiae* merupakan khamir yang paling potensial ditemukan dalam nira kelapa yang dapat melakukan fermentasi (Febryanti, 2015). Menurut Periadnadi, dkk., (2018) selain *Saccaromyces cerevisiae* yang dominan, jenis khamir seperti *Schizosaccharomyces* sp. dan *Candida* sp juga ditemukan sebagai khamir fermentasi pada nira.

II. 2 Xilosa



Gambar 2. Struktur kimia xilosa

Sumber : Corredor, (2008) dalam Muljana, dkk.,(2013).

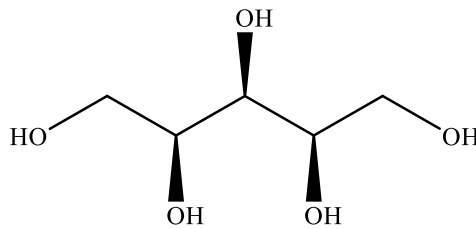
Xilosa merupakan bahan baku yang digunakan dalam produksi xilitol (Mardawati, dkk., 2018). Xilosa dijadikan sebagai substrat yang digunakan untuk memproduksi xilitol, dimana konsentrasinya berpengaruh pada pertumbuhan sel dan pembentukan xilitol yang bervariasi terhadap spesies ragi yang digunakan (Fairus, dkk., 2013).

Xilosa merupakan monosakarida tipe aldopentosa yang memiliki lima atom karbon dan satu gugus aldehyd. Xilosa merupakan salah satu penyusun utama dari hemiselulosa, yang terkandung sekitar 30 % dalam tanaman. Di alam, xilosa biasanya dapat diperoleh dengan cara hidrolisis asam atau enzim hemiselulosa pada biomassa lignoselulosa dari berbagai jenis limbah tanaman seperti jerami padi, bagasse tebu, tongkol jagung, dan limbah (stover) jagung (Azizah, 2019).

Produksi xilosa dari limbah tanaman dapat dilakukan dengan melalui dua tahapan, yaitu tahap pertama dilakukan pretreatment atau perlakuan awal dan tahap kedua yaitu hidrolisis. Pretreatment dilakukan dilakukan untuk mengurangi lignin yang mengikat selulosa dan hemiselulosa, karena tanaman umumnya

memiliki kandungan lignin dan hemiselulosa pada material lignoselulosa. Sedangkan proses hidrolisis dilakukan untuk memecahkan polimer polisakarida menjadi bentuk yang lebih sederhana, yaitu xilosa dengan menggunakan hidrolisis asam yang umum digunakan contohnya asam sulfat H_2SO_4 .

II.3 Xilitol



Gambar 3. Struktur kimia xilitol
Sumber: Kresnowati, dkk., (2015)

Xilitol merupakan salah satu jenis gula alkohol dengan lima rantai karbon dengan rumus molekul $C_5H_{12}O_5$. Xilitol merupakan gula yang diproduksi dari xilosa sebagai bahan baku dan memiliki rasa manis (Azizah, 2019). Xilitol memiliki tingkat kemanisan yang mirip dengan sukrosa tetapi rendah kalori dan dijadikan sebagai pengganti gula tebu (Nadia, dkk., 2017). Xilitol memiliki indeks glikemik yang rendah sehingga aman dikonsumsi oleh penderita diabetes (Kresnowati, dkk., 2015).

Xilitol mengandung kalori sebanyak 40% lebih rendah yaitu sekitar 2,4 kalori, dibandingkan dengan jenis gula lain seperti sukrosa yang memiliki 4 kalori per gramnya. Panas pelarutan yang digunakan dalam melarutkan xilitol adalah negatif sepuluh lebih besar daripada sukrosa, sehingga xilitol memberikan sensasi dingin di dalam mulut (Zuliani, dkk., 2019). Gula xilitol umumnya ditemukan secara alami pada buah dan sayuran seperti plum kuning, stroberi, raspberry, kembang kol dan selada (Lugani, *et al.*, 2017).

Xilitol telah digunakan pada bidang perawatan gigi, farmasi dan makanan karena memiliki keunggulan, antara lain:

- a. Pada bidang perawatan gigi, xilitol tidak bersifat karsinogenik dan kariostatik (Nadia, dkk.,2017). Menurut Monica, dkk., (2018) xilitol merupakan gula alkohol yang menjadi salah satu antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* melalui pengeluaran metabolit toksik Sedangkan pada penelitian Priyambodo dan Nurindah (2018) menyatakan bahwa permen karet yang mengandung xilitol dapat menstimulasi sekresi dan meningkatkan komposisi pH saliva serta mencegah kerusakan gigi. Xilitol menjadi pemanis alami yang memiliki manfaat menekan jumlah bakteri mulut, menghambat pertumbuhan plak, mencegah keasaman plak serta mempercepat proses pembentukan kembali mineral gigi (Zuliani, dkk., 2019)
- b. Pada industri makanan, xilitol tidak menyebabkan perubahan warna pada makanan menjadi kecoklatan sehingga tidak mengurangi nilai gizi protein (Nadia, dkk.,2017).
- c. Pada bidang kesehatan, xilitol dimanfaatkan antara lain sebagai pemanis alternatif pengganti gula tebu gula yang cocok untuk penderita diabetes karena metabolismenya tidak tergantung pada insulin (Nadia, dkk.,2017). Selain itu xilitol memiliki tingkat kemanisan yang setara dengan gula sukrosa, namun dengan *Glycemic Index* serta kalori yang lebih rendah (Foster, dkk., 2002 dalam Mardawati dkk., 2018).

II.4 Khamir dalam Produksi xilitol

Khamir atau *yeast* merupakan fungi uniseluler yang bersifat mikroskopik. Sel khamir memiliki ukuran yang beragam diantaranya memiliki ukuran panjang

antara 5 sampai 20 μm dan lebar antara 1 sampai 10 μm . Selain ukurannya, bentuk dari sel *khamir* juga bermacam-macam yaitu basil, kokus, silindris, dan apikulat (Fardiaz, 1992 dalam Puspita, dkk., 2020).

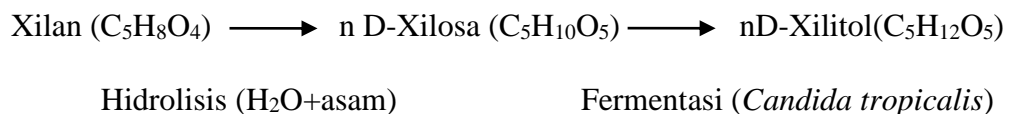
Berdasarkan sifat metabolismenya khamir terbagi menjadi dua yaitu khamir fermentatif dan khamir oksidatif (Pratama, dkk., 2017). Khamir fermentatif mampu menghasilkan metabolit primer dan sekunder yang dapat menjadikan terbentuknya suatu produk. Diantaranya penggunaan khamir sebagai agen fermentasi pada produk pangan telah banyak dilakukan.

Khamir umumnya ditemukan pada makanan yang mengandung gula seperti pada buah-buahan. Gula sederhana dimanfaatkan khamir untuk memperoleh energi (Suryaningsih, dkk., 2018). Peran khamir fermentatif banyak digunakan dalam bidang industri pangan, kesehatan dan energi (Angraini, dkk., 2019). Khamir dapat tumbuh pada medium konsentrasi solut (gula atau garam) lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri (Puspita, dkk., 2020).

Pada skala besar xilitol di produksi secara kimiawi. Dalam beberapa tahun terakhir metode bioteknologi untuk memproduksi xilitol melibatkan mikroorganisme yang mampu memanfaatkan xilosa menjadi xilitol mendapat perhatian. Hal tersebut disebabkan karena efisiensinya yang tinggi dan berkurang biaya teknologi (Ghindea, *et al.*, 2010).

Tingginya biaya produksi menjadi salah satu tantangan dalam produksi xilitol secara komersial karena memerlukan energi yang besar dan bahan baku murni. Sehingga produksi dengan biaya murah dan efisien dengan memanfaatkan mikroba perlu ditingkatkan. Produksi xilitol dengan proses bioteknologi dengan memanfaatkan mikroba dalam memfermentasi xilosa merupakan salah satu cara yang diharapkan dapat bernilai ekonomis (Ambarsari, dkk., 2014).

Fermentasi suatu proses atau kegiatan yang melibatkan mikroorganisme yang dikendalikan oleh manusia untuk memperoleh suatu produk yang berguna atau diinginkan. Pada proses fermentasi terjadi pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerob Fermentasi dapat diartikan juga sebagai perubahan gradual oleh enzim beberapa bakteri, khamir dan jamur (Hutasoit, dkk., 2016; Novitasari, 2012).



Proses produksi xilitol dari xilosa dapat dilakukan dengan biotransformasi menggunakan enzim. Salah satu enzim yang dapat digunakan adalah enzim *xylose reductase*. Menggunakan enzim dalam produksi xilitol biasanya di bantu oleh mikroorganisme yaitu khamir. Jenis khamir yang umumnya digunakan adalah kelompok genus *Candida* (Azizah, 2019).

Xilosa direduksi menjadi xilitol secara kimiawi atau biologis. Metode biologis pada umumnya menggunakan bantuan mikroorganisme yaitu khamir diantaranya adalah spesies *Candida utilis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondi*, *C. mogii*, *Debaromyces hansenii*, *Pachysolen tannophilus*, dan *Pichia stipitis* (Kresnowati, dkk., 2015). Hal tersebut sesuai dengan Fairus, dkk., 2013 bahwa ragi merupakan mikroorganisme yang terbaik dalam memproduksi xilitol, lima strain ragi yang terisolasi secara lokal untuk memfermentasi xilosa dari tongkol jagung menjadi xilitol terutama dari genus *Candida* diantaranya adalah spesies *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. pelliculosu*, *C. parapsilosis* dan jenis lainnya seperti *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces sp.* dan *Penicillium sp.* Namun jenis *Candida tropicalis* terbukti menjadi produser yang paling baik dalam memproduksi xilitol.

Penelitian menggunakan mikroba untuk produksi xilitol terus dikembangkan. Menurut Ambarsari, dkk., (2014) keberhasilan biokonversi xilosa menjadi xilitol secara fermentasi juga bergantung pada beberapa faktor diantaranya suhu, pH, kondisi aerasi, konsentrasi substrat dan keberadaan gula lain:

a. Suhu

Sebagian besar khamir yang digunakan dalam produksi xilitol dapat tumbuh pada suhu antara 24-45 °C, dengan suhu dalam produksi antara 28-30 °C. Pada temperatur 30 °C memberikan hasil yang terbaik dengan waktu fermentasi 48 jam. Hal ini disebabkan suhu optimum biasanya antara 27-30 °C. Pada suhu 34-40 °C hasil rendemen campuran gula memperlihatkan hasil yang cenderung konstan (Fairus, dkk., 2013).

b. pH

Nilai pH yang baik dalam pembentukan xilitol adalah 5.5. Termasuk di antaranya Khamir *Candida* sp. yang umum digunakan dalam produksi xilitol yaitu dengan menggunakan pH 4-6 (Fairus, dkk., 2013).

c. kondisi aerasi

Aerasi menjadi salah satu faktor penting karena ketersediaan oksigen pada media dapat mempengaruhi antara lain pertumbuhan khamir, kecepatan menggunakan substrat dan kecepatan pembentukan produk (Fairus, dkk., 2013).

d. konsentrasi substrat

Konsentrasi substrat yang digunakan berpengaruh terhadap pertumbuhan sel dan pembentukan xilitol yang bervariasi terhadap spesies ragi. Konsentrasi xilosa antara 100-150 g/l dapat menghambat produksi xilitol karena terjadinya penimbunan hasil metabolisme. Kenaikan konsentrasi xilosa menyebabkan penurunan kecepatan pertumbuhan organisme, kecuali apabila aerasi ditingkatkan.

Namun, pada konsentrasi substrat yang rendah dapat menurunkan hasil produksinya karena substrat digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan sel (Fairus, dkk., 2013).

e. keberadaan gula lain selain xilosa, seperti glukosa (kosubstrat)

Kadar xilosa yang diperoleh untuk digunakan sebagai substrat didukung dengan adanya glukosa pada media fermentasi yang berfungsi sebagai kosubstrat. Kosubstrat bertujuan agar xilitol yang dihasilkan tidak dimetabolisme lebih lanjut oleh *C. tropicalis*, baik untuk pertumbuhan atau sebagai sumber ko-enzim serta sumber energi. Adanya glukosa dapat digunakan oleh *C. tropicalis* sebagai ekuivalen reduksi (NADH/NADPH) yang diperlukan untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol untuk pemeliharaan serta pertumbuhan sel (Fairus, dkk., 2013).