

**PRODUKSI XANTAN DARI PATI
UBI JALAR (*Ipomoea batatas*) MENGGUNAKAN
BIAKAN CAMPURAN (*MIXED CULTURE*)**

Oleh
GIRI PRASETYO
F 25. 0766



1 9 9 5
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
B O G O R

IPB University
GIRI PRASETYO. F 25.0766. Produksi Xantan dari Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) menggunakan Biakan Campuran (Mixed Culture). Dibawah bimbingan Dr.Ir. Djumali Mangunwidjaja., DEA

RINGKASAN

Xantan merupakan polisakarida yang mempunyai kegunaan luas dalam industri. Hal ini disebabkan karena xantan mempunyai sifat-sifat yang khas seperti viskositas yang tinggi pada konsentrasi rendah, sifat pseudoplastik yang baik, viskositasnya stabil terhadap panas, enzim dan pengaruh beberapa garam serta larut dalam air panas dan dingin. Xantan diproduksi secara fermentasi oleh bakteri *Xanthomonas campestris* dengan substrat glukosa.

Penggunaan glukosa murni adalah sangat mahal. Oleh karena itu perlu diganti dengan bahan baku yang lebih murah yaitu pati. Penggunaan pati sebagai bahan baku memerlukan proses hidrolisis secara terpisah. Oleh karena itu perlu dicari alternatif proses yang dapat menggabungkan proses hidrolisis dan fermentasi dalam satu sistem. Salah satu alternatif proses tersebut adalah proses fermentasi dengan menggunakan biakan campuran yang berisi campuran mikroba penghidrolisis pati menjadi glukosa dan mikroba yang mengkonversi glukosa menjadi xantan.

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari kemungkinan digunakannya biakan campuran *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* serta kinerjanya dalam memproduksi xantan dengan substrat pati ubi jalar secara langsung.

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada penelitian pendahuluan dilakukan pengujian kesesuaian bersama *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* dengan cara pengolesan kedua mikroba tersebut pada cawan yang berisi media YMA, penetapan fasa-fasa pertumbuhan *Bacillus subtilis* serta kinerjanya dalam menghidrolisis pati pada konsentrasi 2, 4, 6, 8 persen.

Fasa-fasa pertumbuhan *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut. Fasa adaptasi tidak teramati (jam ke-0), fasa eksponensial pada jam ke-0 sampai jam ke-12, fasa stationer pada jam ke-12 sampai jam ke-30. Hasil menunjukkan kinerja hidrolisis pati oleh *Bacillus subtilis* secara optimal dicapai pada kisaran konsentrasi pati 4 - 6 persen dengan perolehan glukosa masing-masing adalah 18,384 g/l dan 18,178 g/l. Hal ini disebabkan karena pada selang tersebut *Bacillus subtilis* mendapat kondisi yang optimum. Pada pengujian penggunaan biakan campuran pada selang konsentrasi tersebut, produksi xantan tertinggi diperoleh dari konsentrasi pati awal 4 persen dengan perbandingan inokulum *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* sebesar 1 : 2. Dengan demikian pada penelitian utama dilakukan pengkajian kinerja biakan campuran pada konsentrasi pati awal 4 persen dengan perbandingan inokulum sebesar 1 : 2 atau jumlah inokulum yang dicampurkan sebesar 5 persen



(*Bacillus subtilis*) dan 10 persen (*Xanthomonas campestris*).

Pada penelitian utama dilakukan manipulasi waktu pencampuran yaitu *Xanthomonas campestris* dicampur pada saat *Bacillus subtilis* berumur 0 jam (fasa adaptasi), 6 jam (pertengahan fasa eksponensial) dan 24 jam (fase stationer). Manipulasi waktu pencampuran tersebut memberikan pengaruh terhadap laju pertumbuhan biakan campuran, akumulasi glukosa, penggunaan pati, jumlah xantan tertinggi yang dihasilkan dan kinerja biakan campuran. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pencampuran *Xanthomonas campestris* paling baik dilakukan pada waktu *Bacillus subtilis* berumur 0 jam (MCT=0) dengan hasil xantan tertinggi sebesar 22 g/l. Parameter kinetika yang didapat dari kultivasi curah biakan campuran terbaik yaitu MCT=0, adalah laju pertumbuhan spesifik sel (μ) sebesar 0,40, parameter pembentukan produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan (α) = 9,24 g produk/g biomassa, parameter pembentukan produk yang tidak berasosiasi dengan pertumbuhan (β) = 0,188 g produk/g biomassa.jam, parameter penggunaan substrat yang berasosiasi dengan pertumbuhan (A) = -0,665 g substrat/g biomassa dan parameter penggunaan substrat yang tidak berasosiasi dengan pertumbuhan (B) = -3,166 g substrat/g biomassa.jam.

Waktu pencampuran terjelek adalah pencampuran pada waktu *Bacillus subtilis* berumur 6 jam (MCT=6) dengan hasil

xantan tertinggi sebesar 9,2 g/l, nilai $\alpha = -2,072$ g produk/g biomassa, nilai $\beta = -0,096$ g produk/g biomassa.jam, nilai $A = -65,0$ g substrat/ g biomassa dan nilai $B = -1,562$ g substrat/g biomassa.jam.

Perbandingan kinerja proses produksi xantan menggunakan sistem biakan campuran dengan biakan tunggal adalah sebagai berikut: Jumlah xantan tertinggi yang dihasilkan biakan campuran adalah 22 g/l, hal ini lebih rendah dibandingkan dengan biakan tunggal yaitu 27,1 g/l. Biakan campuran membutuhkan waktu yang lebih pendek untuk menghasilkan jumlah xantan maksimal yaitu 72 jam sedangkan biakan tunggal memerlukan waktu 96 jam. Laju pembentukan produk* spesifik kecil dibandingkan pada biakan campuran. Tingkat konversi substrat-xantan pada biakan campuran lebih kecil dibandingkan pada biakan tunggal.



**PRODUKSI XANTAN DARI PATI
UBI JALAR (*Ipomoea batatas*) MENGGUNAKAN
BIAKAN CAMPURAN (MIXED CULTURE)**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor**

**Oleh
GIRI PRASETYO
F 25.0766**

**1995
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR**

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

PRODUKSI XANTAN DARI PATI
UBI JALAR (*Ipomoea batatas*) MENGGUNAKAN
BIAKAN CAMPURAN (MIXED CULTURE)

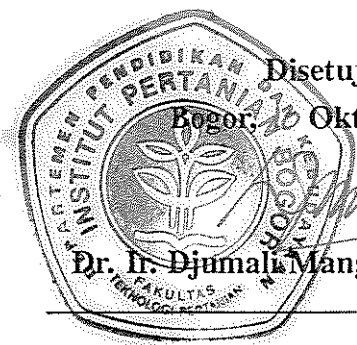
SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor

Oleh
GIRI PRASETYO
F 25.0766

dilahirkan pada tanggal 3 September 1969
di Purbalingga

tanggal lulus : 31 Juli 1995



Disetujui,
Bogor, 10 Oktober 1995
Dr. Ir. Djumali Mangunwidjaja, DEA

Dosen Pembimbing

Halaman ini merupakan Lembar Pengantar
1. Dilarang menyalin atau menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin dari penerbit dan penyalinannya harus
2. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
3. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
4. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
5. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
6. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
7. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
8. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
9. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus
10. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian atau seluruh isi buku ini untuk keperluan pribadi dan penyalinannya harus

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah S.W.T., karena atas berkat rahmatNya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

Selama penelitian, penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Djumali Mangunwidjaja, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
2. Ibu Ani Suryani dan Ibu Titi Candra Sunarti yang telah menguji dan memberi saran untuk kesempurnaan isi skripsi ini.
3. Segenap staf dan peneliti di laboratorium Bioindustri-PAU Bioteknologi IPB yang telah memberikan sumbangan baik pikiran maupun materiil.
4. Ibu, Bapak, Kakak, Adik, Meri, rekan-rekan di Pluto, Combi, Gang Mesjid dan Wismo Ayu yang telah memberikan bantuan moril dan materiil selama penulis menyelesaikan studi di Institut Pertanian Bogor.
5. Segenap sivitas akademika Jurusan Teknologi Industri Pertanian, serta teman-teman yang telah memberikan bantuan moril kepada penulis.

Penulis sadar bahwa isi skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Bogor, 1995

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I. PENDAHULUAN	
A. LATAR BELAKANG	1
B. TUJUAN	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. UBI JALAR	4
B. PATI	5
C. <i>Xanthomonas campestris</i>	6
D. <i>Bacillus subtilis</i>	7
E. XANTAN	8
1. Struktur Kimiawi Xantan	9
2. Sifat Fisiko Kimiawi Xantan	9
3. Kegunaan Xantan	11
F. BIAKAN CAMPURAN (MIXED CULTURE)	11
G. PRODUKSI XANTAN	17
1. Biosintesis Xantan	17
2. Media	18
3. Kondisi proses	18

Halaman ini merupakan bagian dari dokumen yang dihasilkan oleh sistem manajemen dokumen dan informasi IPB University. Untuk lebih jelasnya, silakan kunjungi website IPB University di alamat www.ipb.ac.id.

H. KONSEP BIAKAN CAMPURAN (MIXED CULTURE)
 B. *subtilis* DAN X. *campestris* 20

III. BAHAN DAN METODA

A. BAHAN DAN ALAT 24

 1. Bahan 24

 2. Media 24

 3. Alat 26

B. WAKTU DAN TEMPAT 26

C. TATA LAKSANA 26

D. METODA PENELITIAN

 1. Penyiapan Pati Ubi Jalar 27

 2. Penyiapan Inokulum *Bacillus subtilis* 28

 3. Penyiapan Inokulum *Xanthomonas campestris*. 29

 4. Penelitian pendahuluan 30

 a. Pengujian Kesesuaian. 30

 b. Fermentasi Glukosa dengan Substrat Pati Pada Berbagai Konsentrasi 31

 c. Fermentasi Xantan Menggunakan Biakan Campuran dengan Perbandingan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda-beda. 32

 5. Penelitian Utama 33

E. ANALISIS CONTOH 34

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

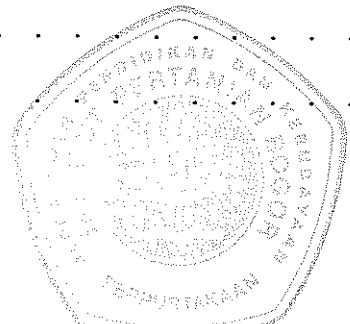
A. UJI KESESUAIAN. 35

B. PERBANDINGAN KONSENTRASI INOKULUM 36

C. HIDROLISIS PATI OLEH *Bacillus subtilis* DENGAN FERMENTASI CURAH 38

 1. Pertumbuhan Biomassa 38

 2. Pembentukan Glukosa 42



3. Penggunaan Substrat Pati	45
4. Parameter Proses	46
D. FERMENTASI BIAKAN CAMPURAN.	50
1. Pembentukan Biomassa	50
2. Xantan	54
3. Kadar Gula dan Kadar Pati Sisa	59
E. PERBANDINGAN KINERJA PROSES	65
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN	72
B. SARAN	73
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN	79

Hak Cipta: Peningkatan Kemampuan Berpikir Kritis, Kreatif, dan Inovatif
 1. Dilarang menyalin atau mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin penerbit.
 2. Dilarang menyalin atau mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.
 3. Dilarang menyalin atau mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini untuk tujuan komersial tanpa izin IPB University.
 4. Dilarang menyalin atau mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini untuk tujuan lain tanpa izin IPB University.
 5. Dilarang menyalin atau mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini untuk tujuan lain tanpa izin IPB University.

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1.	Komposisi kimiawi karbohidrat kasar pada ubi jalar	4
Tabel 2.	Persyaratan mutu xantan	11
Tabel 3.	Klas komunitas mikroba	12
Tabel 4.	Komposisi media YMA dan YMB	25
Tabel 5.	Komposisi media propagasi <i>Bacillus subtilis</i> .	25
Tabel 6.	Komposisi media pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> dan biakan campuran	25
Tabel 7.	Hasil uji coba biakan campuran dengan beberapa perbandingan jumlah inokulum pada kisaran konsentrasi pati optimum (4 - 6%)	37
Tabel 8.	Parameter proses hidrolisis pati menggunakan biakan <i>Bacillus subtilis</i>	49
Tabel 9.	Parameter kinetika biakan campuran	68
Tabel 10.	Perbandingan parameter proses biakan tunggal dengan biakan campuran	69
Tabel 11.	Data hasil hidrolisis pati menggunakan biakan <i>Bacillus subtilis</i>	85
Tabel 12.	Data hasil fermentasi pada MCT=0	86
Tabel 13.	Data hasil fermentasi pada MCT=6	86
Tabel 14.	Data hasil fermentasi pada MCT=24	87
Tabel 15.	Data hasil perhitungan parameter kinetika MCT=0 :	88
Tabel 16.	Data hasil perhitungan parameter kinetika MCT=6	89
Tabel 17.	Data hasil perhitungan parameter kinetika MCT=24	90

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rumus kimiawi xantan.	10
Gambar 2. Konsep dasar keseimbangan komunitas	13
Gambar 3. Pertumbuhan <i>B. subtilis</i> (o), sekresi enzim proteinase (o), α -amilase (\blacktriangle) dan ribonuklease (\blacksquare).	22
Gambar 4. Diagram alir penyiapan inokulum <i>Bacillus subtilis</i>	28
Gambar 5. Diagram alir penelitian pendahuluan	31
Gambar 6. Diagram alir fermentasi xantan	32
Gambar 7. Diagram alir penelitian utama	34
Gambar 8. Penampakan koloni <i>B. subtilis</i> dan <i>X. campestris</i> pada uji kesesuaian	35
Gambar 9. Kurva pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> pada beberapa konsentrasi pati	39
Gambar 10. Grafik ln biomassa terhadap waktu (t)	39
Gambar 11. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju pertumbuhan spesifik <i>Bacillus subtilis</i>	41
Gambar 12. Perubahan pH selama fermentasi	42
Gambar 13. Kurva pembentukan glukosa selama fermentasi	44
Gambar 14. Penggunaan substrat selama fermentasi	45
Gambar 15. Kurva pertumbuhan biomassa biakan campuran selama fermentasi	51
Gambar 16. Kurva pembentukan xantan oleh biakan campuran selama fermentasi.	55
Gambar 17. Jumlah perolehan xantan pada tiap-tiap biakan campuran	56
Gambar 18. Kurva pembentukan glukosa dalam biakan campuran selama fermentasi.	60

Gambar 19.	Kurva penurunan substrat pati dalam biakan campuran selama fermentasi.	63
Gambar 20.	Perbandingan pola pertumbuhan biomassa biakan campuran dengan pola pembentukan produk oleh biakan campuran	66

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya ini tanpa izin pencetakan dan reproduksi sumber.
2. Diperbolehkan untuk tujuan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan tesis atau keperluan umum lainnya.
3. Penggunaan tidak diperbolehkan untuk tujuan komersial.
4. Dilarang mengutip, menyalin, dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bahan dan alat	79
Lampiran 2. Tata cara analisis bahan baku dan hasil fermentasi	81
Lampiran 3. Data hasil penelitian dan penghitungan parameter proses	85

Halaman ini terdapat beberapa informasi yang berkaitan dengan IPB University. Informasi ini dapat digunakan untuk keperluan akademik dan penelitian. Informasi ini dapat digunakan untuk keperluan akademik dan penelitian. Informasi ini dapat digunakan untuk keperluan akademik dan penelitian.

I. PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Xantan merupakan polisakarida ekstraselular dengan bobot molekul tinggi yang dihasilkan oleh *Xanthomonas campestris*. Xantan memiliki beberapa sifat khas seperti viskositas yang tinggi pada konsentrasi rendah, larut dalam air dingin dan panas, memiliki sifat pseudo-plastik, stabil terhadap panas dan memiliki kesesuaian tinggi terhadap konsentrasi beberapa jenis garam. Kekhasan seperti ini menjadikan xantan memiliki kegunaan yang luas dalam industri pangan, yaitu sebagai bahan pengental, penstabil emulsi dan pembantu dalam pengolahan (Kang dan Cottrell, 1979).

Bahan-bahan yang digunakan untuk memproduksi xantan adalah D-glukosa, sukrosa dan beberapa karbohidrat lain. Memperhatikan komponen dasar yang dibutuhkan, beberapa hasil pertanian dapat digunakan sebagai substrat utama produksi xantan seperti onggok, pati, kertas, pulp kopi dan coklat. Bahan-bahan tersebut secara umum digolongkan sebagai bahan berpati dan bahan lignoselulosik.

Produksi xantan menuntut adanya ketersediaan bahan baku yang melimpah, murah dan mudah penanganannya. Penggunaan D-glukosa murni sebagai substrat adalah sangat mahal, oleh karena itu penggunaan bahan berpati

dan bahan lignoselulosik merupakan alternatif pengganti D-glukosa yang baik karena bahan-bahan tersebut dapat dihidrolisis menjadi gula-gula sederhana, murah dan banyak ketersediaannya.

Meskipun demikian terdapat kesulitan dan hambatan dalam mengubah bahan lignoselulosik tersebut menjadi gula sederhana. Dengan demikian penggunaan bahan berpati merupakan alternatif yang tepat untuk mengganti glukosa sebagai substrat. Bahan berpati yang potensial antara lain adalah ubi jalar. Pemanfaatan pati ubi jalar sebagai bahan baku pembuatan xantan juga dapat meningkatkan nilai tambah ubi jalar itu sendiri.

Pada sistem fermentasi dengan biakan tunggal dimana hanya biakan *Xanthomonas campestris* yang digunakan dalam fermentasi maka pati ubi jalar tersebut terlebih dahulu harus dihidrolisis menjadi glukosa. Hidrolisis pati ubi jalar baik secara enzimatik maupun secara asam merupakan proses terpisah. Hal ini akan menambah waktu dan peralatan proses.

Sistem fermentasi biakan campuran yang diteliti, dirancang untuk menggabungkan proses hidrolisis dengan proses fermentasi xantan. Konsepnya didasarkan pada adanya kemungkinan penggantian enzim α -amilase dan amiloglukosidase yang berperan dalam hidrolisis pati menjadi glukosa oleh mikroba secara *in situ*. Beberapa mikroba penghasil enzim α -amilase dan amiloglukosidase

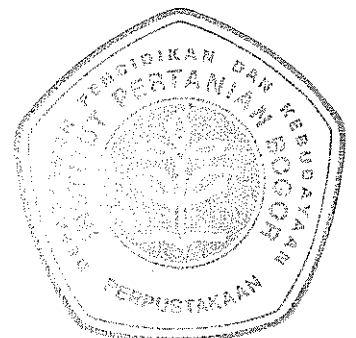
seperti *Saccharomyces diasticus*, *Aspergillus awamori*, *Bacillus macerans*, *Bacillus firmus* dan *Bacillus subtilis* dapat digunakan sebagai agen untuk menghidrolisis pati menjadi glukosa.

Sistem biakan campuran buatan ini akan lebih mudah dan memungkinkan secara teknis apabila digunakan mikroba dari jenis dan persyaratan hidup yang sama dengan *Xanthomonas campestris*. Berdasarkan studi pustaka, *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang paling memungkinkan untuk dicampur dengan *Xanthomonas campestris*, karena keduanya mempunyai pH, suhu dan kondisi lain yang hampir sama untuk pertumbuhan optimalnya.

Keuntungan penggunaan biakan campuran dalam pengubahan (konversi) bahan kompleks adalah proses menjadi lebih sederhana, mudah, hemat biaya dan lebih singkat waktu prosesnya (Linton dan Drozd, 1981).

B. TUJUAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari kemungkinan digunakannya biakan campuran *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* serta kinerjanya dalam memproduksi xantan dengan substrat pati ubi jalar langsung tanpa proses hidrolisis secara terpisah.



II. TINJAUAN PUSTAKA

A. UBI JALAR

Ubi jalar menurut Palmer (1982) mempunyai kandungan karbohidrat sebesar 18 - 35 persen dari bobot ubi jalar kering. Tabel 1 menyajikan komposisi kasar pada ubi jalar yang sudah tua (3 - 4) bulan.

Kadar pati dan gula pereduksi ubi jalar masing-masing 8 - 29 persen dan 0,5 - 2,5 persen. Kandungan gula pereduksi dan pati yang tinggi menyebabkan ubi jalar dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan xantan (Kay, 1973). Karbohidrat ubi jalar terdiri dari selulosa, pati, pentosan, pektin dan komponen karbohidrat yang berbobot molekul rendah sampai tinggi. Disamping itu ubi jalar juga mengandung tanin, lignin dan poliferol (Crosby, 1964).

Tabel 1. Komposisi kimiawi karbohidrat kasar pada ubi jalar (persen bobot basah)^a

Komponen	Jumlah (%)
Gula total	13,2 ± 2,5
Pati	4,1 ± 2,5
Pektin	0,9 ± 0,1
Hemiselulosa	0,7 ± 0,3
Selulosa	1,5 ± 0,4
Total karbohidrat	20,4 ± 3,1

^a Sistrunk (1977); Reddy dan Sistrunk (1980) di dalam Palmer (1982)

Kay (1973) menyatakan bahwa mineral-mineral yang terdapat dalam ubi jalar antara lain Ca, Mg, K, Na, P, S dan zat besi. Kadar mineral tersebut berkisar 0,88 sampai 7,5 persen.

Pati ubi jalar dapat digunakan untuk diolah menjadi glukosa (Kay, 1973), dengan proses likuifikasi menggunakan enzim α -amilase dan proses sakarifikasinya menggunakan enzim amiloglukosidase (Soesanto, 1983). Kadar glukosa tertinggi, yaitu sebesar 85,11 persen diperoleh dari kombinasi perlakuan α -amilase 1,8 g per kg pati kering dan amiloglukosidase 1,8 g per kg pati kering.

B. PATI

Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan α -glikosidik. Pati terdiri dari dua fraksi yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa mempunyai struktur lurus dengan ikatan α -(1,4)-D-glukosa, sedangkan amilopektin mempunyai cabang dengan ikatan α -(1,6)-D-glukosa sebanyak 4 - 5 persen dari berat total (Winarno, 1988).

Menurut Thenawidjaja (1988), amilosa terdiri dari satuan-satuan D-glukosa yang panjang dan tidak bercabang, digabung dengan ikatan α -(1,4)-glikosidik. Rantai ini beragam berat molekulnya, dari beberapa ribu sampai 500.000. Amilopektin juga memiliki berat molekul yang tinggi, tetapi susunannya bercabang-cabang.

Titik percabangan dari rantai ini merupakan ikatan α -(1,6)-glikosidik. Pati terutama terdapat dalam jumlah besar pada golongan umbi (seperti kentang, ubi jalar dan lain-lain) dan biji-bijian seperti jagung.

Ikatan α -(1,4)-glikosidik dalam pati dapat dihidrolisis oleh α -amilase menjadi D-glukosa dan suatu inti yang tahan terhadap hidrolisis disebut limit dekstrin. Limit dekstrin tidak dapat dihidrolisis lebih lanjut oleh α -amilase, yang tidak dapat memecah ikatan α -(1,6) pada titik-titik cabang. Untuk menguraikan ikatan ini, diperlukan suatu pemecah cabang α -(1,6) yaitu α -(1,6)-glukosidase. Enzim ini dapat menghidrolisis ikatan cabang dan ikatan α -(1,4) yang tidak terurai oleh enzim α -amilase. Aktivitas gabungan α -amilase dengan α -(1,6)-glukosidase dapat menguraikan pati secara sempurna menjadi glukosa dan sedikit malto-
sa (Thenawidjaja, 1988).

C. *Xanthomonas campestris*

Xanthomonas campestris merupakan bakteri penghasil xantan yang memiliki ciri-ciri berbentuk batang, berflagela, polar, monotrikus, heterotropik, aerobik (beberapa galur anaerob fakultatif), gram negatif, koloninya berwarna kuning pada media yang mengandung gula (Starr dan Stepen, 1964). Suhu optimal pertumbuhannya adalah 25°C - 28°C (Hayward, 1983). Bakteri ini

diisolasi dari tanaman rutabaga (keluarga kubis), bunga kol atau daun lobak (Pettit, 1973).

Biakan *Xanthomonas campestris* yang ditumbuhkan pada media *Yeast Maltose Agar* (YMA) selama 48 jam pada suhu 25°C akan membentuk tiga jenis koloni, yaitu jenis L (besar) bergaris tengah 4 mm, jenis Sm (sedang) bergaris tengah 2 mm, dan jenis S (kecil) bergaris tengah 1 mm. Jenis L membentuk lendir, berwarna kuning gelap menghasilkan polisakarida normal dalam jumlah banyak. Jenis Sm berbentuk lendir, berwarna kuning gelap dan menghasilkan polisakarida tidak normal dalam jumlah banyak. Sedangkan jenis S berbentuk non lendir dan tidak menghasilkan polisakarida (Kidby et al., 1977).

D. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis menurut Coleman dan Elliot (1962), merupakan bakteri yang mampu mensintesis enzim α -amilase ekstraselular. Pembentukan α -amilase membutuhkan sumber karbon antara lain pati atau salah satu jenis gula termasuk maltosa, laktosa dan galaktosa, tetapi bukan glukosa. Nitrogen dapat dipasok dalam bentuk garam amonium atau dalam bentuk senyawa organik kompleks. Konsentrasi fosfat yang tinggi diperlukan untuk sintesis enzim secara maksimal.

Bacillus subtilis tumbuh pada pH 7,2 dan suhu 30°C dengan aerasi. Coleman dan Elliot (1962) melakukan

percobaan dengan media yang berisi 0,15 M $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, 0,02 M KCl, 2 mM CaCl_2 , 2 mM MgSO_4 , 0,4 M ZnSO_4 , 0,004 M Natrium sitrat dan 10 persen *Soluble starch*. Media tersebut berisi ion Fe^{3+} untuk merangsang pembentukan α -amilase dalam jumlah banyak. Ketiadaan ion Fe^{3+} menyebabkan pembentukan sel yang kamba (*bulky*).

Enzim α -amilase ini dieksresikan keluar oleh sel seperti produk ekstraselular yang sesungguhnya. Produksi enzim secara ekstraseluler ini dirangsang oleh ion NH_4^+ . Sedangkan asam amino merupakan penghambat (Coleman dan Elliot, 1962).

Bacillus subtilis, selama pertumbuhannya menghasilkan α -amilase, proteinase dan ribonuklease pada media dengan sumber karbon maltosa sebesar satu persen. Selama fasa logaritmik ekskresi ketiga enzim tersebut berjalan lambat. Pada akhir fasa logaritmik ekskresi enzim meningkat dengan laju yang tinggi (Coleman dan Elliot, 1962).

E. XANTAN

Xantan merupakan polisakarida ekstraselular yang diproduksi secara fermentasi oleh *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 pada media yang mengandung glukosa, mineral dan sumber nitrogen kompleks (Moraine dan Rogovin, 1973).

1. Susunan Kimiawi Xantan

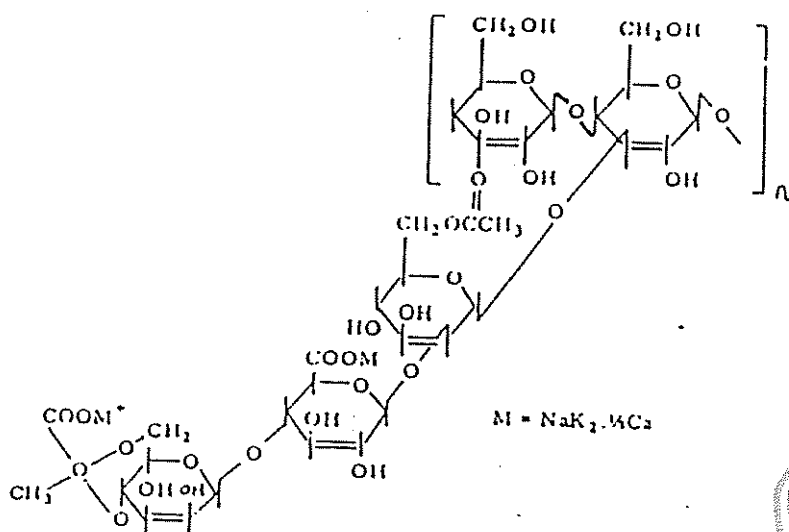
Xantan adalah heteropolisakarida dengan bobot molekul yang sangat tinggi dan tersusun atas 2,8 mol D-glukosa, 3,0 mol D-mannosa, 2,0 asam glukoronat, 4,7 persen asam asetat dan 3,0 mol persen asam piruvat (Glicksman, 1980).

Polimer xantan tersusun atas lima macam satuan berulang dari molekul gula, yaitu dua molekul glukosa, dua satuan mannanosa dan satu satuan asam glukoronat (Kang dan Cotrell, 1979). Rantai utama xantan adalah polimer β -D-glukosa dengan ikatan 1,4 yang menyerupai susunan selulosa. Pada kedudukan karbon ketiga dari satuan glukosa terikat rantai cabang trisakarida yang mengandung sebuah asam glukoronat diantara dua satuan mannanosa yaitu β -D-mannosa dan α -D-mannosa. Unit β -D-mannosa terikat secara glikosidik pada kedudukan dua dari α -D-mannosa. Xantan mengandung asam piruvat yang berikatan ketal dari posisi 4 dan 6 β -D-mannosa. Pada α -D-mannosa terdapat gugus asetil yang berikatan pada kedudukan 6 (Pettit, 1982). Susunan kimiawi xantan disajikan dalam Gambar 1.

2. Sifat Fisiko Kimiawi Xantan

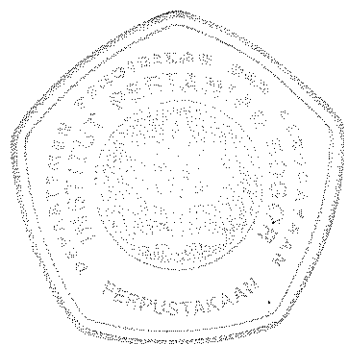
Xantan merupakan produk berbentuk bubuk berwarna kuning terang, dapat larut dalam air panas maupun

air dingin dan memiliki viskositas yang tinggi pada konsentrasi rendah yaitu sekitar 1000 cP pada konsentrasi 1,0 persen (Glicksman, 1980). Xantan mempunyai kestabilan yang cukup baik terhadap pengaruh suhu, pH, penambahan garam eletrolit atau enzim (Kennedy, 1982).



Gambar 1. Rumus kimiawi xantan
(Pettit, 1982)

Xantan mempunyai viskositas yang sama pada kisaran pH yang cukup besar, yaitu 1,5 - 13,0. Larutan xantan juga stabil terhadap reaksi enzim protease, amilase, hemiselulase, peptinase, serta larutan etanol 50 persen tetapi tidak stabil terhadap pengoksida kuat seperti peroksida, persulfat dan



hipoklorit (Pettit, 1982). Persyaratan xantan sebagai bahan tambahan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persyaratan mutu xantan^a

	Persyaratan
Viskositas ^b	min 600 cps
Kadar air	< 15 persen
Kadar abu	6,5 - 16 persen
Asam piruvat	> 1,5 persen
Isopropil alkohol	< 750 ppm
Arsenat	< 3 ppm
Logam berat	< 30 ppm
Salmonella	negatif
<i>E. coli</i>	negatif

^aPettit (1982)

^bLarutan xantan 1 persen dalam KCl 1 persen

3. Kegunaan Xantan

Xantan banyak digunakan secara luas di bidang industri pangan, obat-obatan, pakan dan keteknikan, sebagai bahan pengental, penstabil, pengemulsi dan bahan pembentuk gel (Pettit, 1982).

K. BIAKAN CAMPURAN (MIXED CULTURE)

Keragaman spesies mikroba dijumpai dalam komunitas mikroba di alam. Perubahan kondisi lingkungan dalam sistem menyebabkan perubahan yang bersifat suksesi pada komposisi populasi (Bull dan Slater, 1982).

Pengaturan sendiri terhadap komposisi komunitas dan hubungan antar anggota komunitas dimungkinkan oleh adanya mekanisme homeostatis berdasarkan pada interaksi

antar anggota komunitas. Homeostatis adalah kemampuan komunitas untuk memelihara stabilitasnya dibawah kondisi lingkungan yang berubah-ubah (Bull dan Slater, 1982).

Berdasarkan fenomena diatas, komunitas mikroba dibagi menjadi tujuh klas, yang selengkapnya terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Klas komunitas mikroba^a

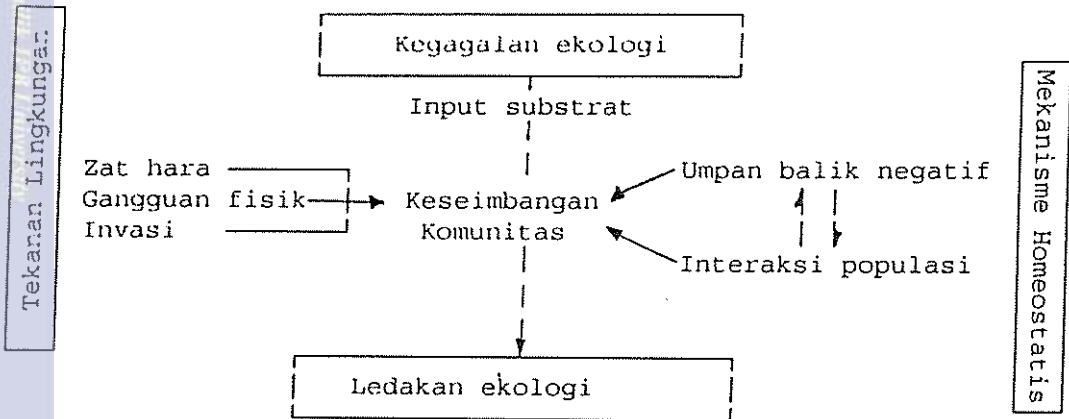
1. Susunan yang didasarkan pada penyediaan hara khusus antar anggota komunitas yang berbeda.
2. Susunan yang didasarkan pada penghilangan produk metabolisme yang menghambat produksi dari anggota komunitas, termasuk hidrogen dalam komunitas.
3. Susunan dan stabilitas yang didasarkan pada interaksi yang mungkin berakibat pada perubahan parameter pertumbuhan individu dan berakibat pada kenaikan kompetisi atau komunitas yang efisien.
4. Susunan yang didasarkan pada efek dari keharmonisan, kemampuan penggabungan metabolik, yang tidak dapat dilakukan oleh anggota komunitas secara individual.
5. Susunan yang didasarkan pada tingkat kometabolik.
6. Susunan yang didasarkan pada perpindahan ion hidrogen.
7. Susunan yang merupakan akibat adanya lebih dari satu pengguna substrat primer.

^aSlater (1981)

Unsur yang penting pada sistem homeostatik adalah umpan balik negatif, yaitu pengaruh lingkungan yang mengakibatkan perubahan pada satu populasi atau lebih yang berakibat pada populasi yang lain, sedemikian rupa

sehingga fluktuasi biologi awal dilawan, dikurangi atau dinetralkan (Bull dan Slater, 1982).

Konsep dasar stabilitas komunitas terlihat dalam Gambar 2.



Gambar 2. Konsep dasar keseimbangan komunitas (Marsh, 1980)

Komunitas mikrobial dengan kombinasi sifat fisiologinya, interaksi-interaksi didalamnya dan aktivitas enzimatisnya, berperan pada kebanyakan proses biokimiawi dan perubahan hara yang terjadi dalam substrat pada fermentasi pangan beralkohol (Steinkraus *di dalam* Slater, 1982)

Penggunaan media yang berisi faktor tumbuh yang berbeda dan substrat yang cocok yang dipasok dari anggota komunitas yang lain dapat digunakan untuk memudahkan purifikasi dari isolat yang sulit. Selain juga dapat menyediakan informasi yang berguna untuk

menentukan mekanisme yang terjadi didalamnya (Parkes di dalam Slater, 1982).

Kerja sama antar anggota komunitas lebih baik dipelajari pada biakan cair. Pertumbuhan curah isolat dan campuran isolat dengan metabolitnya yang mungkin tidak tampak pada komunitas yang lengkap (terjadi karena penggunaan yang cepat dari anggota yang lain), dapat diidentifikasi. Pengaruh penghambatan yang terjadi karena metabolit pada anggota komunitas juga dapat dilihat. Sistem curah mempunyai keuntungan yaitu metabolit yang diproduksi pada konsentrasi rendah dapat terakumulasi dalam biakan sehingga dapat diidentifikasi (Parkes di dalam Bull dan Slater, 1982).

Biakan campuran yang digunakan dalam industri dipilah dalam tiga golongan, berdasarkan keaslian dan fungsinya.

1. Biakan campuran yang tersusun atas dua atau lebih spesies mikroba yang diketahui fungsi metaboliknya, sehingga kombinasinya membentuk kemampuan yang tidak dapat dilakukan oleh spesies tunggal. Produksi etanol dan Protein Sel Tunggal (PST) dari pati dan bahan selulosik, produksi PST dari gas alam dan transformasi banyak tahap dari steroid, merupakan contoh dari jenis biakan campuran ini.
2. Biakan campuran yang berasal dari isolat yang diisolasi dengan cara penyuburan tunggal dan fungsi

dari semua organisme penyusunnya tidak penting. Dengan demikian pemilihan proses menggunakan spesies tunggal masih dapat dioperasikan dengan aman. Contoh biakan campuran ini dipergunakan untuk produksi PST dari metana dan methanol.

3. Biakan campuran yang diseleksi secara *in situ* selama operasi pada berbagai sistem penanganan limbah dengan spesies mikroba memainkan peranan yang penting dalam pengubahan substrat berkarbon banyak yang ada dalam buangan (Linton dan Drozd *di dalam* Bull dan Slater, 1982).

Pemeliharaan kehidupan bersama (*coexistence*) dari biakan campuran atau kelangsungan hidup dari spesies yang lemah dapat dilakukan dengan memanipulasi waktu proses sehingga dihasilkan kondisi yang diinginkan. Peubah lain yang dapat dimanipulasi adalah suhu, pH, laju dilusi dan konsentrasi substrat umpan (Stephen dan Lyberatos, 1986).

Pada sistem tertutup yaitu sistem tidak mengalami pemasokan substrat dan pengambilan metabolit atau sel, pengendalian proses dilakukan dengan merancang kondisi pertumbuhan dan pemilihan media yang diperkaya dengan zat gizi untuk spesies yang berbeda. Konsentrasi awal dari hara pembatas perlu ditingkatkan jika pemeliharaan biakan berlangsung lama (Parkes *di dalam* Bushell dan Slater, 1982).

Kondisi optimum pertumbuhan biakan campuran sangat susah untuk diperkirakan karena dua jenis mikroba yang digunakan dalam biakan campuran tidak selalu mempunyai kondisi optimum yang sama, misalnya pH, suhu, nutrien dan kebutuhan oksigen (Kurosawa et al., 1988).

Penerapan biakan campuran telah banyak diteliti. Shin et al., (1989) dalam percobaan menggunakan biakan campuran *K. fragilis* dan *A. pullulans*, melakukan penundaan inokulasi *K. fragilis* untuk menaikkan populasi *A. pullulans*. Peningkatan populasi *A. pullulans* diperlukan agar biakan menjadi stabil karena laju pertumbuhan *A. pullulans* lebih kecil dibandingkan laju pertumbuhan *K. fragilis*.

Megee (1972), menumbuhkan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus casei* bersama-sama dalam satu biakan. *S. cerevisiae* menghasilkan riboflavin yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan *Lactobacillus*. Sumber karbon pembatas dalam sistem adalah glukosa. Penambahan riboflavin secara berlebih pada biakan menyebabkan terjadinya persaingan antar kedua jenis mikroba tersebut, dan hanya bakteri yang bertahan hidup karena bakteri tumbuh lebih cepat daripada khamir. Efek penghambatan tersebut menyebabkan sistem menjadi tidak stabil. Pembatasan riboflavin dalam umpan menyebabkan terjadinya hubungan mutualisma (saling menguntungkan) yaitu riboflavin yang diproduksi oleh khamir digunakan bersama

dengan riboflavin yang dipasok dari umpan. Densitas bakteri yang relatif tinggi menghasilkan asam laktat yang menyebabkan penurunan pH medium cukup untuk menaikkan pertumbuhan khamir. Ketika riboflavin sama sekali tidak dipasok ke media, terjadi hubungan komensalisme, dimana riboflavin yang dihasilkan oleh khamir merupakan satu-satunya sumber, cukup efektif untuk membatasi populasi bakteri dan produksi asam laktat.

Pickaver (1976) menunjukkan kombinasi metabolisme beberapa organisme yang mungkin berpengaruh dalam pembentukan produk yang dapat diakumulasi. Perubahan dari *arginin* menjadi *putresin* digunakan biakan campuran antara *Streptococcus faecalis* dengan *Eschericia coli*. Somerville (1981) menggunakan *Nicordia* dan *Bacillus* sebagai biakan campuran dalam penanganan limbah.

G. PRODUKSI XANTAN

1. Biosintesis Xantan

Menurut Sutherland (1977), biosintesis polisakarida ekstraselular secara umum terjadi menurut tahapan sebagai berikut :

- a. Pemasukan substrat (molekul glukosa) ke dalam sel mikroba. Pada tahap ini akan terjadi fosforilasi.
- b. Modifikasi substrat oleh serangkaian enzim. Substrat yang masuk digunakan untuk katabolisma

dan juga untuk sintesis polisakarida. Satuan monosakarida yang telah teraktifkan akan bergabung membentuk polisakarida dengan urutan stereokimiawi yang sesuai dengan melewati pembawa senyawa isoprenoid alkohol fosfat dan senyawa isoprenoid lipid.

- c. Penggabungan gugus asetil dan ketal ke dalam struktur polisakarida. Polimer yang telah terbentuk akan dikeluarkan dari tubuh sel mikroba lewat permukaan tubuhnya.

2. Media

Media sederhana untuk produksi xantan terdiri dari D-glukosa, amonium klorida, bufer fosfat dan magnesium merupakan syarat minimum untuk pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri akan lebih baik jika ditambahkan 0,5 persen hidrolisis kasein atau campuran asam amino (Neely dan Kang, 1973).

Konsentrasi glukosa awal sangat penting dalam produksi xantan. Media yang mengandung 4 persen sukrosa atau glukosa adalah optimum untuk produksi xantan (Souw dan Demain, 1979).

3. Kondisi Proses

Fermentasi xantan berlangsung dalam kisaran pH 6,0 - 7,5 pada suhu 28°C. Nilai pH kritis untuk

produksi xantan adalah 5,0 karena di bawah pH 5,0 produksi dapat menurun atau bahkan terhenti sama sekali (Pettit, 1982).

Aerasi dan agitasi diperlukan selama proses fermentasi. Dalam fermentasi aerobik harus dipasok oksigen tambahan dengan aerasi. Kelarutan oksigen lebih sulit daripada kelarutan glukosa maka selama fermentasi kebutuhan oksigen harus ditambah dengan aerasi (Kennedy dan Bradshaw, 1984).

Mangunwidjaja et al. (1989, 1990) dalam penelitiannya dengan menggunakan substrat hidrolisat pati ubi jalar, memperoleh hasil optimum xantan berdasarkan susunan media, tingkat aerasi dan agitasi, selama fermentasi. Dengan substrat berkadar glukosa ekuivalen sebesar 4 persen dan sumber nitrogen (NH_4Cl) 0,048 persen, dengan kondisi aerasi 1,5 vvm serta agitasi 600 rpm, selama 96 jam diproduksi xantan dengan konsentrasi 27,0 g/l media atau tingkat produktivitas 10,2 g/l.hari. Bila dinilai konversi xantan-gula, pada kondisi tersebut dicapai nilai rendemen sebesar 71,0 persen.

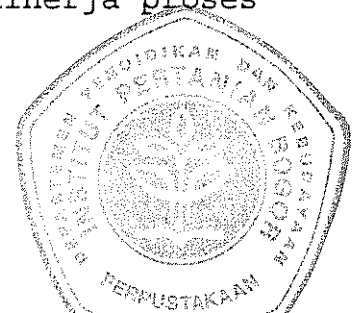
Pemanenan xantan dimulai dengan pasteurisasi cairan fermentasi yang bertujuan untuk membunuh sel bakteri dan kemudian dilakukan dengan pengendapan menggunakan isopropil alkohol. Xantan yang

diperoleh dikeringkan dan digiling serta dikemas (Pettit, 1982).

H. KONSEP BIAKAN CAMPURAN (MIXED CULTURE) *B. subtilis* DAN *X. campestris*

Biakan campuran *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* bukan biakan campuran alami, tetapi dilakukan dengan sengaja dengan cara mencampurkan biakan tunggal mikroba penyusunnya. Pencampuran ini didasarkan pada kemampuan masing-masing mikroba mengubah substrat menjadi produk sehingga secara keseluruhan menghasilkan kemampuan untuk mengubah langsung pati menjadi xantan, tanpa proses hidrolisis secara terpisah.

Pengubahan pati menjadi xantan secara garis besar terjadi melalui dua tahapan. Tahap pertama merupakan hidrolisis pati menjadi glukosa, dilanjutkan tahap kedua yaitu perubahan glukosa menjadi xantan. Kedua tahap konversi tersebut digabungkan dan diharapkan berlangsung secara simultan, dalam satu tahapan bersamaan. Penggabungan ini bertujuan untuk menyingkat waktu proses, dan peralatan dan diharapkan terjadi hubungan timbal balik yang saling menguntungkan (mutualisme) antara dua mikroba tersebut. Menurut Slater (1981) hubungan mutualisme ini dapat meningkatkan kinerja proses dan menyebabkan kestabilan sistem.



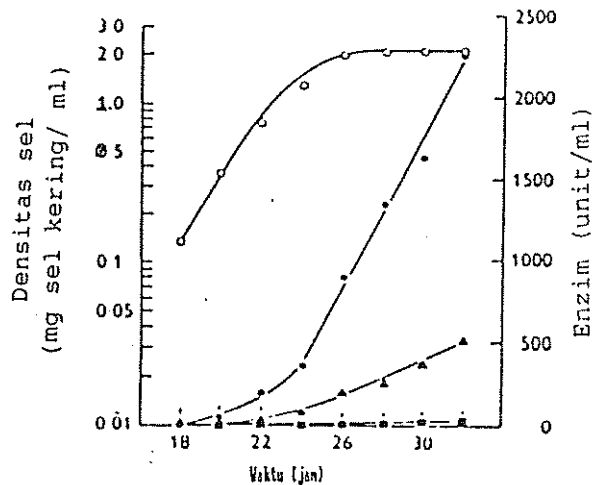
Produksi xantan dilakukan dengan menggunakan biakan tunggal *Xanthomonas campestris*. Oleh karena itu *Xanthomonas campestris* digunakan sebagai mikroba pengubah glukosa menjadi xantan dalam biakan campuran. Media yang digunakan adalah media menurut susunan Sow dan Demain (1979). Media ini dipakai sebagai media untuk fermentasi xantan menggunakan biakan campuran, dengan menggantikan glukosa oleh pati sebagai sumber karbon.

Pengubahan pati menjadi glukosa memerlukan mikroba yang mampu menghasilkan enzim α -amilase, karena enzim ini mampu memotong ikatan (1,4)- α -glikosidik pada rantai lurus amilosa dan amilopektin, menghasilkan D-glukosa dan dextrin (Thenawidjaja, 1988). Enzim α -amilase tidak dapat memutus ikatan cabang (1,6) α -glikosidik pada amilopektin. Enzim ini hanya dapat diputus oleh enzim α -glukosidase. Mikroba yang mampu menghasilkan kedua enzim sekaligus merupakan mikroba yang sangat ideal digunakan sebagai penghidrolisis pati. Mikroba yang diketahui menghasilkan kedua enzim tersebut adalah *Aspergillus niger* dan *Aspergillus awamori*. Mikroba yang menghasilkan enzim α adalah *B. subtilis*, *B. thermophilus* dan *B. licheniformis*.

Terjadinya kehidupan bersama (coexistence) seperti yang dipertelakan oleh Slater (1981) dipengaruhi oleh banyak faktor. Faktor-faktor lain yang berpengaruh

adalah kondisi hidup (pH, suhu, nutrien) dan metabolit yang dihasilkan mikroba itu sendiri. Dengan demikian produksi α -amilase dan α -glukosidase bukan satu-satunya pertimbangan untuk memilih mikroba penghidrolisis pati, sebagai pasangan *X. campestris*.

Bacillus subtilis mampu menghasilkan enzim α -amilase ekstraselular (Coleman, 1967). Kemampuan *B. subtilis* dalam menghasilkan enzim terlihat dalam Gambar 3.



Gambar 3. Pertumbuhan *B. subtilis* (o), sekresi enzim proteinase (o), α -amilase (\blacktriangle) dan ribonuklease (\blacksquare). (Coleman, 1967).

Enzim α -amilase ini berperan sebagai penghidrolisis pati. Produksi enzim secara ekstraselular ini sangat menguntungkan karena dengan demikian proses hidrolisis terjadi diluar sel. Proses hidrolisis diluar sel dapat mengurangi hambatan perpindahan massa

karena substrat tidak perlu melewati dinding sel. Selain itu, produk hidrolisis (glukosa) lebih mudah dikonsumsi karena berada diluar sel.

B. subtilis tumbuh dengan baik pada media yang dipertelakan oleh Coleman (1961). Komposisi media tersebut tidak berbeda jauh dengan komposisi media Souw dan Demain (1974). Dengan demikian diharapkan *B. subtilis* mampu tumbuh dengan baik dalam media Souw dan Demain (1974) pada fermentasi biakan campuran. Kehadiran NH_4Cl dalam media Souw dan Demain diharapkan dapat merangsang produksi α -amilase *B. subtilis* karena ion NH_4^+ merupakan perangsang enzim tersebut (Coleman dan Elliot, 1961)

B. subtilis tumbuh pada pH optimum 7.2 (Coleman dan Elliot, 1961). Hal ini memudahkan pencampuran karena *X. campestris* tumbuh pada kisaran pH 6 - 8 (Souw dan Demain, 1974). Selain pH, *B. subtilis* juga mempunyai kesesuaian suhu yaitu sekitar 28°C (Coleman dan Elliot, 1961). Berdasarkan hal ini maka *B. subtilis* dipakai sebagai bakteri penghidrolisis pati dan pasangan *X. campestris* dalam biakan campuran.

III. BAHAN DAN METODA

A. BAHAN DAN ALAT

1. Bahan

Bahan baku yang digunakan adalah pati ubi jalar yang diekstrak dengan metoda Susanto (1983). Bahan kimia yang digunakan meliputi bahan kimia untuk analisis bahan baku, bahan kimia untuk hara dalam fermentasi dan analisis produk, dan bahan-bahan pembantu. Bahan-bahan kimia tersebut disajikan dalam Lampiran 1. Bahan kimia yang dipakai berasal dari laboratorium yang berada di jurusan Teknologi Industri Pertanian, laboratorium Bioindustri, PAU Bioteknologi IPB dan toko kimia Setia Guna, Bogor.

Mikroba yang digunakan adalah *Xanthomonas campestris* berupa biakan dalam ampul kering beku yang diperoleh dari BALIVET, Bogor, dan biakan *Bacillus subtilis* dalam media agar yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi, Puslitbang Biologi LIPI, Bogor.

2. Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media untuk pemeliharaan mikroba, inokulum dan media untuk fermentasi. Selengkapnya disajikan dalam berikut ini.

Tabel 4. Komposisi media YMA dan YMB^{a)}

Komponen	Konsentrasi	
	YMA(%)	YMB(%)
Ekstrak malt	0,3	0,3
Ekstrak khamir	0,3	0,3
Pepton	0,5	0,5
Glukosa	1,0	1,0
Agar	2,0	-

a) Jeanes et al. (1976)

Catatan : - YMA (Yeast Maltose Agar) merupakan media untuk pemeliharaan *Xanthomonas campestris* dalam agar miring.
 - YMB (Yeast Maltose Broth) merupakan media untuk propagasi *Xanthomonas campestris*.

Tabel 5. Komposisi media propagasi *Bacillus subtilis*

Komponen	Konsentrasi
(NH ₄) ₂ PO ₂	0,15 M
KCl	0,02 M
CaCl ₂	2,00 mM
MgSO ₄	2,00 mM
ZnSO ₄	0,40 mM
Sodium sitrat	0,004 M
Pati terlarut	1,00 %

Tabel 6. Komposisi media pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan biakan campuran.

Komponen	Konsentrasi
(NH ₄)Cl	0,48 g/l
KH ₂ PO ₄	5,0 g/l
Asam sitrat	2,0 g/l
MgSO ₄	0,2 g/l
CaCO ₃	0,02 g/l
ZnSO ₄	0,02 g/l
Pati	4 b)
	2, 4, 6, 8% ^{c)}

b) Penelitian utama

c) Penelitian pendahuluan

3. Alat

Peralatan yang digunakan meliputi peralatan untuk analisis bahan baku, fermentasi, ekstraksi pati dan analisis produk, yang selengkapnya tersaji dalam Lampiran 1.

B. WAKTU DAN TEMPAT

Penelitian ini dilaksanakan selama 8 bulan mulai November 1992 sampai Juni 1993. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioindustri, PAU Bioteknologi, IPB.

C. TATA LAKSANA

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dibagi menjadi tiga tahapan. Tahap pertama dilakukan pengujian kesesuaian untuk menguji kompatibilitas antara *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris*. Tahap kedua dilakukan fermentasi glukosa menggunakan biakan *Bacillus subtilis* dengan substrat pati ubi jalar pada berbagai tingkat konsentrasi. Tujuannya adalah untuk mengetahui fasa-fasa pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan kinerja hidrolisis pati dalam formula media menurut Souw dan Demain (1979) serta untuk menentukan konsentrasi pati yang memberikan kinerja optimum. Tahap ketiga adalah fermentasi xantan dengan biakan campuran *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris*

dengan perbandingan jumlah inokulum yang berbeda-beda. Tujuannya adalah untuk mengetahui perbandingan inokulum yang tepat antara biakan *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris*.

Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui kinerja biakan campuran *B. subtilis* dan *X. campestris* dalam memproduksi xantan dengan substrat pati pada berbagai waktu pencampuran. Fermentasi dilakukan di dalam labu erlenmeyer 250 ml dengan volume kerja 50 ml. Biakan diinkubasikan di dalam inkubator goyang pada suhu 28°C dan putaran 200 rpm.

D. METODE PENELITIAN

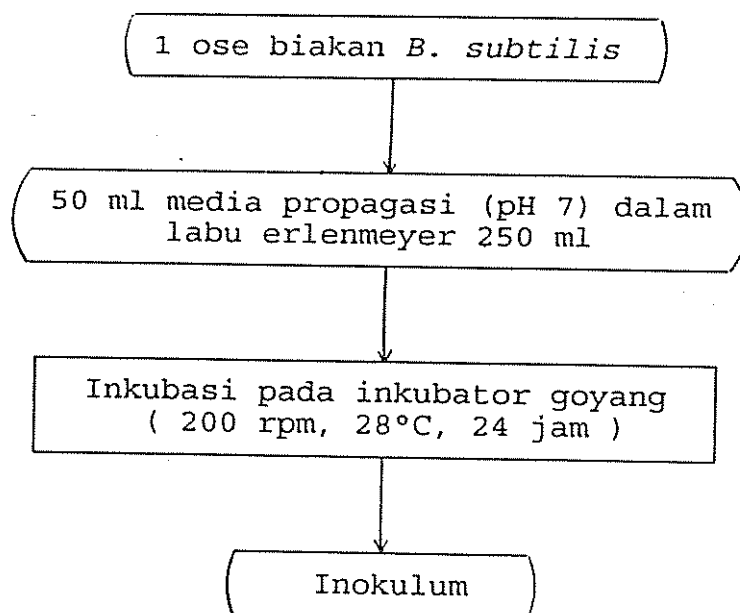
1. Penyiapan Pati Ubi Jalar (Soesanto, 1983)

Umbi ubi jalar yang sudah tua (3 bulan) dikupas untuk menghilangkan kulit luarnya. Kemudian dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran yang masih melekat. Umbi yang sudah bersih diparut dan direndam dalam air dengan perbandingan 1 : 10 serta di-remas-remas. Selanjutnya disaring dengan saringan kain. Ampas yang tertinggal di saringan dibuang dan cairan diendapkan selama 24 jam. Cairan diatas endapan pati dibuang dan endapan pati dibilas dengan air untuk membersihkan kotoran yang masih ada. Endapan pati selanjutnya dikeringkan dengan udara luar selama 24 jam, kemudian dikeringkan dengan oven pada

suhu 55°C selama 24 jam. Pati kering yang didapat berkadar air 6 persen. Sebelum digunakan untuk penelitian pati kering dipanaskan lagi dengan oven pada suhu 55°C sampai beratnya konstan.

2. Penyiapan Inokulum *Bacillus subtilis*

Biakan *Bacillus subtilis* dalam agar miring diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam 50 ml media propagasi. Sebelum digunakan, media propagasi disterilisasi dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Biakan diinkubasi dalam wadah erlenmeyer 250 ml dan diletakkan pada inkubator goyang dengan suhu 30°C dan putaran 200 rpm, selama 24 jam (Coleman dan Elliot, 1962).



Gambar 4. Diagram alir penyiapan inokulum *Bacillus subtilis*

Pengaturan pH medium dilakukan dengan larutan NaOH dan HCl encer. Penyegaran biakan *Bacillus subtilis* dalam agar miring dilakukan setiap dua bulan sekali. Diagram alir pembuatan inokulum *Bacillus subtilis* disajikan dalam Gambar 4.

3. Penyiapan Inokulum *Xanthomonas campestris*

Biakan *Xanthomonas campestris* dalam ampul kering beku dikerat melingkar pada bagian tengah kapas penyekat setelah dioles alkohol, kemudian dibungkus dengan kertas steril dan dipatahkan secara hati-hati dalam *clean bench*. Air steril sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam ampul dan dikocok sampai homogen. Biakan diinokulasikan pada tabung reaksi yang berisi 7 ml media YMB (*Yeast Malt Broth*), kemudian diinkubasi pada inkubator goyang selama 24 jam pada suhu 28°C dalam posisi miring 45° (Kidby et al., 1976).

Penyegaran biakan dilakukan pada agar miring yang berisi media YMA dan diinkubasikan pada suhu 25-28°C selama 24 jam. Selanjutnya biakan ini disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 - 6°C, penyegaran dilakukan setiap 14 hari. Biakan segar pada agar miring diinokulasikan pada cawan petri yang berisi media YMA dengan menggunakan ose dan diinkubasikan pada suhu 28°C selama 24 jam. Kemudian biakan diinokulasikan pada tabung reaksi yang berisi

10 ml media YMB dan diinkubasikan pada inkubator goyang pada putaran 100 rpm selama 24 jam. Biakan ini dipindahkan ke dalam cairan 150 ml media propagasi dan diinkubasikan pada inkubator goyang dengan putaran 150 rpm selama 24 jam pada suhu 28°C. Selanjutnya biakan siap dipakai sebagai inokulum.

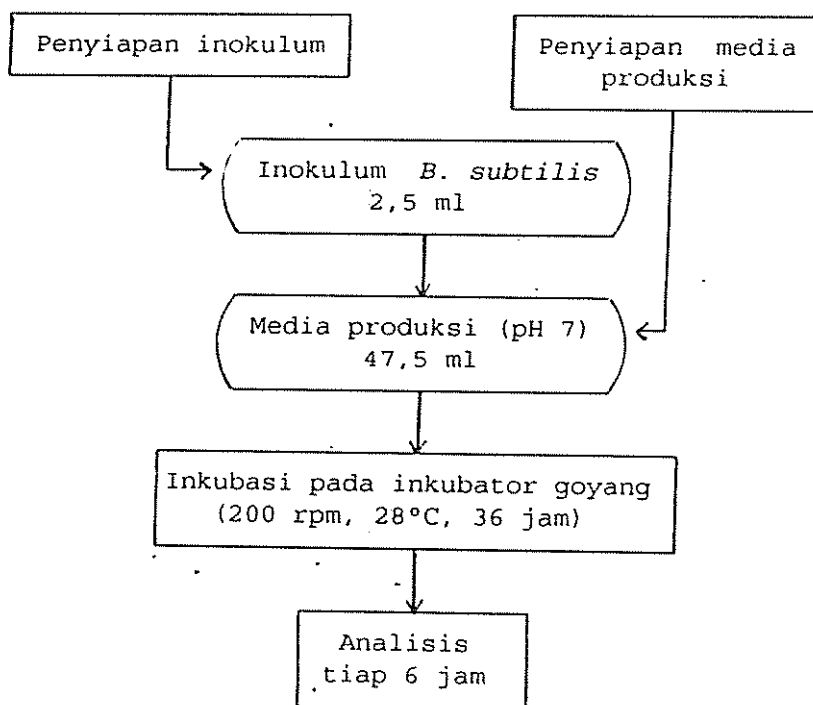
4. Penelitian Pendahuluan

a. Pengujian Kesesuaian

Pengujian kesesuaian dilakukan untuk mengetahui kompatibilitas antara *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris*. Pengujian ini dilakukan dengan cara pengolesan kedua biakan ke dalam cawan yang berisi media YMA. Sebanyak 1 ose biakan *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* dioleskan secara sejajar dalam cawan agar. Biakan kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 - 48 jam dan diamati daerah penghambatan yang terjadi disekitar olesan kedua mikroba tersebut. Apabila tidak terbentuk daerah penghambatan diantara kedua olesan mikroba tersebut menunjukkan bahwa kedua mikroba tidak menghasilkan metabolit atau toksin pada tingkat yang menghambat pertumbuhan mikroba.

b. Fermentasi Glukosa dengan Substrat Pati Pada Berbagai Konsentrasi

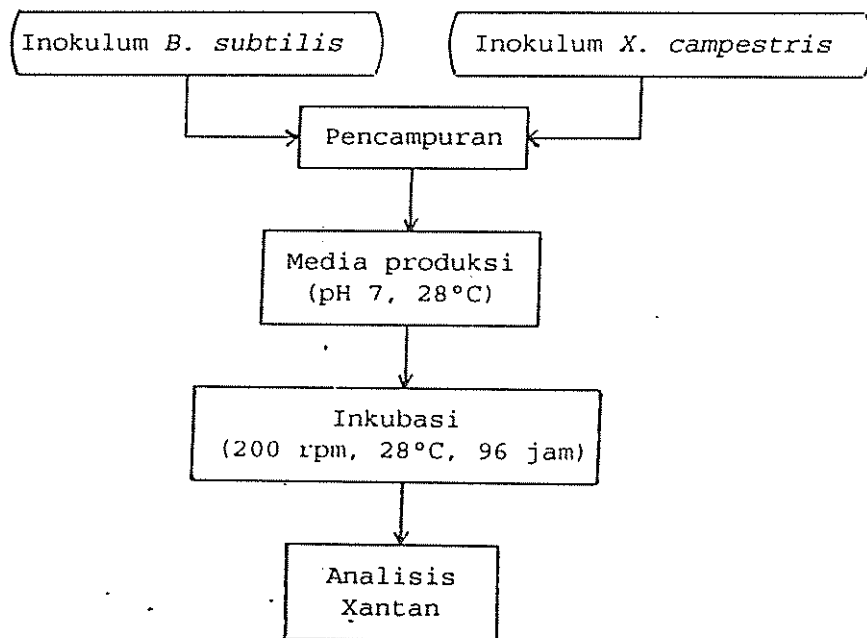
Sebanyak 2,5 ml inokulum *Bacillus subtilis* ditumbuhkan pada 47,5 ml media produksi dalam erlenmeyer 250 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 36 jam. Contoh diambil setiap 6 jam sekali untuk mengamati pertumbuhan mikroba, produk, pH dan substrat sisa. Diagram alir penelitian pendahuluan ini secara lengkap disajikan dalam Gambar 5.



Gambar 5. Diagram alir penelitian pendahuluan

c. Fermentasi Xantan Menggunakan Biakan Campuran dengan Perbandingan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda-beda

Fermentasi ini dilakukan pada labu erlenmeyer dengan volume kerja 50 ml. Perbandingan inokulum *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* yang dilakukan adalah 1 : 1, 1 : 2 dan 2 : 1. Diagram alir dari fermentasi ini disajikan dalam Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir fermentasi xantan (modifikasi Souw dan Demain, 1979).

Substrat yang digunakan adalah pati dengan konsentrasi 4 dan 6 persen yang merupakan konsentrasi optimum pada fermentasi glukosa oleh

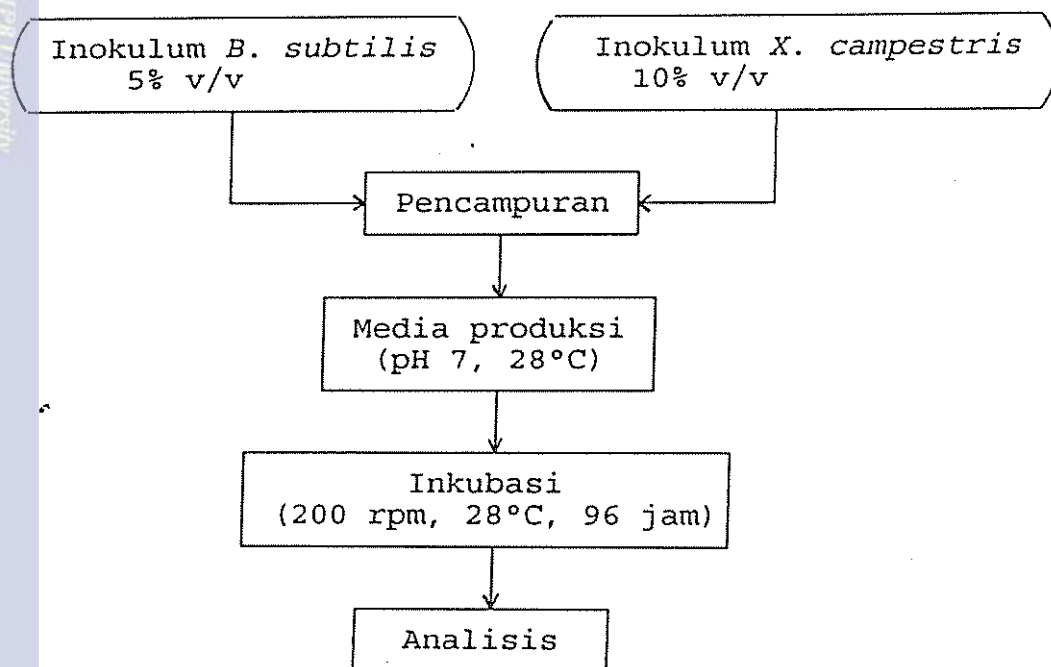
Bacillus subtilis. Komposisi media yang digunakan adalah media yang dipertelakan oleh Souw dan Demain (1979) dengan penggantian glukosa dengan pati.

5. Penelitian Utama

Pada penelitian utama dilakukan fermentasi xantan dengan substrat pati ubi jalar menggunakan campuran *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris*. Dalam penelitian ini dilakukan pencampuran *Bacillus subtilis* dengan *Xanthomonas campestris* dalam waktu yang berbeda-beda. Waktu pencampuran disesuaikan dengan fasa pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Fasa pertumbuhan *Bacillus subtilis* didapat dari penelitian pendahuluan. Perbandingan jumlah inokulum *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* terbaik yang didapat dari penelitian pendahuluan adalah 1 : 2. Fermentasi biakan campuran ini dilakukan dengan media dan kondisi fermentasi yang dipertelakan oleh Souw dan Demain (1979).

Fermentasi dilakukan secara curah dalam erlenmeyer 250 ml dengan volume kerja 50 ml. Pengambilan contoh dilakukan tiap 8 jam untuk mengetahui pH, kadar gula, biomassa, kadar pati sisa dan jumlah xantan. Untuk pengukuran kadar pati sisa, biomassa dan xantan, sampel dihidrolisis dahulu dengan hidrolisis

enzimatik menggunakan enzim α -amilase (Thermamyl 120 L) dan Amiloglukosidase (AMG). Tata cara hidrolisis selengkapnya tersaji dalam Lampiran 3. Diagram alir penelitian utama selengkapnya disajikan dalam Gambar 7.



Gambar 7. Diagram alir penelitian utama (modifikasi Souw dan Demain, 1979).

E. ANALISIS CONTOH

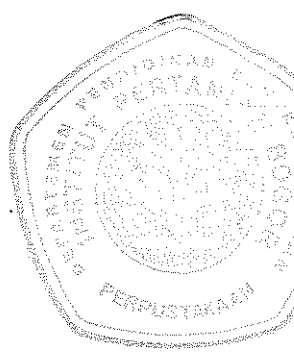
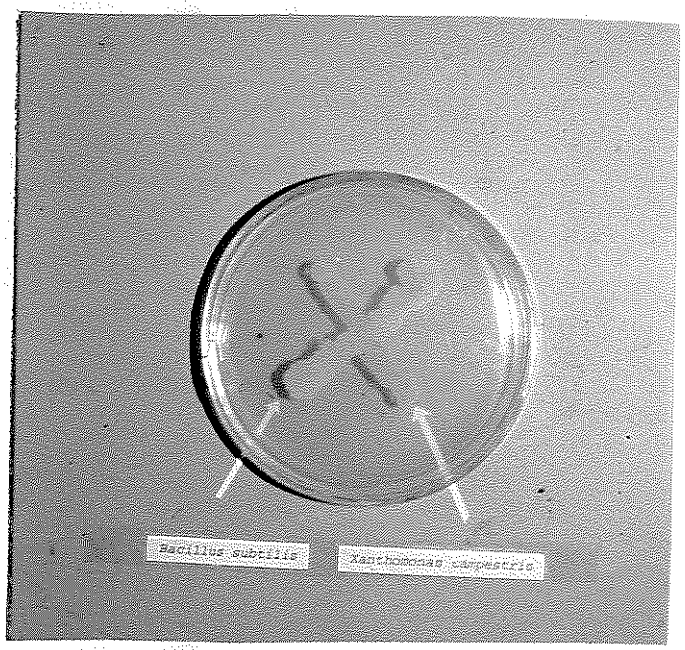
Analisis contoh dilakukan pada cairan fermentasi yaitu kadar gula, xantan, biomassa, kadar pati dan pH. Tata cara analisis disajikan dalam Lampiran 3.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. UJI KESESUAIAN

Keberhasilan fermentasi dengan biakan campuran sangat ditentukan oleh kemampuan hidup bersama (co-existence) dari mikroba yang menyusun biakan campuran tersebut. Adanya zat-zat penghambat yang dikenal sebagai *killer factor* harus dihindari.

Pada umumnya bakteri dari genus *Bacillus* sp. menghasilkan antibiotika yang kemungkinan dapat membunuh bakteri lain. Untuk mengetahui kesesuaian (compatibility) antara *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* dilakukan uji kesesuaian (kompabilitas). Hasil uji kesesuaian disajikan dalam Gambar 8.



Gambar 8. Penampakan koloni *B. subtilis* dan *X. campestris* pada uji kesesuaian.

Dari hasil uji kesesuaian kedua biakan tersebut pada cawan agar, terlihat bahwa kedua mikroba tersebut tidak menunjukkan adanya daerah penghambatan (inhibition zone) yang ditandai oleh berhimpitnya kedua mikroba tersebut. Hal ini berarti bahwa kedua mikroba tidak menghasilkan metabolit atau toxin pada tingkat yang menghambat pertumbuhan mikroba satu sama lain (Freer dan Wing, 1984).

B. PERBANDINGAN KONSENTRASI INOKULUM

Keberhasilan kehidupan bersama (coexistence) dalam suatu biakan campuran selain ditentukan oleh adanya kerja sama antar anggota biakan, juga ditentukan oleh komposisi anggota biakan tersebut. Komposisi anggota biakan sangat menentukan stabilitas sistem biakan campuran. Hal ini disebabkan karena komposisi anggota biakan campuran sangat menentukan tingkat kerja sama dan persaingan yang terjadi. Hanya pada komposisi tertentu saja, biakan campuran dapat stabil.

Komposisi biakan campuran dapat dikontrol dengan pengaturan laju pertumbuhan masing-masing anggota biakan, yang dilakukan dengan cara mengatur kondisi lingkungan dan pengaturan faktor pertumbuhan (growth factor). Tetapi cara-cara tersebut relatif sulit untuk dilaksanakan. Salah satu cara termudah adalah

dengan pengaturan konsentrasi inokulum pada saat dilakukan koinokulasi.

Tabel 7 menyajikan hasil percobaan pencampuran dengan perbedaan perbandingan inokulum. Dari hasil percobaan terlihat bahwa hanya pada perbandingan 2 : 1 antara *Xanthomonas campestris* dan *Bacillus subtilis*, biakan campuran dapat hidup dan memberikan hasil xantan. Dengan perbandingan inokulum tersebut, jumlah xantan yang dihasilkan pada konsentrasi substrat pati 4 persen lebih tinggi dibanding pada konsentrasi substrat pati 6 persen. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa dengan perbandingan inokulum 2 : 1 (*X. campestris* : *B. subtilis*) dan konsentrasi pati 4 persen memberikan hasil yang terbaik.

Tabel 7. Hasil uji coba biakan campuran dengan beberapa perbandingan jumlah inokulum pada kisaran konsentrasi pati optimum (4 - 6%).

Perbandingan inokulum*		Jumlah xantan yang dihasilkan	
<i>X. campestris</i>	<i>B. subtilis</i>	Konst.pati 4%	Konst pati 6%
1	2	-**	-
1	1	-	-
2	1	20,0 g/l	7,0 g/l

* Satu bagian inokulum sama dengan 5 persen (v/v).
 ** Tidak terbentuk xantan.

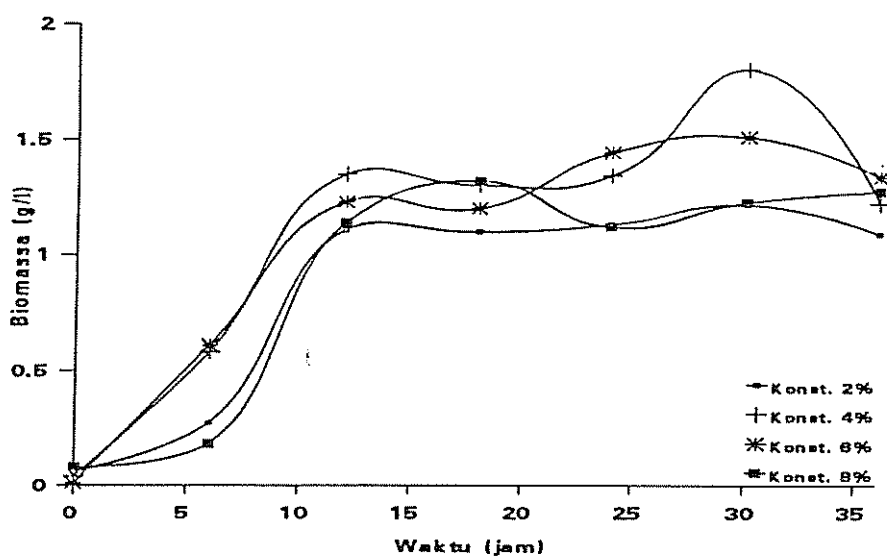
C. HIDROLISIS PATI OLEH *Bacillus subtilis* DENGAN FERMENTASI CURAH

Fermentasi curah untuk hidrolisis pati dengan biakan *Bacillus subtilis* dilakukan untuk mengetahui laju dan fasa pertumbuhan *Bacillus subtilis* yang akan digunakan untuk menentukan waktu pencampuran dengan biakan *Xanthomonas campestris* pada fermentasi biakan campuran (penelitian utama). Media fermentasi yang digunakan adalah media Souw dan Demain (1979), dengan glukosa diganti pati sebagai sumber karbon. Penggunaan media Souw dan Demain adalah untuk mengetahui kinerja *Bacillus subtilis* pada media ini, yang sebenarnya digunakan untuk pertumbuhan *Xanthomonas campestris*. Kinerja *Bacillus subtilis* pada media ini digunakan sebagai penduga dan pembanding terhadap kinerja *Bacillus subtilis* dalam fermentasi biakan campuran, karena dalam biakan campuran digunakan media yang sama.

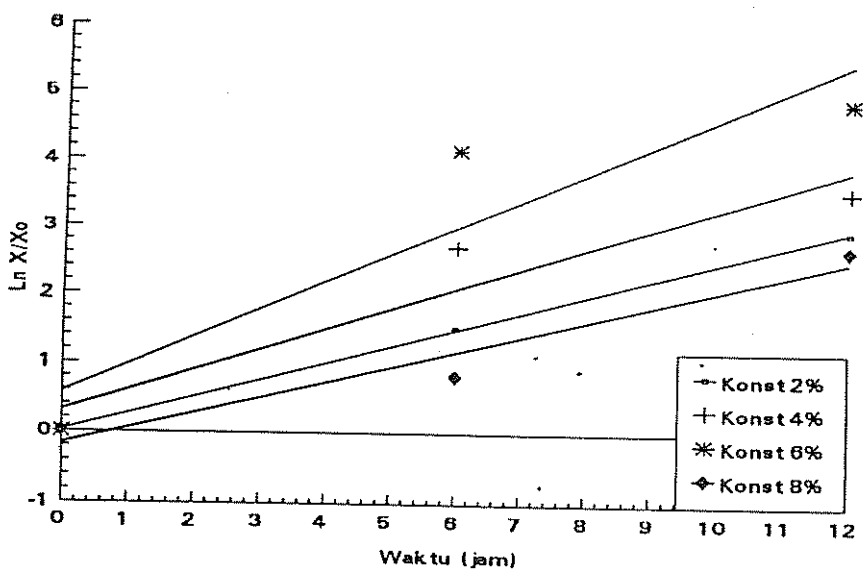
1. Pertumbuhan Biomassa

Gambar 9 menunjukkan kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada berbagai tingkat konsentrasi pati. Fasa lag yang merupakan fase adaptasi tidak terlihat karena waktunya terlalu singkat dibanding waktu pengambilan contoh. Fase logaritmik pertumbuhan *Bacillus subtilis*, pada semua tingkat

konsentrasi pati, terjadi sampai jam ke-12 (terlihat pada gambar 10).



Gambar 9. Kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada beberapa konsentrasi pati



Gambar 10. Grafik ln biomassa lawan waktu (t)

Laju pertumbuhan spesifik *Bacillus subtilis* pada fasa eksponensial, dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$X_t = X_0 \cdot e^{\mu t}$$

Pengaturan kembali persamaan tersebut menghasilkan

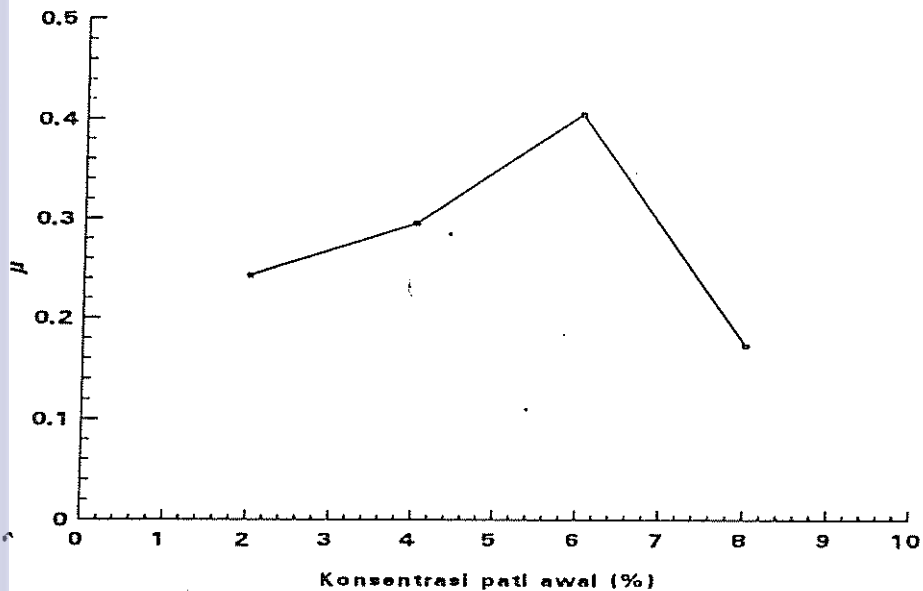
$$\ln \frac{X_t}{X_0} = \mu \cdot t$$

Nilai μ sebagai kemiringan garis diperoleh dengan menghubungkan waktu (t) dengan $\ln \frac{X_t}{X_0}$.

Laju pertumbuhan spesifik maksimum *Bacillus subtilis* pada konsentrasi pati 2, 4, 6, dan 8 persen masing-masing adalah $0,24 \text{ jam}^{-1}$, $0,29 \text{ jam}^{-1}$, $0,40 \text{ jam}^{-1}$ dan $0,17 \text{ jam}^{-1}$. Laju pertumbuhan spesifik meningkat dengan semakin tinggi tingkat konsentrasi pati awal. Laju pertumbuhan spesifik mencapai maksimum pada konsentrasi pati awal 6 persen dan menurun pada konsentrasi 8 persen. Hal ini berarti pada konsentrasi pati 8 persen telah terjadi kejenuhan substrat. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap nilai laju pertumbuhan spesifik dapat dilihat pada Gambar 11.

Penurunan laju pertumbuhan spesifik konsentrasi 8 persen kemungkinan karena terjadi penghambatan substrat. Kemungkinan lain adalah karena viskositas biakan yang tinggi sehingga menurunkan

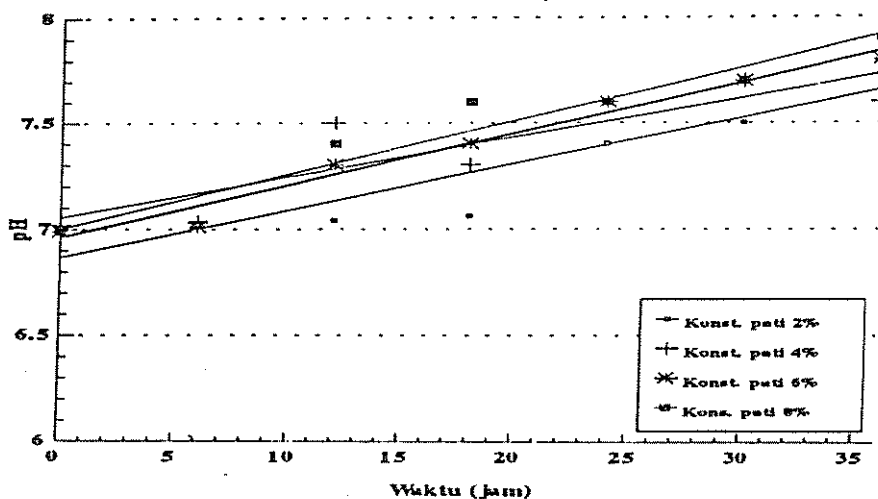
efektifitas pengadukan sehingga berpengaruh terhadap perpindahan oksigen dan massa dari biakan ke sel.



Gambar 11. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju pertumbuhan spesifik *Bacillus subtilis*

Sebaliknya, pada konsentrasi pati 2 persen sampai 6 persen, kenaikan konsentrasi pati menyebabkan kenaikan laju pertumbuhan spesifik. Hal ini disebabkan dengan meningkatnya konsentrasi pati, kebutuhan mikroba akan sumber karbon semakin tercukupi. Pada selang konsentrasi pati tersebut, kenaikan viskositas belum berpengaruh terhadap efektifitas pengadukan pada tingkat pengadukan yang dipergunakan (200 rpm).

Perubahan pH selama fermentasi terlihat dalam Gambar 12. Selama fermentasi pH biakan cenderung tetap dan berada antara 7 dan 8, pada semua tingkat konsentrasi pati. Kisaran tersebut masih dalam kisaran pH yang optimal untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Produksi enzim α -amilase menurut Coleman (1967) paling baik pada pH 6.9 atau pH netral.



Gambar 12. Perubahan pH selama fermentasi.

2. Pembentukan Glukosa

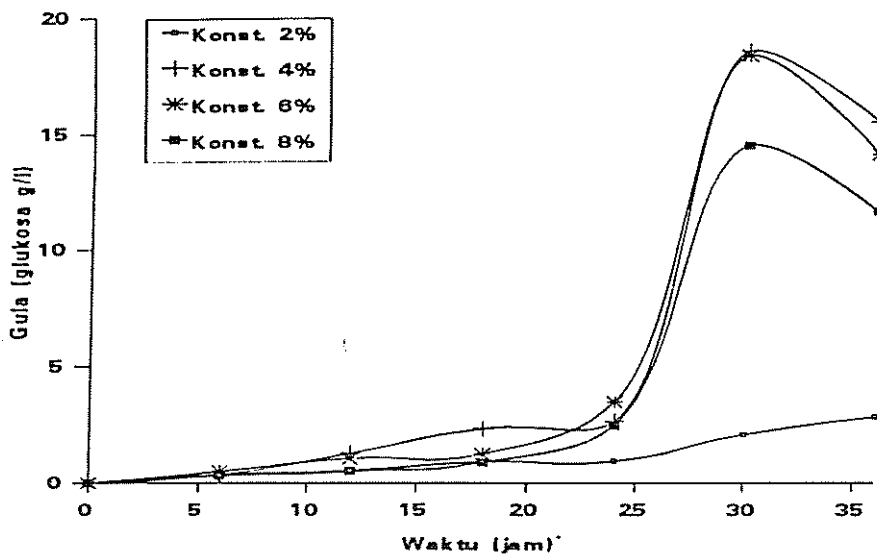
Pola pembentukan gula selama fermentasi terlihat dalam Gambar 13. Pada semua tingkat konsentrasi, pola yang terbentuk hampir sama kecuali pada konsentrasi pati 2 persen. Konsentrasi gula meningkat secara perlahan-lahan dari jam ke-0 sampai

jam ke-20, kemudian meningkat secara tajam dari jam ke-20 sampai jam ke-30 dan mulai turun setelah jam ke-30 sampai akhir fermentasi.

Peningkatan konsentrasi gula secara perlahan-lahan dan kemudian melonjak seperti terlihat dalam Gambar 13, berkaitan dengan pola penyerangan enzim α -amilase terhadap rantai pati. Selain itu juga berkaitan pula dengan pola konsumsi glukosa dan produksi enzim α -amilase oleh *Bacillus subtilis*.

Menurut Greenwood (1970), penyerangan enzim α -amilase terhadap amilosa pati terjadi dalam dua tahap. Tahap pertama adalah pendegradasian amilosa menjadi maltotriosa dan maltosa. Reaksi ini berlangsung secara cepat dan ditandai oleh penurunan viskositas biakan. Tahap kedua merupakan proses hidrolisis oligosakarida membentuk gula dan maltosa yang berlangsung secara lambat.

Menurut Coleman (1961), enzim α -amilase dalam jumlah banyak dihasilkan oleh sel-sel yang sudah tua mulai dari akhir fasa eksponensial sampai akhir fasa stasioner. Hal ini berarti aktivitas enzim secara besar terjadi mulai jam ke-12 sampai jam ke-30. Pola penyerangan dan produksi enzim α -amilase seperti yang dipertelakan diatas, menyebabkan glukosa terakumulasi pada jam ke-30.



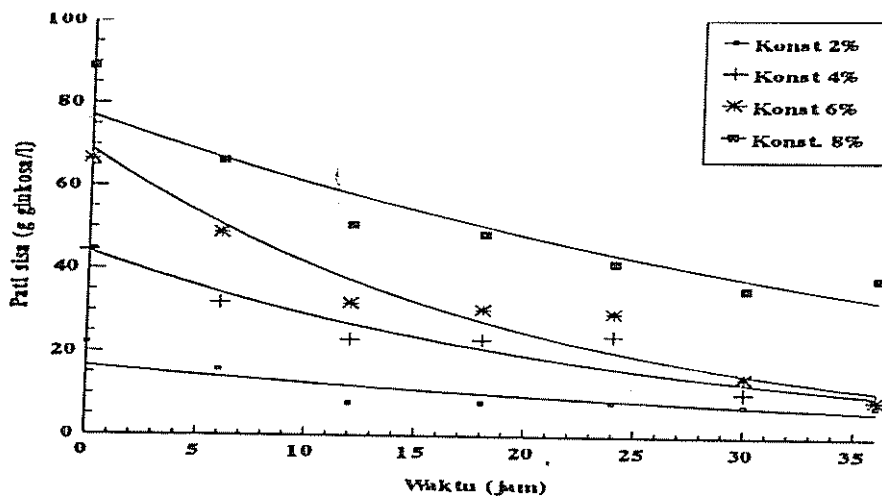
Gambar 13. Kurva pembentukan glukosa selama fermentasi

Produksi glukosa pada konsentrasi pati 2 persen berjalan sangat lambat. Jumlah glukosa yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan jumlah glukosa pada konsentrasi pati lainnya. Hal ini disebabkan karena pati merupakan inducer pembentukan enzim α -amilase. Rendahnya konsentrasi pati menyebabkan produksi enzim α -amilase rendah sehingga glukosa yang dihasilkan juga rendah. Kecilnya pembentukan glukosa pada tingkat konsentrasi pati ini juga disebabkan karena glukosa banyak dipakai untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel.

3. Penggunaan Substrat Pati

Pola penggunaan substrat terlihat dalam Gambar

14.



Gambar 14. Kurva penggunaan substrat selama fermentasi

Penurunan substrat terjadi mulai awal. Pada awal fermentasi terjadi penurunan substrat secara tajam. Hal ini disebabkan karena substrat banyak terpakai untuk sintesa enzim-enzim dan pembentukan metabolit untuk penyusunan komponen sel dan energi. Selama periode ini sel berada pada fasa eksponensial dimana laju pertumbuhan sel pada tingkat tertinggi.

Pada konsentrasi pati 4 dan 6 persen penurunan substrat terlihat lebih tajam dibanding pada konsentrasi pati yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis pati pada selang konsentrasi tersebut berjalan lebih baik. Kenyataan ini diperkuat oleh jumlah glukosa yang dihasilkan pada konsentrasi tersebut lebih tinggi dari konsentrasi pati lainnya.

Pati sisa, sampai akhir fermentasi, mencapai jumlah batas (limit) yang tidak bisa diuraikan lagi. Pada konsentrasi 2, 4, 6 dan 8 persen, jumlah tersebut adalah 7,484 g/l, 8,877 g/l, 8,795 g/l dan 35,190 g/l. Sisa pati ini merupakan polisakarida yang belum terpakai oleh mikroba. Pada konsentrasi 8 persen, pati sisa akhir fermentasi jauh lebih besar dibanding dengan tingkat konsentrasi pati lainnya, karena jumlah polisakarida awal lebih besar. Selain itu juga disebabkan oleh penurunan aktivitas sel *Bacillus subtilis* pada konsentrasi pati yang tinggi.

4. Parameter Proses

Parameter rendemen produk per biomassa (Y_p/x), produk per substrat (Y_p/s) dan biomassa per substrat (Y_x/s) dihitung secara grafis, yang selengkapnya disajikan dalam Lampiran 3. Nilai Y_p/x naik

pada konsentrasi pati 2 persen, 4 persen sampai 6 persen yang masing-masing adalah 1,35 g/g, 7,96 g/g, dan 8,43 g/g. $Y_{p/x}$ turun pada konsentrasi pati 8 persen yaitu sebesar 5,59 g/g. Dengan demikian pada konsentrasi pati 6 persen, efektifitas pembentukan produk oleh sel paling tinggi.

Nilai parameter $Y_{p/s}$ pada konsentrasi pati 2, 4 6 dan 8 persen masing-masing adalah 0,11 g/g, 0,52 g/g, 0,29 g/g dan 0,21 g/g. Nilai $Y_{p/s}$ tertinggi diperoleh pada konsentrasi pati 4 persen. Sedangkan nilai parameter $Y_{x/s}$ pada konsentrasi tersebut masing masing adalah 0,079 g/g, 0,041 g/g, 0,024 g/g dan 0,025 g/g. Nilai $Y_{x/s}$ tertinggi diperoleh pada konsentrasi pati 2 persen. Pada konsentrasi 4 persen, penggunaan substrat untuk pembentukan produk paling efisien. Sedangkan efisiensi penggunaan substrat untuk pembentukan sel tertinggi terjadi pada konsentrasi pati 2 persen.

Laju penggunaan substrat spesifik (q_s) menyatakan besarnya laju penggunaan substrat per satuan massa sel. Nilai q_s dihitung dengan rumus :

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{x/s}}$$

Nilai q_s naik pada tingkat konsentrasi pati 2 persen, 4 persen sampai 6 persen yang masing-masing



adalah $3,06 \text{ g/g.jam}^{-1}$, $7,09 \text{ g/g.jam}^{-1}$ dan $16,67 \text{ g/g.jam}^{-1}$. Nilai q_s turun pada konsentrasi pati 8 persen yaitu $6,75 \text{ g/g.jam}^{-1}$. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas per satuan massa dalam menggunakan substrat sangat tergantung pada konsentrasi substrat awal. Laju aktivitas tertinggi dicapai pada konsentrasi pati 6 persen yaitu sebesar $16,67 \text{ g/g.jam}^{-1}$.

Laju pembentukan produk spesifik (q_p) dihitung dengan rumus :

$$q_p = \mu \cdot Y_p/x$$

Nilai q_p pada pada konsentrasi pati 2, 4, 6 dan 8 persen adalah $0,33$, $2,33$, $3,37$, dan $0,950 \text{ g/g.jam}^{-1}$. Pada konsentrasi pati 2 persen sampai konsentrasi pati 6 persen nilai q_p mengalami kenaikan dan nilai tertinggi dicapai pada konsentrasi pati 6 persen. Pada konsentrasi 8 persen nilai q_p turun dibanding pada konsentrasi 6 persen. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa laju pembentukan glukosa dipengaruhi oleh konsentrasi pati awal.

Tabel 8. Parameter proses hidrolisis pati menggunakan biakan *Bacillus subtilis*

Parameter	2%	4%	6%	8%
μ	0,24	0,29	0,40	0,17
$Y_{P/X}$	1,35	7,98	8,84	5,59
$Y_{X/S}$	0,08	0,01	0,02	0,03
$Y_{P/S}$	0,11	0,53	0,29	0,21
q_p	0,33	2,30	3,37	0,95
q_s	3,06	7,05	16,67	6,75

Rumus-rumus perhitungan parameter proses:

$$\ln X/X_0 = \mu t$$

$$Y_{p/x} = (P - P_0) / (X - X_0)$$

$$Y_{p/s} = (P - P_0) / (S_0 - S)$$

$$Y_{x/s} = (X - X_0) / (S_0 - S)$$

$$q_p = \mu Y_{p/x}$$

$$q_s = \mu / (Y_{x/s})$$

Keterangan :

- P = Konsentrasi produk (g/l)
 P_0 = Konsentrasi produk awal (g/l)
 X = Konsentrasi biomassa (g/l)
 X_0 = Konsentrasi biomassa awal (g/l)
 S = Konsentrasi substrat (g/l)
 S_0 = Konsentrasi substrat awal (g/l)
 μ = Laju pertumbuhan spesifik (jam^{-1})
 $Y_{p/x}$ = Rendemen produk per biomassa (g xantan / g biomassa)
 $Y_{p/s}$ = Rendeman produk per substrat (g xantan / g substrat)
 $Y_{x/s}$ = Rendemen biomassa per substrat (g biomassa / g substrat)
 q_p = Laju pembentukan produk spesifik (g xantan / g biomassa . jam)
 q_s = Laju penggunaan substrat spesifik (g substrat / g biomassa . jam)

D. FERMENTASI BIAKAN CAMPURAN

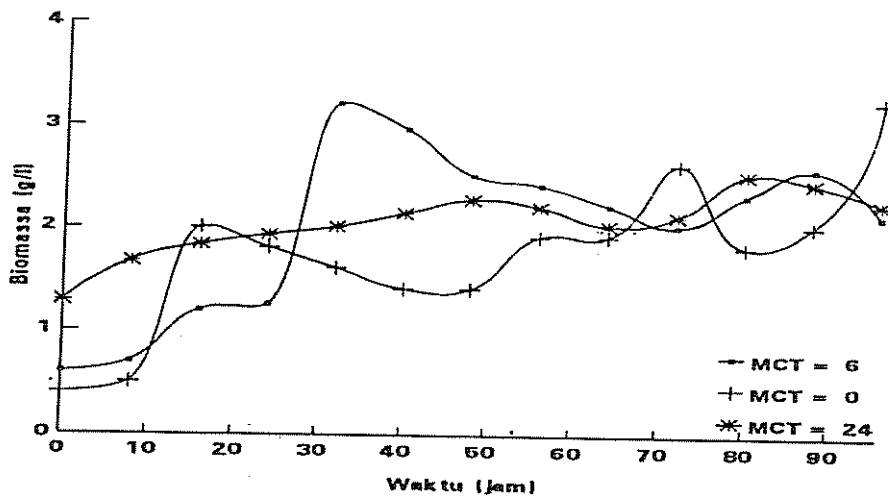
1. Pembentukan Biomassa

Pengukuran konsentrasi biomassa dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan mikroba di dalam biakan karena pertumbuhan organisme dapat dianggap sebagai kenaikan jumlah materi sel yang dinyatakan dengan satuan massa atau jumlah sel. Kenaikan materi sel merupakan hasil dari serangkaian proses metabolisme yang terkoordinasi dan dikatalisis secara biologi oleh enzim. Pertumbuhan optimal suatu mikroba sangat tergantung pada pengangkutan hara penting ke permukaan sel dan kondisi lingkungan, seperti pH, suhu dan hara. Khusus pada biakan campuran, pertumbuhan suatu mikroba juga dipengaruhi oleh interaksinya dengan mikroba anggota biakan lainnya (Bull dan Slater, 1981).

Pada penelitian ini, biomassa biakan campuran diukur berdasarkan bobot massa sel kering. Bobot massa sel kering ini merupakan bobot massa sel total *Xanthomonas campestris* dan *Bacillus subtilis*.

Pada Gambar 15 terlihat pola pertumbuhan biomassa total. Pencampuran pada jam ke-0, selanjutnya disebut MCT=0 dimana *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* dicampur bersama-sama, terlihat bahwa peningkatan konsentrasi biomassa meningkat

sampai jam ke-20. Laju pertumbuhan spesifik (μ) maksimal dari MCT=0 adalah $0,40 \text{ jam}^{-1}$. Peningkatan biomassa pada awal fermentasi ini disebabkan karena biakan masih mempunyai komposisi hara yang lengkap dalam konsentrasi yang cukup sehingga kebutuhan mikroba tercukupi. Konsentrasi masing-masing mikroba kemungkinan masih belum menyebabkan terjadinya persaingan antar mikroba. Parkes (1982) menyatakan bahwa biakan pada biakan curah (batch) mempunyai efisiensi pertumbuhan yang tinggi pada konsentrasi substrat tinggi.



Gambar 15. Kurva pertumbuhan biomassa biakan campuran selama fermentasi

Hubungan yang mungkin terjadi adalah hubungan mutualisme dimana *Bacillus subtilis* memberikan

keuntungan dengan cara mengurangi viskositas biakan dan memberi glukosa kepada *Xanthomonas campestris*, sehubungan dengan aktivitas hidrolisisnya. Sedangkan manfaat yang didapat oleh *Bacillus subtilis* dari *Xanthomonas campestris* adalah pengurangan akumulasi glukosa dalam biakan sehingga aktivitas hidrolisis dari *Bacillus subtilis* terhindar dari penghambatan oleh produk (glukosa).

Pada jam ke-20 sampai jam ke-50 terjadi penurunan biomassa. Penurunan ini kemungkinan disebabkan oleh adanya persaingan antara *Xanthomonas campestris* dan *Bacillus subtilis* dalam memperebutkan glukosa dan hara lain. Persaingan antar mikroba disebabkan karena semakin menipisnya zat hara penting dalam biakan. Kemungkinan lain adalah karena terjadinya otolisis sel. Otolisis sel mengurangi massa sel dalam biakan. Moraine dan Rogovin (1971) mengemukakan otolisis sel *Xanthomonas campestris* terjadi menjelang akhir fermentasi. Adanya otolisis sel menyebabkan terjadi peningkatan hara terutama peningkatan asam amino dan vitamin dalam biakan (Parkes, 1982). Peningkatan hara menyebabkan pertumbuhan kembali pada bakteri yang memerlukan satu atau lebih faktor pertumbuhan (Parkes, 1982). Adanya pertumbuhan kembali terlihat pada kenaikan biomassa pada jam ke-60 sampai akhir fermentasi.

Pada pencampuran jam ke-6, selanjutnya disebut MCT=6, dimana *Xanthomonas campestris* dicampur dengan *Bacillus subtilis*. pada saat *Bacillus subtilis* dalam fase eksponensial, terjadi peningkatan massa sel total sampai jam ke-40. Laju pertumbuhan spesifik maksimum pada MCT=6 sebesar $0,048 \text{ jam}^{-1}$. Hal ini berarti kondisi pada MCT=6 lebih buruk dari pada MCT=0 untuk pertumbuhan biomassa total.

Setelah jam ke-40 sampai jam ke-70 terjadi penurunan biomassa. Hal ini disebabkan karena pemasokan glukosa mulai berkurang karena *Bacillus subtilis* sebagai pemasok glukosa kemungkinan sudah mencapai fase kematian. Selain itu, kemungkinan terjadi persaingan antar mikroba karena beberapa hara penting mulai berkurang, seperti telah dijelaskan sebelumnya. Smith (1990) menyatakan bahwa pada biakan curah, pertumbuhan eksponensial adalah sementara. Setelah nutrisi dihabiskan oleh populasi sel, pertumbuhan spesifik cenderung menjadi semakin kecil, yaitu lebih kecil dari pertumbuhan spesifik maksimumnya (Smith, 1990).

Mulai jam ke-70 terjadi peningkatan biomassa yang kemungkinan karena penambahan hara dari otolisis sel. Pertumbuhan mulai menurun lagi setelah jam ke-80 sampai jam ke-96.

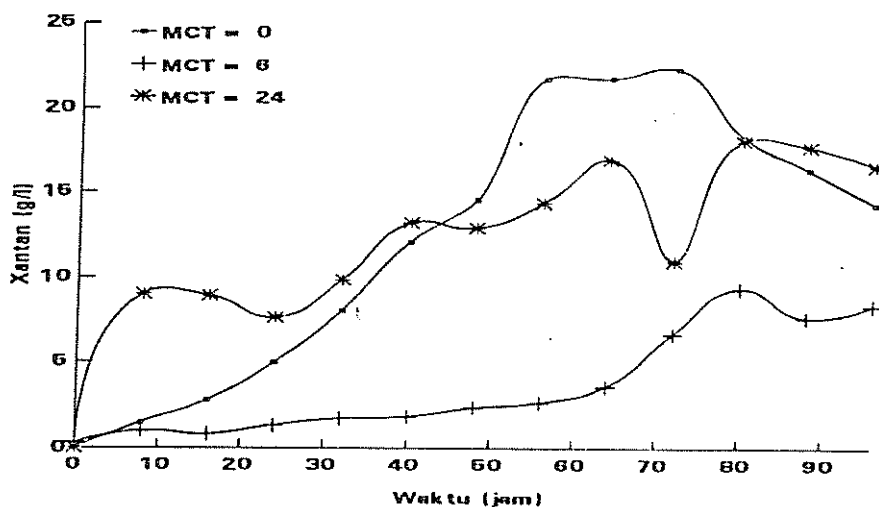


Pada fermentasi biakan campuran dengan waktu pencampuran pada jam ke-24, selanjutnya disebut MCT=24 dimana *Xanthomonas campestris* dicampur pada saat *Bacillus subtilis* berada pada fase stationer, laju pertumbuhan spesifiknya kecil, yaitu sebesar $0,06 \text{ jam}^{-1}$. Kecilnya laju pertumbuhan spesifik kemungkinan disebabkan oleh penambahan biomassa hanya terjadi pada sel *Xanthomonas campestris* dan kecilnya zat hara lain terutama nitrogen. Nitrogen sudah dipakai oleh *Bacillus subtilis* selama 24 jam sebelum pencampuran dilakukan.

2. Xantan

Pola pembentukan xantan oleh biakan campuran disajikan dalam Gambar 16. Xantan dalam biakan campuran diproduksi oleh *Xanthomonas campestris*. Peningkatan jumlah xantan menunjukkan peningkatan aktivitas pembentukan xantan oleh *Xanthomonas campestris* dalam biakan. Produksi xantan tertinggi pada biakan campuran MCT=0 sebesar 22,0 g/l dengan waktu fermentasi 72 jam. Produksi tertinggi pada biakan campuran MCT=6 sebesar 9,2 g/l dengan waktu fermentasi 80 jam. Produksi xantan tertinggi pada biakan campuran MCT = 24 sebesar 17,8 g/l. Tampak bahwa terdapat pengaruh waktu pencampuran terhadap jumlah xantan yang diproduksi oleh biakan campuran. Jumlah

produksi xantan pada masing-masing biakan campuran disajikan dalam Gambar 17.

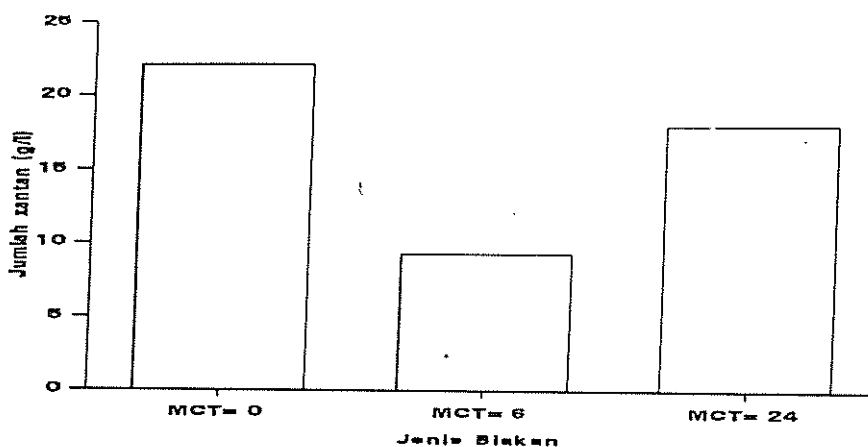


Gambar 16. Kurva pembentukan xantan oleh biakan campuran selama fermentasi

Pada Gambar 16 terlihat pola produksi xantan yang berbeda untuk tiap waktu pencampuran. Slodki dan Cadmus (1978) meneliti bahwa pembentukan xantan dipengaruhi oleh konsentrasi nitrogen dan sumber karbon dalam biakan. Pembentukan xantan juga dipengaruhi oleh kehadiran asam organik seperti asam piruvat, asam ketoglutarat dan asam suksinat dalam biakan (Souw dan Demain, 1979).

Perbedaan waktu inokulasi *Xanthomonas campestris* terhadap biakan yang berisi *Bacillus subtilis* mengakibatkan perbedaan kondisi yang didapat oleh *Xanthomonas campestris* terutama pada jumlah glukosa

dan hara esensial terutama nitrogen pada saat inokulasi *Xanthomonas*. Hal ini menyebabkan pola pembentukan xantan yang berbeda untuk tiap waktu pencampuran.



Gambar 17. Jumlah perolehan xantan pada tiap-tiap biakan campuran

Jumlah xantan yang terbentuk di dalam biakan, selain dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang melingkupi *Xanthomonas campestris* juga ditentukan oleh jumlah glukosa yang tersedia. Jumlah glukosa yang tersedia dalam biakan ditentukan oleh aktivitas *Bacillus subtilis* dalam menguraikan pati menjadi glukosa. Dengan demikian, jumlah xantan yang terbentuk dalam biakan juga dipengaruhi oleh aktivitas *Bacillus subtilis*.

Pada MCT=0 awal fermentasi masing-masing mikroba dalam biakan berada fase adaptasi. Hal ini

menyebabkan *Bacillus subtilis* tidak terlalu dominan. Pertumbuhan spesifik *Bacillus subtilis* ($0,29 \text{ jam}^{-1}$) lebih besar daripada *Xanthomonas campestris* ($0,12 \text{ jam}^{-1}$). Oleh karena itu, *Bacillus subtilis* lebih cepat tumbuh dibandingkan dengan *Xanthomonas campestris*, sehingga glukosa lebih cepat terbentuk. Hal ini terlihat pada akumulasi glukosa seperti dalam Gambar 17.

Pembentukan xantan naik secara perlahan dan tanpa fluktuasi sampai jam ke-72. Hasil ini menandakan bahwa *Xanthomonas* tidak mengalami gangguan produksi xantan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pertumbuhan *Xanthomonas* dan *Bacillus* berjalan seiring sehingga pengaruh dominasi *Bacillus* tidak terlalu berpengaruh, terutama dalam persaingan memperebutkan hara penting dalam biakan.

Produksi xantan menurun setelah jam ke-72 fermentasi. Hal ini karena pemasokan glukosa dan aktivitas *Xanthomonas campestris* mengalami penurunan akibat berkurangnya hara penting dalam biakan. Penurunan produksi xantan diakhir fermentasi juga disebabkan karena pengaruh kekentalan biakan. Moraine dan Rogovin (1973) mengatakan bahwa terbentuknya lapisan tipis disekeliling sel karena pembentukan xantan, mengurangi efektifitas perpindahan makanan dan oksigen dari lingkungan ke sel.

Pada awal fermentasi biakan campuran dengan waktu pencampuran jam ke-6 (MCT=6), terjadi perbedaan fase pertumbuhan antara *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris*. *Bacillus subtilis* berada dalam fase eksponensial dan *Xanthomonas campestris* berada dalam fase adaptasi. Perbedaan ini menyebabkan *Bacillus subtilis* lebih dominan dibanding *Xanthomonas campestris*. Hal ini terlihat dengan jelas pada pembentukan glukosa yang naik secara tajam dan pembentukan xantan yang berjalan lambat. Aktivitas pembentukan xantan oleh *Xanthomonas campestris* meningkat setelah fermentasi mencapai jam ke-60. Hal ini kemungkinan karena *Xanthomonas campestris* mulai terbebas dari pengaruh dominasi pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Peningkatan ini terlihat pada pembentukan xantan yang naik secara tajam. Tetapi karena pada saat itu *Bacillus subtilis* sudah mengalami penurunan aktivitas sejalan dengan penuaan sel, sehingga glukosa yang diproduksi mulai berkurang, produksi xantan hanya mencapai jumlah maksimal 9,2 g/l.

Pada biakan campuran MCT=24, xantan terbentuk secara cepat mulai dari awal fermentasi. Hal ini menandakan bahwa *Xanthomonas campestris* memperoleh kondisi lingkungan yang cocok untuk aktivitas pembentukan xantan. *Xanthomonas campestris* memperoleh glukosa paling banyak (11,27 g/l) pada awal

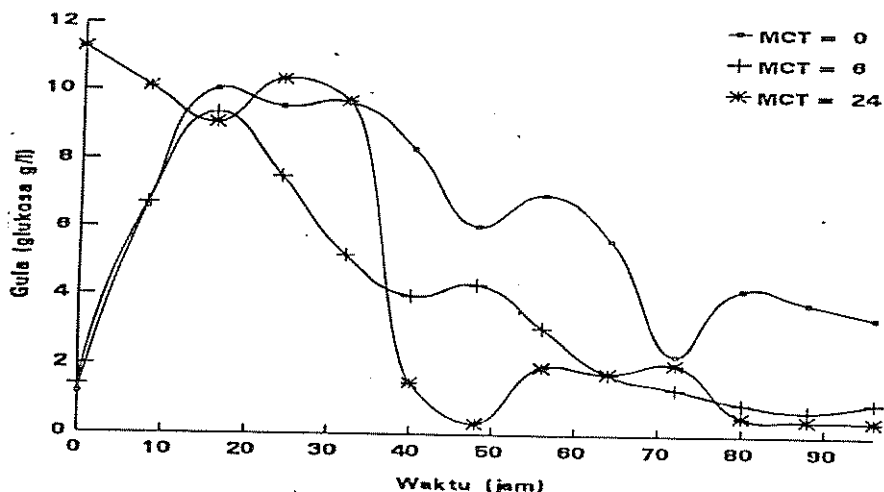
pertumbuhannya. Kang dan Cottrell (1979) mengemukakan bahwa tingkat konsentrasi gula 10 g/l sampai 50 g/l memberikan kondisi yang paling baik untuk pembentukan xantan. Hal ini terlihat dengan naiknya jumlah xantan sampai akhir fermentasi.

Dari gambaran diatas terlihat bahwa perbedaan waktu pencampuran (penundaan inokulasi *Xanthomonas campestris*) berpengaruh pada jumlah dan pola produksi xantan. Disimpulkan bahwa jumlah dan pola produksi xantan dipengaruhi oleh jumlah glukosa pada awal pertumbuhan *Xanthomonas campestris*, kesinambungan produksi glukosa oleh *Bacillus subtilis* dan kondisi yang tercipta oleh adanya interaksi dari kedua mikroba tersebut.

3. Kadar Gula dan Kadar Pati Sisa

Jumlah gula (glukosa) yang terukur dalam biakan campuran ini adalah jumlah gula yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* dikurangi jumlah gula yang dikonsumsi kedua mikroba tersebut. Gula dibutuhkan oleh biomassa untuk (1) menyusun sel baru, (2) menyusun produk ekstraseluler, (3) menyediakan keperluan energi (Sinclair dan Kristiansen, 1987). Perubahan kadar gula dalam biakan campuran ini disajikan dalam Gambar 18.

Pada Gambar 18, terlihat pola perubahan kadar gula untuk MCT=0, MCT=6 dan MCT=24. Perubahan kadar gula menunjukkan perubahan besarnya produksi dan konsumsi gula dalam biakan. Peningkatan kadar gula (ditandai oleh naiknya kurva) menunjukkan bahwa produksi gula oleh *Bacillus subtilis* lebih besar dibandingkan dengan konsumsi gula oleh kedua mikroba tersebut. Hal ini terjadi pada awal fermentasi. Keseimbangan produksi dan konsumsi gula ditandai dengan kurva datar, terjadi pada periode waktu tertentu pada pertengahan fermentasi. Sedangkan penurunan kadar gula menunjukkan bahwa konsumsi gula dalam biakan lebih besar daripada produksi gula oleh *Bacillus subtilis*.



Gambar 18. Kurva pembentukan glukosa dalam biakan campuran selama fermentasi

Untuk MCT=0, kadar gula pada saat awal fermentasi sangat kecil. Hal ini disebabkan karena pada MCT=0, awal fermentasi biakan campuran, *Bacillus subtilis* belum melakukan aktivitas hidrolisisnya karena baru dalam tahap adaptasi. Setelah itu, kadar gula terus naik sampai jam ke-20.

Kadar gula turun secara tajam mulai dari jam ke-20 sampai jam ke-48. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi keseimbangan antara produksi gula dengan konsumsi gula oleh kedua mikroba tersebut. Konsumsi gula pada periode ini lebih besar. Kemungkinan hal ini disebabkan *Xanthomonas campestris* berada dalam fase eksponensial dan stationer, dimana pada fase tersebut pembentukan sel dan xantan dalam tingkat tertinggi.

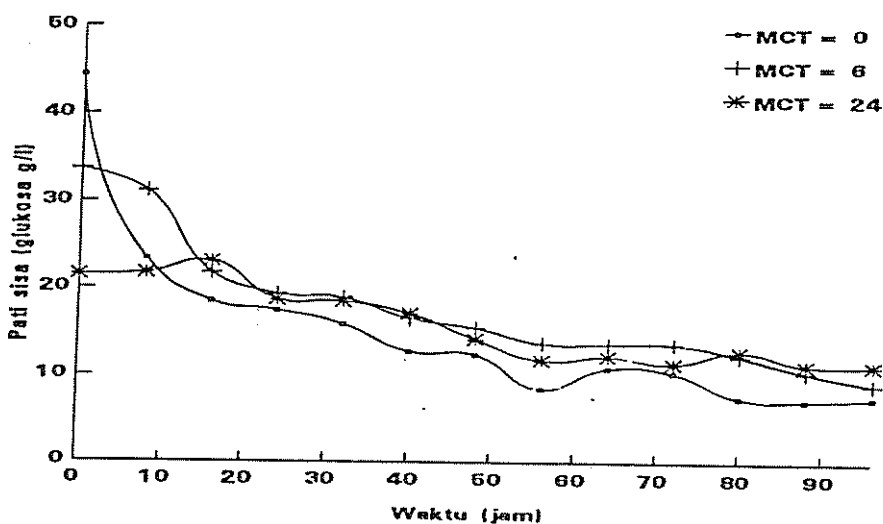
Keseimbangan produksi gula dan konsumsi gula (ditandai oleh kurva datar) hanya terjadi pada periode tertentu, yaitu pada periode jam ke-48 sampai jam ke-64 dan jam ke-80 sampai akhir fermentasi. Pada periode ini, akumulasi glukosa dalam biakan relatif kecil. Hal ini kemungkinan terjadi karena peningkatan konsumsi glukosa oleh *Xanthomonas campestris* untuk pembentukan xantan. Aktivitas *Bacillus subtilis* kemungkinan juga sudah mengalami penurunan akibat penuaan sel.

Pola yang hampir sama dengan biakan campuran MCT=0 terjadi pada MCT=6. Perbedaan yang terlihat adalah lebar periode keseimbangan produksi dan konsumsi gula. Pada MCT=6 periode keseimbangan ini terlihat lebih pendek, yaitu terjadi hanya pada periode jam ke-40 sampai jam ke-48. Perbedaan lainnya adalah jumlah gula yang sempat terakumulasi lebih kecil dibanding dengan MCT=0. *Xanthomonas campestris* terlihat kurang produktif dibandingkan dengan biakan campuran MCT=0. Hal ini terlihat pada produksi xantan yang sangat lambat, yang mungkin disebabkan oleh dominasi *Bacillus subtilis* pada awal pertumbuhan *Xanthomonas campestris*. Menurut Bull dan Slater (1981), dominasi pertumbuhan yang berlebihan dari satu atau lebih anggota populasi akan menekan bahkan mematikan anggota populasi lainnya.

Pola perubahan kadar gula pada MCT=24 terlihat berbeda dengan pola biakan campuran lainnya. Dalam Gambar 18 terlihat adanya akumulasi gula yang tinggi pada awal fermentasi. Hal ini terjadi karena aktivitas hidrolisis sudah terjadi selama 24 jam sebelum *Xanthomonas campestris* dicampurkan. Mulai jam ke-0, akumulasi gula cenderung turun, walaupun sampai jam ke-24 masih terlihat adanya keseimbangan produksi dan konsumsi gula. Penurunan ini disebabkan oleh terjadinya penurunan aktivitas *Bacillus*

subtilis karena sel sudah tua (mungkin sudah berada dalam fase kematian). Pencampuran pada saat *Bacillus subtilis* berada pada fase stationer, mengakibatkan *Bacillus subtilis* tidak dapat mensuplai glukosa sampai akhir fermentasi.

Pola penguraian pati menjadi glukosa disajikan dalam Gambar 19.



Gambar 19. Kurva penurunan substrat pati dalam biakan campuran selama fermentasi

Besarnya tingkat penguraian pati ditunjukkan oleh besarnya pati yang tersisa dalam biakan. Pola penurunan pati pada biakan campuran MCT=0 dan biakan campuran MCT=6 menunjukkan penurunan yang tajam pada

awal fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi proses hidrolisis yang cepat oleh *Bacillus subtilis*.

Pada biakan campuran MCT=0, setelah jam ke-20, terjadi penurunan pati yang lebih tajam dibandingkan biakan MCT=6. Hal ini menunjukkan bahwa pada awal fermentasi proses hidrolisis pada MCT=0 lebih besar dari pada MCT=6. Hal ini kemungkinan karena pada awal fermentasi sumber karbon yang terdapat pada MCT=0 hanya pati.

Pada biakan campuran MCT=24 pada awal fermentasi, proses hidrolisis berjalan sangat lambat. Hal ini disebabkan karena akumulasi glukosa yang sudah cukup tinggi. Setelah jam ke-20 kadar pati turun secara tajam sampai jam ke 56. Penurunan ini terjadi karena proses hidrolisis mulai terhindar dari penghambatan produk. Fenomena ini lebih diperkuat oleh penurunan kadar glukosa yang tajam pada periode tersebut. Hal ini merupakan bukti bahwa kehadiran *Xanthomonas campestris* sangat menguntungkan bagi *Bacillus subtilis*.

Konsentrasi pati sisa pada akhir fermentasi pada MCT=0, MCT=6 dan MCT=24 masing-masing adalah 7,28, 8,14, 11,01 g/l. Biakan campuran MCT=0 memberikan sisa pati yang paling sedikit.

E. PERBANDINGAN KINERJA PROSES

Kinerja proses fermentasi dengan biakan campuran dapat diketahui dengan menghitung parameter-parameter kinetika proses tersebut.

Dalam Gambar 20 terlihat bahwa pola pembentukan produk (xantan) mengikuti pola berasosiasi dan tidak berasosiasi dengan pertumbuhan sel (pola campuran). Hal ini berarti pembentukan produk berkorelasi baik dengan laju pertumbuhan maupun konsentrasi sel.

Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan persamaan logistik Weiss dan Ollis (1980)

$$\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \mu = \mu_m \left(1 - \frac{X}{X_s} \right) \quad \dots\dots\dots (1)$$

dimana μ = Laju pertumbuhan spesifik
 X_s = Konsentrasi Biomassa maksimal atau konsentrasi biomassa pada fase stationer.

Integrasi persamaan tersebut dengan $X_0 = X(t=0)$

$$X(t) = \frac{X_0 \cdot e^{\mu t}}{1 - (X_0/X_s)(1 - e^{\mu t})} \quad \dots\dots\dots (2)$$

Penyusunan kembali persamaan tersebut menghasilkan

$$\ln [X / (X_s - X)] = \mu \cdot t - \ln [(X / X_0) - 1] \quad \dots\dots\dots (3)$$

Nilai μ sebagai kemiringan garis diperoleh menghubungkan waktu (t) dengan $\ln [X / (X_s - X)]$.

Persamaan untuk pembentukan produk dirumuskan melalui persamaan Luedeking-Piret :

$$\frac{dP}{dX} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \quad \dots\dots\dots(4)$$

dan Persamaan untuk penggunaan substrat adalah

$$\frac{dS}{dX} = - A \frac{dX}{dt} - B X \quad \dots\dots\dots(5)$$

α = Parameter pembentukan produk yang berhubungan dengan pertumbuhan (g produk/g sel)

β = Parameter pembentukan produk yang tidak berhubungan dengan pertumbuhan (g produk/ g sel⁻¹)

A = Parameter penggunaan glukosa yang berhubungan dengan pertumbuhan (g substrat / g sel)

B = Parameter penggunaan substrat yang tidak berhubungan dengan pertumbuhan (g substrat / g sel⁻¹).

Dengan memasukkan persamaan (1) ke persamaan (4), diperoleh :

$$\frac{(P-P_0)}{(X-X_0)} = \alpha + \beta \frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu_m} + 1 \right]$$

Dengan memasukkan persamaan (1) ke persamaan (5), diperoleh :

$$\frac{(S-S_0)}{(X-X_0)} = A + B \frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu_m} + 1 \right]$$

Nilai α dan β diperoleh secara grafis dengan menghubungkan

$$(P-P_0)/(X-X_0) \text{ terhadap } \frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu_m} + 1 \right]$$

dimana β merupakan gradien dan α merupakan intersep garis.

Nilai A dan B diperoleh dengan menghubungkan

$$(S-S_0)/(X-X_0) \text{ terhadap } \frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu_m} + 1 \right]$$

dimana B merupakan gradien dan A merupakan intersep garis.

Hasil perhitungan parameter kinetika biakan campuran selengkapnya disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Parameter kinetika pada biakan campuran

Biakan campuran	Parameter kinetika				
	μ	α	β	A	B
MCT = 0	0,40	9,24	0,18	-3,17	-0,67
MCT = 6	0,05	-2,07	-0,10	-65,00	-1,56
MCT = 24	0,06	-3,61	-0,95	71,81	3,11

Biakan campuran MCT=0 mempunyai nilai μ yang tertinggi dibanding biakan campuran lainnya. Biakan campuran MCT=0 juga mempunyai nilai tertinggi untuk nilai α dan β . Hal ini berarti pada MCT=0 pembentukan produk (xantan) berkorelasi positif terhadap laju pertumbuhan dan konsentrasi sel. Pada MCT=6 dan MCT=24, laju pertumbuhan spesifik biakan sangat rendah. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kondisi yang tidak menguntungkan karena pencampuran anggota biakan dilakukan pada fase yang berbeda. Nilai α dan β pada MCT=6 dan

MCT=24 menunjukkan nilai negatif. Hal ini diduga sebagai akibat adanya penurunan produk oleh suatu mekanisme yang tidak berhubungan dengan pertumbuhan, kemungkinan juga disebabkan oleh terjadinya penghambatan yang tidak berhubungan dengan pertumbuhan. Nilai A dan B pada MCT=0 dan MCT=6 menunjukkan nilai negatif. Hal ini berarti terjadi penurunan konsumsi substrat (pati) dengan bertambahnya jumlah sel. Hal ini diduga disebabkan karena tersedianya glukosa dalam jumlah yang cukup sehingga konsumsi pati menjadi menurun.

Perbandingan kinerja proses biakan tunggal dengan biakan campuran dapat dilakukan dengan membandingkan beberapa parameter proses. Perbandingan parameter proses selengkapnya disajikan dalam Tabel 10.

Tabel 10. Perbandingan parameter proses biakan tunggal dengan biakan campuran.

Parameter proses	Proses	
	Biakan tunggal *)	Biakan campuran
Waktu proses (jam)	96	72
μ (jam ⁻¹)	0,12	0,25
Perolehan xantan (g/l)	27,1	22,0
q_p (g/g.jam)	0,02	0,19
Konversi (pati - xantan)	60,8	49,5

*) Mangunwidjaja et al (1990) pada substrat hidrolisat ubi jalar (40 g/l)

Jumlah xantan maksimal pada biakan campuran lebih rendah dibandingkan dengan jumlah xantan pada biakan tunggal dengan menggunakan hidrolisat pati ubi jalar sebagai sumber karbon. Tetapi waktu yang dibutuhkan biakan campuran untuk menghasilkan jumlah xantan maksimal lebih pendek dari biakan tunggal. Hal ini kemungkinan karena waktu hidup *Xanthomonas campestris* lebih pendek yang disebabkan terjadinya persaingan pada saat hara penting dalam biakan mulai habis.

Laju pembentukan produk spesifik (q_p) pada biakan campuran lebih besar dari pada biakan tunggal. Hal ini berarti efektifitas pembentukan produk per satuan massa sel per jam lebih tinggi pada biakan campuran. Jika dikaitkan dengan laju pertumbuhan spesifik terlihat bahwa sel lebih mengarahkan metabolismenya ke arah pembentukan produk dari pada pembentukan biomassa. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan fungsi xantan sebagai pelindung sel dari kondisi yang tidak menguntungkan. Adanya *Bacillus subtilis* kemungkinan memacu *Xanthomonas campestris* memproduksi xantan lebih cepat sebagai perlindungan diri. Jika dugaan ini benar maka penggunaan biakan campuran merupakan salah satu cara manipulasi lingkungan metabolisme *Xanthomonas campestris*. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut.

Tingkat konversi sumber karbon menjadi xantan pada biakan tunggal lebih tinggi daripada biakan campuran.

Hal ini karena sumber karbon pada biakan tunggal merupakan molekul yang lebih sederhana dan tidak ada pengaruh persaingan hara penting dalam biakan.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Biakan campuran *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* mampu melakukan proses hidrolisis pati dan fermentasi glukosa menjadi xantan secara langsung dalam satu tahap fermentasi. Dengan demikian proses hidrolisis di luar fermentasi xantan, seperti pada biakan tunggal, dapat dihilangkan.

Fermentasi glukosa menjadi xantan menggunakan biakan campuran memberi keuntungan yaitu bisa digunakannya pati sebagai substrat secara langsung tanpa melalui proses hidrolisis terpisah, sehingga biaya bahan baku menjadi lebih rendah. Selain itu proses fermentasi berjalan lebih cepat dengan peralatan yang lebih sedikit. Fermentasi dengan biakan campuran ini memberikan hasil yang baik terutama dalam efisiensi pembentukan produk oleh sel dibandingkan dengan fermentasi dengan sistem biakan tunggal, walaupun dengan substrat yang berbeda.

Fermentasi dengan biakan campuran ini dilakukan dengan perbedaan waktu pencampuran berdasarkan fasa pertumbuhan *Bacillus subtilis*, yaitu pencampuran pada jam ke-0 (fase adaptasi *Bacillus subtilis*), jam ke-6 (fase eksponensial *Bacillus subtilis*), dan jam ke-24 (fase stationer *Bacillus subtilis*). Konsentrasi xantan

tertinggi pada masing-masing waktu pencampuran berturut-turut adalah 22,00 g/l dicapai selama 72 jam, 9,20 g/l dicapai selama 80 jam dan 17,80 g/l dicapai selama 80 jam. Dengan demikian biakan campuran dengan waktu pencampuran jam ke-0 (MCT=0) memberikan hasil yang tertinggi.

Parameter kinetika yang didapat dari kultivasi curah biakan campuran terbaik yaitu MCT=0, adalah laju pertumbuhan spesifik sel (μ) sebesar 0,40, parameter pembentukan produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan (α) = 9,24 g produk/g biomassa, parameter pembentukan produk yang tidak berasosiasi dengan pertumbuhan (β) = 0,19 g produk/g biomassa.jam, parameter penggunaan substrat yang berasosiasi dengan pertumbuhan (A) = -0,67 g substrat/g biomassa dan parameter penggunaan substrat yang tidak berasosiasi dengan pertumbuhan (B) = -3,17 g substrat/g biomassa.jam.

B. SARAN

Penelitian ini adalah penelitian awal untuk menjanggi kemungkinan digunakannya biakan campuran *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* untuk memproduksi xantan. Penelitian lebih lanjut diarahkan pada penentuan perbandingan jumlah masing-masing inokulum sehingga didapatkan perbandingan yang optimal. Selain itu juga disarankan dilakukan penentuan konsentrasi

substrat awal yang optimal. Perlu pengkajian lebih lanjut terhadap metabolit dan jumlah masing-masing mikroba dalam biakan sehingga keadaan biakan selama proses dapat diduga dengan tepat. Dengan demikian dapat dilakukan manipulasi proses sehingga diperoleh suatu kondisi yang optimum.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1970. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist, Washington.
- . 1980. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist, Washington.
- Basin, M.J. 1981. Mixed Culture Kinetics, *di dalam* M.E. Bushell dan J.H. Slater (eds.). Mixed Culture Fermentation. Academic Press Inc., New York.
- Cadmus, M.C., G.A. Knutson, A.A. Lagoda, J.E. Pitsley dan K.A. Burton. 1978. Synthetic Media for Production of Quality Xantan Gum in 20 liter Fermentor. Biotech. Bioeng. 20 : 1003-1014.
- Crosby, D.G. 1964. The Organic Constituen for Food III Sweet Potatoes. J. of Food Sci. 93 : 120 - 131.
- Coleman, G. dan W.H. Elliot. 1962. Studies on α -amylase Formation by *Bacillus subtilis*. J. Biochem. 83 : 256.
- Coleman, G. 1967. Studies on The Regulation of Extracellular Enzyme Formation by *Bacillus subtilis*. J. gen Microbiol. 49 : 421 - 431.
- Freer, S.N. dan R.E. Wing. 1984. Fermentation of Cello-dextrins to Ethanol Using Mixed Culture Fermentations. Biotech. Bioeng. 27 : 1085 - 1088.
- Glicksman, M. 1980. Food Colloids. The AVI Publishing Co., Inc. Boca Raton, Florida.
- Grant, J. 1969. Hackh's Chemical Dictionary. Mc. Graw-Hill Book Co., New York.
- Hayward, A.C. 1983. Isolation and Characterization of *Xanthomonas*, *di dalam* C. Phelps dan P.H. Clarke (eds.). Biotechnology. Organized in Biochemical Society, London.
- Kay, D.E. 1973. Root Crops. The Tropical Product. Institut Foreign and Common Wealth Office, London.
- Kang, K.S. dan I.W. Cottrel. 1979. Polysacharide, *di dalam* H.J. Peppler dan D. Perlman. Microbiol Technology Vol. I. Academic Press, New York.

- Kennedy, J.F., P. Jones, S.A. Barker dan G.T. Banks. 1982. Factor Affecting Microbial Growth and Polysaccharide Production During The Fermentation of *Xanthomonas campestris* Culture. *Enzyme Microb-tech.* 4 : 39 - 43.
- Kidby, D., P. Stanford, A. Herman dan M.C. Cadmus. 1977. Maintenance Prosedures for The Curtailment of Genetic Instability *X. campestris* NRRL B-1459. *Appl. and Envirol. Microbiol.* 4 : 40 - 49.
- Kurosawa, H. H. Ishikawa dan H. Tanaka. 1988. L-Lactic Acid Production from Starch by Coimobilized Mixed Culture System of *Aspergillus awamori* and *Streptococcus lactis*. *Biotech. Bioeng.* 31 : 183 - 187.
- Linton, J.D. dan J.W. Drozd. 1982. Microbial Interactions and Communities in Biotechnology, *di dalam* J.H. Slater dan A.T. Bull (eds.). *Microbial Interactions and Communities.* Academic Press, London.
- Magee, R.D., J.F. Drace, A.G. Fredricson dan H.M. Tsuchiya. 1972. Studien in Intermicrobial Symbiosis *Saccharomyces cerevesiae* and *Lactobacillus casei*. *Canad. J. Microbiol.* 18 : 1333 - 1742.
- Mangunwidjaja, D.M., P. Fewidarto, M. Rahayuningsih dan Marniza. 1989. Rancangbangun dan Optimasi Proses Produksi Gum Xanthan dari Hidrolisa Pati Ubi Jalar oleh *Xanthomonas campestris*. PAU Bioteknologi IPB, Bogor.
- Marsh, P. 1980. Oral Microbiology, *di dalam* A.T. Bushell dan J.H. Slater (eds.). *Mixed Culture Fermentations.* Academic Press, London.
- Mc Neely, W.H. dan K.S. Kang. 1973. Xanthan and Same Other Biosyntetics Gum, *di dalam* R.L. Whistler dan J.N. Be Miller (eds.). *Industrial Gum.* Academic Press, New York.
- Morine, R.A. dan P. Rogovin. 1973. Kinetics of The Xanthan Fermentation. *Biotech. Bioeng.* 15 : 225 - 237.
- Muthmainah, N. 1990. Fermentasi Sinambung Xantan oleh *Xanthomonas campestris* dengan Substrat Tetes Tebu. Skripsi. FATETA-IPB, Bogor.

- Palmer, J.K. 1982. Carbohydrate in Sweet Potato, di dalam R.L. Villareal dan T.D. Grigg (eds.). Sweet Potato Proceeding of the First International Symposium. AVRDC, Tainan.
- Parkes, R.J. 1982. Method for Enriching, Isolating and Analysing Microbial Communities in Laboratory System, di dalam J.H. Slater dan A.T. Bull (eds.). Microbial Interactions and Communities. Academic Press, London.
- Pettit, D.J. 1982. Xanthan Gum, di dalam M. Glicksman (ed.). Food Hydrocoloids, Vol. 1. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
- Pickaver, A.H. 1976. The Production of N-nitro-siomino-diacetate from Nitroacetate and Nitrate by Microorganism Growing in Mixed Culture. Soil Biol. Biochem. 8 : 13 - 17.
- Rosario, E.J. and R.L. Wong. 1984. Covertion of Dextrinized Cassava Starch into Ethanol Using Culture of *Aspergillus awamori* and *Saccharomyces cereviceae*. Enzym Microb. Technol. 6 : 60 - 63.
- Slater, J.H. 1981. Mixed Cultures and Microbial Communities, di dalam M.E. Bushell dan J.H. Slater (eds.). Mixed Culture Fermentation. Academic Press, London.
- Slodki, M.E. dan M.C. Cadmus. 1978. Production of Microbial Polysaccharides. Appl. Microbiol. 30 : 30 - 49
- Soesanto, S.H. 1983. Mempelajari Proses Pembuatan Sirop Glukosa Secara Enzimatis dari Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*). Skripsi. FATETA-IPB, Bogor.
- Souw, P. dan A. Demain. 1979. Nutrition Studies on Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* NRRL-B 1459. Appl. Environ. Microb. 37(6) : 1186 - 1192.
- Somerville, H.J. 1981. Mixed Cultures in Aerobic Waste Treatment, di dalam M.E. Bushell dan J.H. Slater (eds.). Mixed Culture Fermentation. Academic Press, London.
- Stephens, M.L. dan G. Lyberatos. 1986. Effect of Cycling on Final Mixed Culture Fate. Biotech. Bioeng. 29 : 672 - 678.

Steinkraus, K.H. 1980. Fermented Foods and Beverages : The Role of Mixed Culture, *di dalam* J.H. Slater dan A.T. Bull (eds.). Microbial Interactions and Communities. Academic Press, London.

Thenawidjaja, M. 1988. Dasar-dasar Biokimia. *Terjemahan*. Erlangga, Jakarta.

Winarno, F.G. 1988. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia, Jakarta.



LAMPIRAN

Hak Cipta Ditanggung Undang-undang

1. Dilarang menyalin sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa izin pencipta dan menyalinkan kembali.
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, pengembangan laporan, penelitian kritis atau tujuan sosial.
3. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
4. Dilarang mengkomersialkan dan menyalin kembali seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 1. Bahan dan alat

Bahan Kimia

- Asam 3.5 dinitrosalisilat
- NaOH
- HCl 0,1 N
- Indikator fenolftalein
- Alkohol 70%
- Aquadest
- Ekstrak Malt
- Ekstrak Khamir
- Pepton
- Glukosa
- Pati
- Agar
- KH_2PO_4
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
- NH_4Cl
- Asam Sitrat
- Asam Borat
- $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$
- Asam Sulfat pekat
- Pb Asetat setengah basa
- Na_2HPO_4
- Isopropanol
- $CaCO_3$
- KCl 1%
- Enzim α -amilase (Thermamyl 120 L)
- Enzim amiloglukosidase (AMG 300 L)
- Larutan Yodium

Alat

- Tabung reaksi
- Hot plate
- Spektrofotometer
- Clean Bench
- Inkubator goyang
- Autoklaf
- Refrigerator
- Petridish
- Gelas piala
- Gelas ukur
- Labu pengencer
- Erlenmeyer
- Eksikator
- Oven
- Kompur
- Magnetic stirrer
- Cawan aluminium
- Kapas penyumbat
- Pembakar bunsen
- Jarum ose
- Inkubator
- Ember
- Neraca analitis
- Termometer
- Sentrifuse
- Tanur
- Cawan porselen
- pH meter



Lampiran 2. Tata Cara Analisis Bahan Baku dan Hasil Fermentasi

1. Kadar Air (AOAC, 1980)

Cawan aluminium dipanaskan pada suhu 105°C, didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Lebih kurang dua gram contoh ditimbang dan dipanaskan dalam oven suhu 105°C selama satu jam, kemudian didinginkan dalam eksikator sebelum ditimbang. Pemanasan diulang sampai didapat bobot konstan. Sisa contoh dihitung sebagai sisa padatan dan pengurangan bobot menunjukkan banyaknya air dalam bahan.

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Bobot contoh awal} - \text{bobot contoh akhir}}{\text{Bobot contoh awal}} \times 100 \%$$

2. Kadar Abu (AOAC, 1980)

Cawan porselen dipanaskan dalam tanur kemudian didinginkan dalam eksikator dan secepatnya ditimbang setelah dicapai suhu kamar. Contoh sebanyak dua sampai tiga gram ditimbang dan diabukan dalam tanur 550°C sampai diperoleh abu berwarna kelabu atau beratnya konstan, kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Penghitungan kadar abu sama dengan penghitungan kadar air.

3. Penetapan Xantan Cairan Fermentasi (Cadmus et al., 1978)

Cairan fermentasi dilarutkan dalam air destilata 1 : 5, kemudian disentrifusi selama 30 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Pengendapan dilakukan dengan larutan isopropanol 1 : 2. Endapan dipisahkan, dikeringkan dalam oven bersuhu 50 - 80 °C selama dua jam kemudian ditimbang.

4. Penentuan Kadar Gula dengan Metode DNS (Miller, 1959)

a. Penyiapan Contoh

Contoh dalam bentuk cair dibuat basa dengan menambahkan CaCO_3 . Penambahan tersebut ditujukan untuk menetralkan asam-asam yang terdapat dalam contoh, sehingga tidak menghidrolisa gula yang ada selama proses pemanasan.

Untuk menghilangkan pigmen, senyawa berwarna dan senyawa koloid, ke dalam contoh dimasukkan Pb asetat setengah basa. Kelebihan Pb asetat dihilangkan dengan menambahkan natrium oksalat atau fosfat.

Penambahan larutan pengendap dilakukan sedikit demi sedikit dengan jalan meneteskan ke dalam contoh sampai larutan menjadi jernih dan terlihat tidak ada Pb asetat yang mengendap lagi. Kelebihan Pb asetat dihilangkan dengan cara yang sama dengan menggunakan Na atau K oksalat atau fosfat sampai

terlihat tidak ada lagi endapan yang terbentuk. Volume contoh dalam labu takar ditepatkan sampai tanda tera untuk menentukan faktor pengenceran.

b. Penentuan Kadar Gula

Contoh yang telah jernih dimasukkan sebanyak satu ml ke dalam tabung reaksi ditambah tiga ml DNS, dan ditempatkan dalam air mendidih selama lima menit, kemudian didinginkan sampai suhu kamar, pengukuran dilakukan pada kisaran 20 - 80 T pada panjang gelombang 550 nm. Untuk pengukuran blanko digunakan air. Kurva baku dibuat dengan menggunakan larutan glukosa standar dengan kisaran 0.2 - 5.0 mg/ml.

5. Pengukuran pH (Jeanes et al., 1976)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter dengan menggunakan buffer pH 4.01 dan 7.01 untuk mendeteksi kesalahan pengukuran dan kontrol.

6. Pengukuran Biomassa (Souw dan Demain, 1974)

Biomassa diukur dengan gravimetri (g bobot kering /liter), dengan terlebih dahulu dilakukan penghilangan polisakarida yang ada dalam contoh. Contoh diencerkan 4 kali untuk mengurangi viskositas cairan. Setelah itu contoh disentrifus dengan kecepatan 2500 rpm selama 30

Lampiran 3. Data hasil penelitian dan penghitungan parameter proses.

Tabel 8. Data hasil hidrolisis pati menggunakan biakan *Bacillus subtilis*

Kost. Pati	Jam	pH	Biomassa (g/l)	Gula (g/l)	Pati sisa (g glukosa/l)
2 %	0	7,01	0,06	0	22,20
	6	7,02	0,27	0,36	15,75
	12	7,40	1,10	0,54	7,74
	18	7,60	1,09	0,92	7,88
	24	7,40	1,12	0,94	8,10
	30	7,50	1,20	2,07	7,36
	36	7,80	1,07	2,80	7,48
4 %	0	7,02	0,04	0	44,40
	6	7,03	0,58	0,36	31,86
	12	7,50	1,34	1,29	23,02
	18	7,30	1,29	2,33	22,97
	24	7,60	1,33	2,63	23,93
	30	7,70	1,78	18,38	10,36
	36	7,60	1,20	15,29	8,87
6 %	0	6,99	0,01	0	66,60
	6	7,01	0,61	0,52	48,69
	12	7,30	1,22	1,06	31,74
	18	7,40	1,19	1,25	30,21
	24	7,60	1,43	3,46	29,39
	30	7,70	1,49	18,17	14,02
	36	7,80	1,31	13,92	8,79
8 %	0	6,99	0,08	0	88,80
	6	7,02	0,18	0,32	66,17
	12	7,40	1,13	0,51	50,38
	18	7,60	1,31	0,88	48,21
	24	7,60	1,11	2,46	41,33
	30	7,70	1,21	14,35	35,19
	36	7,90	1,25	11,48	37,80

Tabel 9. Data hasil fermentasi pada MCT=0

Jam	pH	Biomassa (g/l)	Gula (g/l)	Pati Sisa (g glukosa/l)	Xanthan (g/l)
0	7,01	0,04	1,17	44,40	0,00
8	7,24	0,50	6,60	23,38	1,50
16	7,37	2,00	10,03	18,45	2,80
24	7,57	1,83	9,51	17,37	4,90
32	7,67	1,60	9,63	15,78	8,00
40	7,81	1,40	8,30	12,67	12,00
48	7,70	1,40	6,02	12,31	14,40
56	7,61	1,90	6,95	8,32	21,50
64	7,28	1,90	5,61	10,68	21,50
72	7,03	2,60	2,29	10,18	22,00
80	6,96	1,80	4,19	7,31	18,00
88	6,87	2,00	3,80	7,01	16,00
96	6,63	3,20	3,40	7,28	14,00

Tabel 10. Data hasil fermentasi pada MCT=6

Jam	pH	Biomassa (g/l)	Gula (g/l)	Pati Sisa (g glukosa/l)	Xanthan (g/l)
0	7,02	0,60	1,40	32,30	0,03
8	6,52	0,70	6,71	24,43	1,00
16	6,46	1,20	9,33	12,35	0,80
24	6,67	1,25	7,48	11,77	1,30
32	6,63	3,20	5,15	13,61	1,70
40	6,80	2,50	3,97	12,44	1,80
48	6,90	2,50	4,30	11,03	2,30
56	6,97	2,40	3,06	10,50	2,60
64	6,93	2,20	1,74	12,25	3,50
72	6,99	2,00	1,32	12,03	6,60
80	7,02	2,30	0,90	10,90	9,20
88	7,00	2,55	0,71	9,30	7,50
96	7,12	2,10	0,94	8,13	8,20

Tabel 11. Data hasil fermentasi pada MCT=24

Jam	pH	Biomassa (g/l)	Gula (g/l)	Pati Sisa (g glukosa/l)	Xanthan (g/l)
0	7,32	1,29	11,27	21,49	0,00
8	7,64	1,67	10,80	21,69	9,00
16	6,83	1,83	9,05	23,01	8,90
24	7,33	1,92	10,31	18,59	7,60
32	7,42	2,00	9,66	18,37	9,80
40	7,11	2,13	1,47	16,96	13,10
48	7,13	2,26	0,31	14,04	12,80
56	6,86	2,19	1,93	11,65	14,20
64	6,84	2,01	1,76	12,05	16,70
72	6,87	2,10	2,02	11,24	10,80
80	6,63	2,50	0,52	12,59	17,80
88	6,64	2,42	0,44	11,08	17,40
96	6,62	2,22	0,41	11,00	16,20

Tabel 15. Data hasil perhitungan parameter kinetika pada MCT=0

Waktu t	Biomassa		Substrat		Produk		Perhitungan						
	X	0,036	S	44,4	P	0	$X/(X_s - X)$	$\ln(X/(X_s - X))$	$(P - P_0)/(X - X_0)$	$(S_0 - S)/(X - X_0)$	$X_s/(X - X_0)$	$\{ \ln(X_0/X) / \mu \} + 1$	$\{ X_s(X - X_0) \} \{ \ln(X_0/X) / \mu \} + 1$
8	0,5	23,386	1,5	0,333	1,5	0,333	-3,999	-1,099	3,233	14,009	4,310	1,000	-24,184
16	1,83	18,45	2,8	10,765	2,8	10,765	2,376	1,561	2,495	5,516	1,115	-8,871	-9,889
24	2	17,37	4,9		4,9				5,115	3,578	1,279	-9,094	-9,261
32	1,6	15,72	8		8				8,798	2,644	1,466	-8,533	-10,912
40	1,4	12,67	12		12				10,557	2,228	1,466	-8,198	-12,020
48	1,4	12,31	14,4		14,4				11,534	1,678	1,073	-8,965	-12,020
56	1,9	8,32	21,5		21,5				11,534	1,568	1,073	-8,965	-9,619
64	1,9	10,68	21,5		21,5				8,580	1,555	0,780	-9,753	-9,619
72	2,6	10,185	22		22				10,204	2,060	1,134	-8,829	-7,608
80	1,8	7,314	18		18				8,147	2,337	1,018	-9,094	-10,010
88	2	7,016	16		16				4,425	2,651	0,632	-10,275	-9,261
96	3,2	7,282	14		14								-6,495

*) Plot $\ln [X / (X_s - X)]$ terhadap t menghasilkan $Y = 0,398 t + 4,09493 \rightarrow \mu = \text{slope} = 0,398$

*) Plot $\frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu} + 1 \right]$ terhadap $\frac{(P - P_0)}{(X - X_0)}$ menghasilkan persamaan regresi $Y = 9,238 + 0,188 X$
 $\alpha = \text{konstanta} = 9,230$
 $\beta = \text{Slope} = 0,188$

*) Plot $\frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu} + 1 \right]$ terhadap $\frac{(S - S_0)}{(X - X_0)}$ menghasilkan persamaan regresi $Y = -3,165 - 0,665 X$
 $A = \text{konstanta} = -3,166$
 $B = \text{Slope} = -0,665$

Tabel 16. Data hasil perhitungan parameter kinetika pada MCT=6

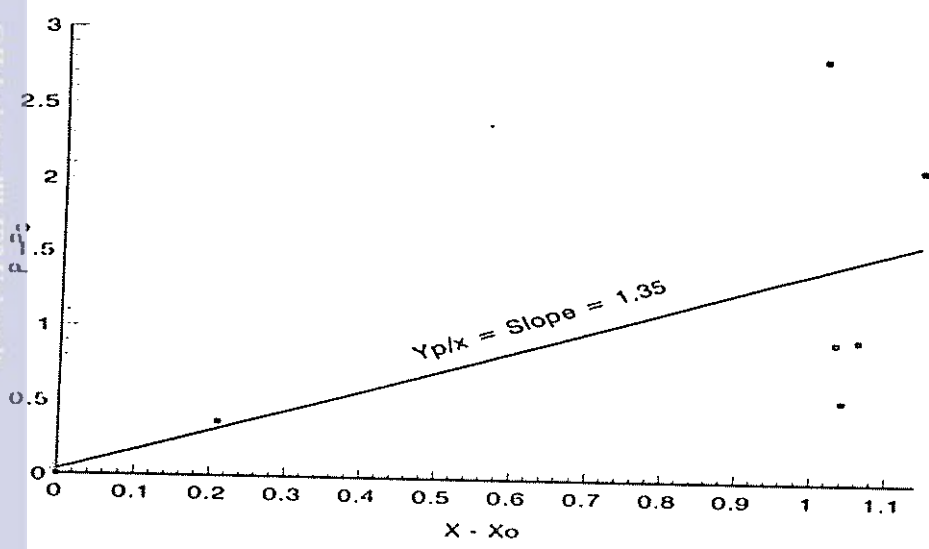
Waktu t	Biomassa X	Substrat S	Produk P	Perhitungan							
				$X/(X_s-X)$	$\ln\{X/(X_s-X)\}$	$(P-P_0)/(X-X_0)$	$(S_0-S)/(X-X_0)$	$X_s/(X-X_0)$	$\{[\ln(X_0/X)/\mu]+1\}$	$\{X_s/(X-X_0)\}\{[\ln(X_0/X)/\mu]+1\}$	
0	0,6	32,304	0,03	0,231	-1,466						
8	0,7	24,434	1	0,280	-1,273	9,700	78,700	32,000	1,000		
16	1,2	12,354	0,8	0,600	-0,511	1,283	33,250	5,333	-2,211		-70,767
24	1,25	11,775	1,3	0,641	-0,445	1,954	31,583	4,923	-13,441		-71,683
32	3,2	13,614	1,7						-14,291		-70,356
40	2,5	12,44	1,8			0,642	7,188	1,231	-33,875		-41,692
48	2,5	11,037	2,3			0,932	10,455	1,684	-28,732		-48,390
56	2,4	10,505	2,6			1,195	11,193	1,684	-28,732		-48,390
64	2,2	12,254	3,5			1,428	12,111	1,778	-27,881		-49,566
72	2	12,03	6,6			2,169	12,531	2,000	-26,068		-52,137
80	2,3	10,901	9,2			4,693	14,481	2,286	-24,083		-55,046
88	2,55	9,301	7,5			5,394	12,590	1,882	-26,994		-50,813
96	2,1	8,137	8,2			3,831	11,796	1,641	-29,144		-47,826
						5,447	16,111	2,133	-25,099		-53,545

*) Plot $\ln [X / (X_s - X)]$ terhadap t
menghasilkan $Y = 0,042 t - 1,498$ $\rightarrow \mu = \text{slope} = 0,048$

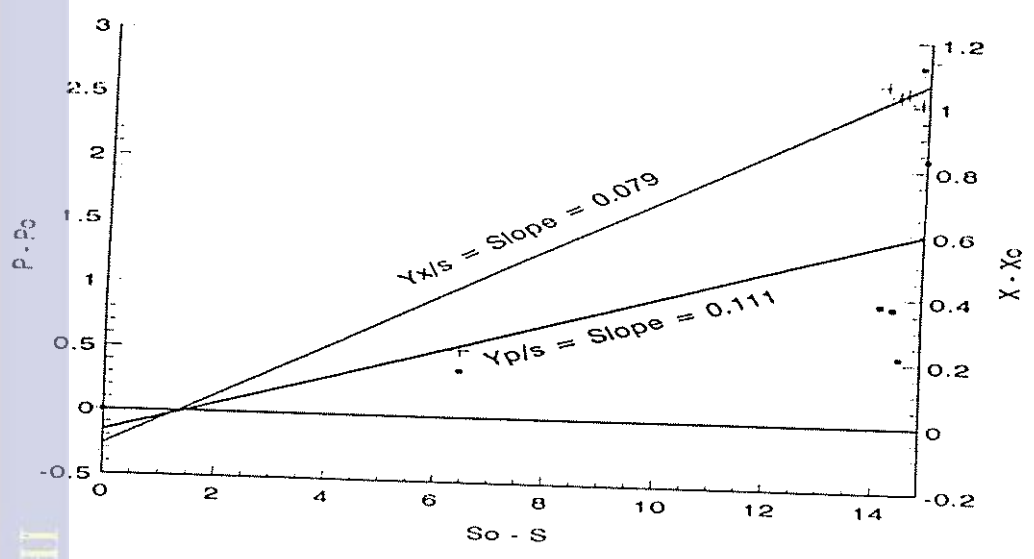
*) Plot $\frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu} + 1 \right]$ terhadap $\frac{(P-P_0)}{(X-X_0)}$
menghasilkan persamaan regresi $Y = -2,072 - 0,096 X$
 $\alpha = \text{konstanta} = -2,072$
 $\beta = \text{Slope} = -0,096$

*) Plot $\frac{X_s}{X - X_0} \left[\frac{\ln (X_0/X)}{\mu} + 1 \right]$ terhadap $\frac{(S-S_0)}{(X-X_0)}$
menghasilkan persamaan regresi $Y = -64,989 - 1,562 X$
 $A = \text{konstanta} = -64,989$
 $B = \text{Slope} = -1,563$

Grafik penghitungan parameter Y_p/x pada hidrolisis pati 2%



Grafik penghitungan parameter Y_p/s dan Y_x/s pada hidrolisis pati 2%

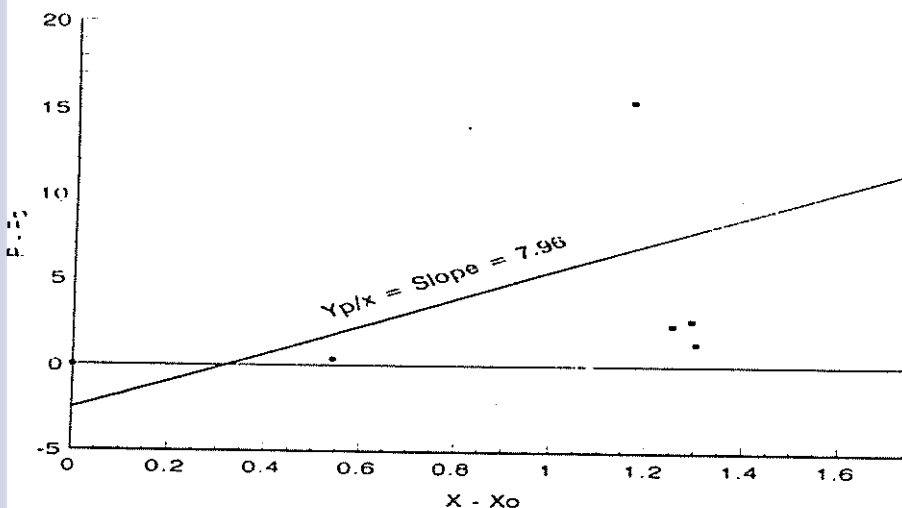


Grafik cipta milik IPB University

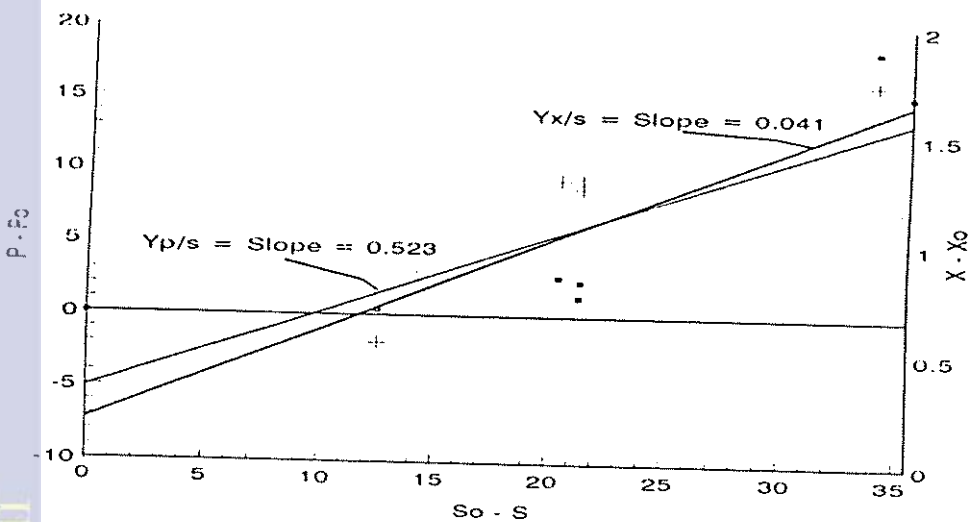
IPB University

Halo, saya sedang mencari...
 1. Ditanya: ...
 2. Ditanya: ...
 3. Ditanya: ...
 4. Ditanya: ...
 5. Ditanya: ...
 6. Ditanya: ...
 7. Ditanya: ...
 8. Ditanya: ...
 9. Ditanya: ...
 10. Ditanya: ...

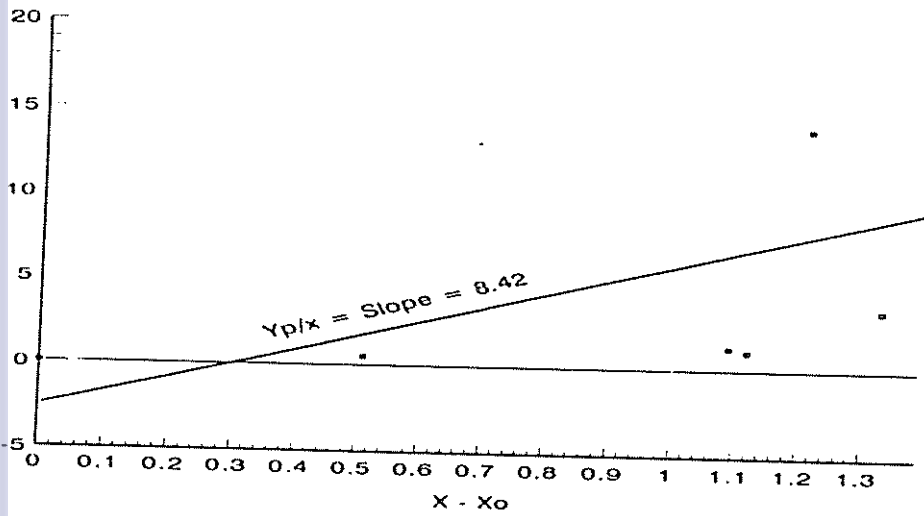
Grafik penghitungan parameter Y_p/x pada hidrolisis pati 4%



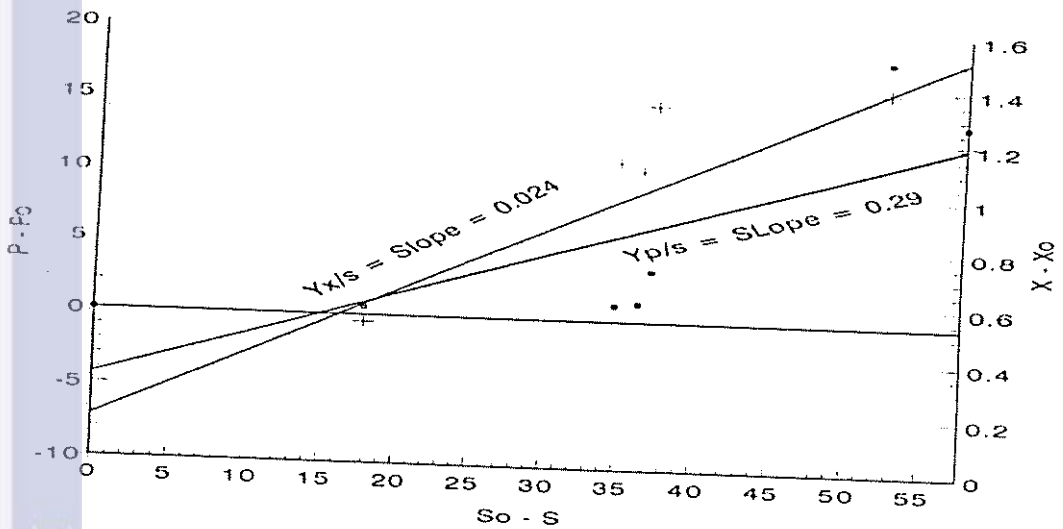
Grafik penghitungan parameter Y_p/s dan Y_x/s pada hidrolisis pati 4%



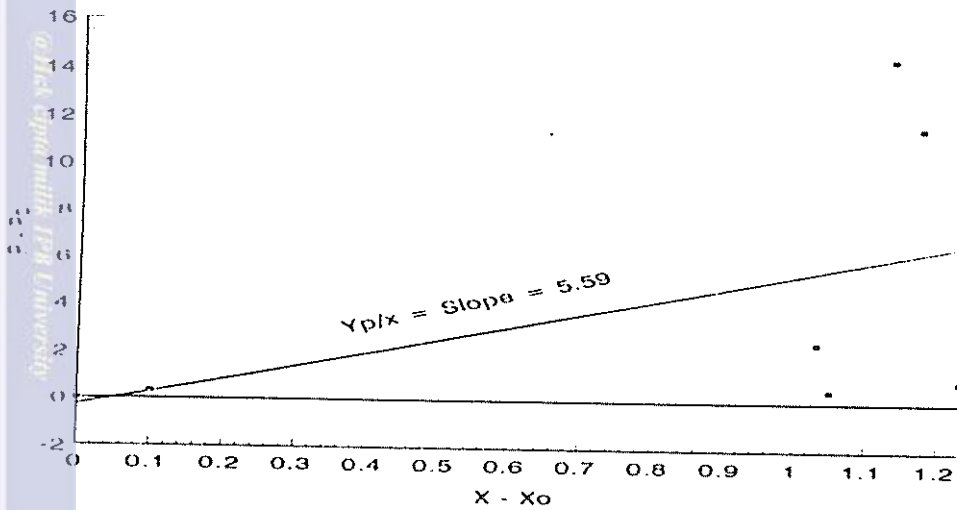
Grafik penghitungan parameter Y_p/x pada hidrolisis pati 6%



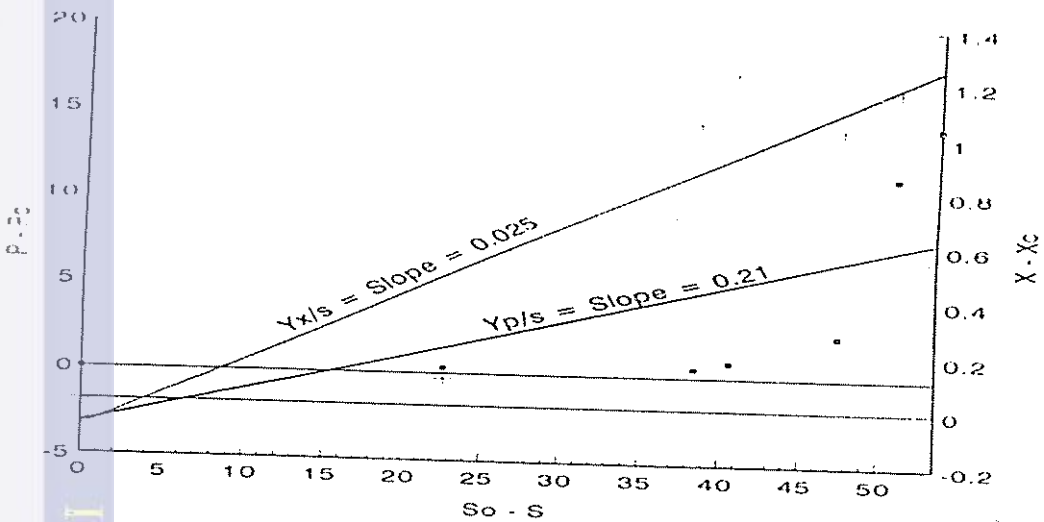
Grafik penghitungan parameter Y_p/s dan Y_x/s pada hidrolisis pati 6%



Grafik penghitungan parameter Y_p/x pada hidrolisis pati 8%



Grafik penghitungan parameter Y_p/s dan Y_x/s pada hidrolisis pati 8%



Lampiran 8g. Arus kas investasi 15 000 botol/jam bertahap pada permintaan tinggi kemudian rendah

URAIAN	TAHUN				
	0	1	2	3	4
Produksi (krat)		2834696	3890250	3102863	4220403
Hasil penjualan (Rp)		10,204,905,600.00	14,004,900,000.00	11,170,306,800.00	15,193,450,800.00
Pajak penjualan (5%)		510,245,280.00	700,245,000.00	558,515,340.00	759,672,540.00
Penerimaan		9,694,660,320.00	13,304,655,000.00	10,611,791,460.00	14,433,778,260.00
Investasi	8,971,576,000.00		8,971,576,000.00		
Biaya operasional		4,274,219,400.00	5,336,489,400.00	5,965,582,800.00	7,090,231,800.00
Angsuran pinjaman		1,341,250,612.00	1,288,766,892.40	2,577,533,784.80	2,472,566,345.60
Laba sebelum pajak	(8,971,576,000.00)	4,079,190,308.00	(2,292,177,292.40)	2,068,674,875.20	4,870,980,114.40
Pajak penghasilan					
Tarif 10%		2,500,000.00		2,500,000.00	2,500,000.00
Tarif 15%		7,500,000.00		7,500,000.00	7,500,000.00
Tarif 30%		1,201,257,092.40		598,102,462.56	1,438,794,034.32
Laba sesudah pajak	(8,971,576,000.00)	2,867,933,215.60	(2,292,177,292.40)	1,460,572,412.64	3,422,186,080.08
Nilai sisa barang					
Arus penerimaan bersih	(8,971,576,000.00)	2,867,933,215.60	(2,292,177,292.40)	1,460,572,412.64	3,422,186,080.08

NPV = 15,200,246,785.00

Lampiran 8g. lanjutan

URAIAN	TAHUN				
	5	6	19	20
Produksi (krat)	5337942	6455740	7780500	7780500
Hasil penjualan (Rp)	19,216,591,200.00	23,240,664,000.00	28,009,800,000.00	28,009,800,000.00
Pajak penjualan (5%)	960,829,560.00	1,162,033,200.00	1,400,490,000.00	1,400,490,000.00
Penerimaan	18,255,761,640.00	22,078,630,800.00	26,609,310,000.00	26,609,310,000.00
Investasi				
Biaya operasional	8,214,880,800.00	9,339,790,800.00	10,672,978,800.00	10,672,978,800.00
Angsuran pinjaman	2,367,598,906.40	2,262,631,467.20	898,054,757.60	793,087,318.40
Laba sebelum pajak	7,673,281,933.60	10,476,208,532.80	15,038,276,442.40	15,143,243,881.60
Pajak penghasilan				
Tarif 10%	2,500,000.00	2,500,000.00	2,500,000.00	2,500,000.00
Tarif 15%	7,500,000.00	7,500,000.00	7,500,000.00	7,500,000.00
Tarif 30%	2,279,484,580.08	3,120,362,559.84	4,488,982,932.72	4,520,473,164.48
Laba sesudah pajak	5,383,797,353.52	7,345,845,972.96	10,539,293,509.68	10,612,770,717.12
Nilai sisa barang				1,098,765,200.00
Arus penerimaan bersih	5,383,797,353.52	7,345,845,972.96	10,539,293,509.68	11,711,535,917.12