**Kajian Pembuatan Gula Rendah Kalori Xilitol dari Biomassa Sorgum Merah**

**Silvia Oktavia Nur Yudiastuti**

Program Studi Teknologi Rekayasa Pangan, Politeknik Negeri Jember, Indonesia

***Korespondensi***: [silvia.oktavia@polije.ac.id](mailto:silvia.oktavia@polije.ac.id)

**ABSTRAK**

*Produksi gula rendah kalori xilitol secara bioproses dari biomassa sorgum merah dilakukan melalui dua tahapan yaitu hidrolisis enzimatis biomassa menggunakan enzim xilanase dan fermentasi hidrolisat menggunakan Debaryomyces hansenii ITB CCR85. Biomassa sorgum terdiri atas batang dan daun, malay serta dedak sorgum. Ketiga bagian tersebut memiliki komposisi lignoselulosa yang berbeda serta harga yang berbeda sehingga memiliki nilai tekno ekonomi yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji perbandingan cairan fermentasi xilitol yang diproduksi secara bioproses dari bagian – bagian biomassa sorgum merah. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dan analisis dilakukan menggunakan metode deskriptif. Terdapat 3 perlakuan substrat yang diulang 3 kali dalam penelitian yaitu batang dan daun (a), malay (b) dan dedak (c). Kondisi hidrolisis pada penelitian adalah konsentrasi substrat 15% dan konsentrasi enzim 1% selama 96 jam pada suhu 300C menggunakan metode fed-batch substrat yang diumpan setiap 12 jam. Kondisi fermentasi dilakukan dengan hidrolisat : perbandingan inokulum : media fermentasi = 2 : 2: 3 selama 96 jam pada suhu 300C metode batch. Pengamatan dilakukan pada komposisi lignoselulosa substrat, komposisi hidrolisat, komposisi cairan hasil fermentasi, rendemen hidrolisat, rendemen xilitol dari substrat dan utilitas substrat. Berdasarkan hasil penelitian, dedak mengandung hemiselulosa sebesar 47,83% paling tinggi diantara bagian biomassa lainnya. Setiap bagian biomass mengandung glukosa lebih besar 10% dari xilosa dengan rendemen glukosa lebih besar 50% dari rendemen xilosa. Utilisasi xilosa adalah 100%, meskipun bagian dedak memiliki hemiselulosa paling tinggi tetapi utilitasnya xilosanya paling rendah. Bagian batang sorgum memiliki potensi lebih baik untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan xilitol dibandingkan bagian dedak dan malay sorgum merah sebab memiliki utilitas glukosa paling rendah.*

***Kata Kunci****: Biomassa, Bioproses, Sorgum, Xilitol*

**ABSTRACT**

*The production of low-calorie xylitol sugar by bioprocessing from red sorghum biomass was carried out in two stages, namely biomass enzymatic hydrolysis using xylanase enzymes and hydrolyzate fermentation using Debaryomyces hansenii ITB CCR85. Sorghum biomass consists of stems and leaves, malay and sorghum bran. The three parts have different lignocellulosic compositions and different prices so that they have different techno-economic values. This research aim was to examine the comparison of xylitol in fermentation broth produced by bioprocess from red sorghum biomass parts. The research method used was experimental and the analysis was carried out using descriptive methods. The were three substrate represents as treatment that were repeated 3 times in this research, namely stems and leaves (a), malay (b) and bran (c). The hydrolysis conditions were 15% substrate concentration and 1% enzyme concentration for 96 hours at 300C using the fed-batch method, the substrate was fed every 12 hours. The fermentation conditions were carried out with comparison of hydrolyzate: inoculum ratio: fermentation medium = 2: 2: 3 for 96 hours at 300C batch method. Observations were made on the lignocellulose composition of the substrate, the hydrolyzate composition, the fermented liquid composition, the hydrolyzate yield, the xylitol yield of the substrate and the substrate utility. Based on the results of the study, bran contains hemicellulose by 47.83%, the highest among other biomass parts. Each part of the biomass contains 10% glucose greater than xylose with a glucose yield of 50% greater than the xylose yield. All of biomass had 100% of xylose utilization and although the bran has the highest hemicellulose but it had the lowest xylose utility. Sorghum steam and leaves have better potential to be used as raw material in the manufacture of xylitol compared to bran and malay because they have the lowest glucose utility.*

***Key Words****: Biomass, Bioprocess, Sorghum, Xylitol.*

1. **PENDAHULUAN**

Sorgum merupakan tanaman serealia yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber pangan lokal di Indonesia. Pangan lokal adalah pangan yang diproduksi dan dikembangkan sesuai dengan potensi dan sumber daya wilayah serta budaya setempat 1. Hal ini dikarenakan, sorgum memiliki tingkat adaptasi yang baik terhadap kekeringan, genangan air, dapat tumbuh dengan lahan marginal, serta relatif tahan terhadap hama dan penyakit 2.

Negara miskin memanfaatkan sorgum sebagai sumber karbohidrat utama, namun negara - negara maju dengan sumber bahan pangan melimpah, memanfaatkannya sebagai bahan baku industri dan pakan ternak karena kandungan gizinya yang tinggi. Indonesia sebagai negara berkembang, mengharapkan sorgum dapat menambah ragam diversivikasi sumber karbohidrat serta untuk mensubsitusi terigu guna mengurangi impor terigu. Harga sorgum dipasar lokal masih terbilang tinggi, karena masih rendahnya minat masyarakat untuk megkonsumsi sorgum sehingga sorgum hanya dibudidayakan petani lokal tertentu (Tabel 1).

Tabel 1. Daftar Harga Jual Sorgum di Pasar Dayeuh Kolot Kota Bandung Provinsi Jawa Barat

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | Bagian Sorgum | Harga (Rp/Kg) |
| 1 | Beras | 22.000; |
| 2 | Tepung | 22.000; |
| 3 | Dedak | 10.000; |
| 4 | Batang dan Daun | 2.000; |
| 5 | Malay | 2.000; |

Sumber : Pengamatan Data Empirik, 2017.

Peningkatan minat akan budidaya sorgum perlu diimbangi dengan prospek produk utama sorgum yaitu beras dan tepung sorgum, serta produk fungsional lain yang dapat diproduksi dari sorgum serta biomassanya. Biomassa sorgum terdiri atas batang dan daun, malay serta dedak sorgum. Biomassa dapat memberikan pemasukan yang besar sebab dihasilkan dalam jumlah yang lebih banyak dari bagian yang dapat dimakan. Biomassa adalah komponen biologis residu dari tumbuhan, hewan, industri, maupun manusia yang dapat diolah kembali menjadi produk yang memiliki nilai tambah lebih dari bahan baku awalnya3. Biomassa tersusun atas komponen lignoselulosa yaitu hemiselulosa, selulosa dan lignin. Ketiga komponen tersebut dapat dihidrolisis menjadi monomer – monomernya seperti xilosa, xilitol, xilooligosakarida, bioetanol, biodiesel, dan biobriket4.

Xilitol adalah bahan pangan yang termasuk dalam golongan gula alkohol (poliol). Di pasar dunia penggunaan xilitol dibandingkan gula alkohol lainnya adalah sebanyak 12% 5. Senyawa ini termasuk dalam golongan pangan fungsional yaitu pangan alamiah atau pangan yang telah diperkaya baik utuh, senyawa ataupun komponen yang memberikan efek positif bagi kesehatan jika dikonsumsi sebagai bagian dari menu pangan secara teratur pada takaran yang efektif. Xilitol dalam tubuh diserap dari usus kecil melalui difusi pasif dan sebagian besar dimetabolisme di hati. Konsumsi xilitol menyebabkan peningkatan yang lebih kecil pada glukosa plasma dan konsentrasi insulin daripada konsumsi glukosa pada pria sehat dan penderita diabetes 6

Xilitol diproduksi dari hidrolisis kayu *birch* menggunakan katalis logam, tentunya membutuhkan biaya produksi yang sangat tinggi. Harga xilitoldi pasar internasional tergantung dari tingkat kemurniannya, untuk harga xilitol dengan kemurnian 99% dapat mencapai 32,5 USD/5 g 7. Harga xilitol dengan tingkat kemurnian yang lebih beragam, banyak dikuasai oleh produsen dari Cina yang mematok harga dari 100 - 256 USD/Kg 8. Meskipun harganya cukup fantastis, namun permintaan akan xilitol untuk industri makanan dan farmasi semakin meningkat dan diharapkan harganya lebih rendah dibandingkan yang lain. Indonesia berpotensi sebagai negara pengekspor xilitol, mengingat xilitol dapat dihasilkan dari dehidrogenasi xilosa yang diperoleh dari hidrolisis hemiselulosa dari limbah pertanian, perkebunan dan perhutanan yang jumlahnya sangat melimpah.

Ketersediaan xilitol yang belum memadai dan tingginya biaya produksi mendorong pencarian bahan dan metode yang dapat menekan biaya produksi agar harga jual lebih rendah. Tingginya kandungan hemiselulosa dalam Biomassa Sorgum Merah memungkinkan diproduksinya xilitol dari bahan tersebut. Produksi xilitol menggunakan metode bioproses diharapkan dapat memenuhi tuntutan pasar akan xilitol dengan nilai yang lebih ekonomis.

Bioproses Xilitol dari biomassa sorgum merah dilakukan secara enzimatis dengan proses hidrolisis menjadi xilosa menggunakan enzim xilanase 9, serta dilanjutkan secara biologis melalui fermentasi hidrolisat menjadi xilitol menggunakan khamir *Debaryomyces hansenii ITB CCR85* yang mampu menfermentasi hidrolisat dengan rendemen lebih banyak 10. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji perbandingan pembuatan xilitol yang diproduksi secara bioproses dari bagian – bagian biomassa sorgum merah mengingat setiap biomassa tersebut memiliki harga dasar (Tabel 1) dan komposisi lignoselulosa yang berbeda.

1. **METODOLOGI**

Metode penelitian yang digunakan adalah metode percobaan (*eksperimental*) yang dianalisis menggunakan metode deskriptif. Pada penelitian ini menggunakan tiga perlakuan bagian biomassa sorgum merah yang diulang tiga kali yaitu :

a = batang dan daun

b = malay

c = dedak

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan, Keteknikan Pengolahan Pangan, Mikrobiologi Pangan, dan Kimia Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran; Laboratorium Bioteknologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran; serta Laboratorium Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Cibinong-Bogor. Penelitian dilakukan pada Bulan Agustus 2017 – Maret 2018.

Bahan yang digunakan adalah biomassa sorgum merah lokal Bandung yang berasal dari petani “Supardi Abah Sorgum” Dayeuh Kolot Bandung Jawa Barat, Enzim Xilanase (aktivitas 340 U/G) yang diperoleh dari perusahaan Xi`an Haoxuan Bio-tech Co., Ltd Kota Xian provinsi Shanxi Cina. Bahan Penunjang yang digunakan adalah buffer asetat 0,01M pH 5, aquades, media GYE (*Glucose Yeast Extract*) Agar, media fermentasi xilitol 9, dan khamir *Debaromycess hansenii ITB CCR85.* Alat yang digunakan adalah beaker glass, erlenmeyer, inkubator shaker, sentrifugasi, tabung reaksi, ose, autoklaf, refrigerator, desikator, oven, HPLC, kertas saring, vakum filter.

**Hidrolisis Biomassa Sorgum Merah Lokal Bandung**

Biomassa - biomassa sorgum merah yang akan digunakan dalam penelitian dicuci dengan air keran, dicacah dan dikeringkan menggunakan oven cabinet selama 18 jam pada suhu 1050C. Biomassa sorgum merah yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan saringan 100 mesh. Analisa kandungan lignoselulosa pada biomassa sorgum merah yang digunakan dilakukan menggunakan metode Chesson (1981).

Larutan substrat dalam buffer asetat disterilisasi basah sebelum dihidrolisis sebagai perlakukan awal. Konsentrasi substrat yang digunakan dalam penelitian adalah 15% dengan konsentrasi enzim 1%. Hidrolisis dilakukan dengan metode *fed-batch* selama 96 jam menggunakan inkubator shaker, umpan substrat dilakukan setiap 12 jam 11.

**Fermentasi Hidrolisat Biomassa Sorgum Merah Lokal Bandung**

Hidrolisat setelah hidrolisis disentrifugasi untuk memisahkan ampas hidrolisis, supernatan sebagai larutan hidrolisat disaring. Larutan hidrolisat selanjutnya disterilisasi basah dengan autoclave pada suhu 1210C selama 15 menit sebagai perlakuan awal fermentasi, yang sebelumnya diuji komposisinya dengan instrument HPLC. Persiapan fermentasi xilitol dimulai dengan membuat larutan inokulum *D. hansenii ITB CCR85* menggunakan nutrient fermentasi (9) dengan penambahan 2% xilosa. Inokulum diinkubasi selama 48 jam pada suhu 300C menggunakan inkubator shaker. Larutan inokulum harus mengandung sebanyak minimal 2x107 CFU/mL *D.hansenii ITB CCR85.*

Larutan hidrolisat yang telah difermentasi beserta larutan inokulum hasil inkubasi kemudian dilarutkan dalam media fermentasi dengan perbandingan 2 : 2 : 3. Fermentasi dilakukan pada suhu 300C selama 96 jam menggunakan inkubator shaker. Hasil fermentasi hidrolisat selanjutnya disentrifugasi untuk memisahkan biomassa *D.hansenii ITB CCR85* dan selanjutnya supernatan disebut sebagai larutan xilitol. Larutan xilitol selanjutnya diuji komposisinya menggunakan HPLC.

**Analisis Lignoselulosa (Chesson, 1981)**

Satu gram sampel kering (ma) ditambahkan akuades 75 mL lalu direfluks selama 1 jam dalam *waterbath* suhu 100oC. Campuran kemudian disaring dan dicuci air panas sebanyak 4 kali volume refluks. Residu dikeringkan dalam oven dengan suhu 105oC hingga berat konstan (mb). Residu direfluks dengan 75mL H2SO4 1N selama 1 jam dalam *waterbath* pada suhu 100oC, selanjutnya disaring dan dicuci dengan air panas sebanyak 4 kali volume refluks. Residu dikeringkan dalam oven dengan suhu 105oC hingga berat konstan (mc). Residu direndam 50mL H2SO4 72% selama 4 jam pada suhu ruang selanjutnya ditambahkan 75mL H2SO4 1N sebanyak 75 mL dan direfluks selama 1 jam dalam *waterbath* pada suhu 100oC. Hasil refluks disaring dan dicuci dengan air panas sebanyak 4 kali volume refluks. Residu dikeringkan pada suhu 105oC hingga berat konstan (md). Residu diabukan hingga berat konstan (me).

Kadar Hemiselulosa = ((mb-mc)/ma) \* 100% …….(1)

Kadar Selulosa = ((mb-mc)/ma) \* 100% …….(2)

Kadar Lignin = ((mb-mc)/ma) \* 100% …….(3)

**Aktivitas Enzim Xilanase (NREL, 2007)**

Serbuk enzim xilanase, akuades steril dan xilan 1% dilarutkandengan perbandingan 1 : 1 : 1, selanjutnya dengan perbandingan sama ditambahkan buffer asetat pH 5. Larutan tersebut diinkubasi dalam waterbath selama 15 menit pada suhu 400C. Reaksi dihentikan dengan penambahan DNS (3 bagian dari perbandingan awal larutan), larutan dilanjutkan untuk dipanaskan dalam waterbath selama 5 menit. Larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 550nm. Nilai absorbansinya dikonversi menjadi aktivitas enzim dengan persamaan :

........(4)

Dengan :

U = aktivitas enzim (U/mL atau µmol/(menit, mL))

Ksp = Kadar xilosa sampel (mg/mL)

Kks = kadar xilosa blanko (mg/mL)

1000 = faktor konversi dalam µmol

Fp = faktor pengenceran enzim xilanase

BMxilosa = berat molekul xilosa (150,13 g/mol)

t = waktu inkubasi (menit)

V = volume enzim digunakan dalam analisis (mL)

**Uji Komponen dengan HPLC (NREL, 2006)**

Persiapan uji dilakukan dengan tahapan persiapan pembuatan fase gerak (pelarut), pembuatan larutan induk (xilosa, xilitol, glukosa, etanol, gliserol dan asam asetat), pembuatan deret larutan standar (xilosa, xilitol, glukosa, etanol, gliserol dan asam asetat), pembuatan larutan sampel, dan penyiapan instrument HPLC. Instrumen HPLC dikondisikan dengan: fasa gerak dengan sistem elusi gradien dengan kondisi; Kolom jenis HPX-87H, Detektor RID, Temperatur Kolom 60 °C, Temperatur Detektor 40 °C, Panjang gelombang 560 nm, Laju alir 0,6 mL/menit, Volume injeksi 20 μL.

**Rendemen Hidrolisat Biomassa Sorgum (Yudiastuti dkk, 2018)**

Rendemen dihitung dari jumlah xilosa dan glukosa maksimun yang diperoleh dari konversi hemiselulosa dengan faktor konversi hemiselulosa dari lignoselulosa yaitu 88% dan faktor konversi selulosa yaitu 90%. Persamaan untuk rendemen xilosa dan glukosa sebagai berikut 11 :

Maksimum Xilosa konversi dari Hemiselulosa = (gr sampel/volume kerja hidrolisis) x Hemiselulosa sampel ….(5)

Rendemen Xilosa = ([Xilosa] hidrolisat/ Maksimum Xilosa konversi dari Hemiselulosa) x 88% ….(6)

Maksimum glukosa konversi dari Selulosa = (gr sampel/volume kerja hidrolisis) x Selulosa sampel ….(7)

Rendemen glukosa = ([Glukosa] hidrolisat/ Maksimum glukosa konversi dari Hemiselulosa) x 90% ….(8)

**Rendemen Xilitol Terhadap Substrat (Yp/s) (Schuler dan Kargi, 2012)**

Rendemen xilitol merupakan rasio antara konsentrasi xilitol yang dihasilkan fermentasi dengan jumlah konsentrasi substrat xilosa atau substrat glukosa dalam proses fermentasi dengan menggunakan formulasi 12 :

Yp/s (g/g) = [Xilitol]/([Substrat Awal] – [Substrat Akhir]) ………..(9)

**Utilitas Substrat (Schuler dan Kargi, 2012)**

Substrat dalam fermentasi xilitol adalah xilosa dan glukosa, dihitung dengan menggunakan formulasi 12 :

Utilisasi Xilosa (%) = ( ([Xilosa Awal] – [Xilosa Akhir])/ [Xilosa Awal] ) x 100% …….... (10)

Utilisasi Glukosa (%) = ( ([Glukosa Awal] – [Glukosa Akhir])/ [Glukosa Awal] ) x 100% …….... (11)

1. **HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Komposisi Lignoselulosa pada Biomassa Sorgum Merah**

Bagian – bagian biomassa sorgum merah lokal Bandung yang sudah digrinder dan diayak hingga ukuran 100 mesh dianalisis komposisi lignoselulosanya untuk mengetahui rendemen komponen monosakarida dalam hidrolisat sebagai substrat dalam fermentasi xylitol. Analisis komposisi biomassa dilakukan dengan metode Chesson (1981). Hasil analisis biomassa bagian – bagian sorgum merah lokal Bandung disajikkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Lignoselulosa dalam Biomassa Sorgum Merah Lokal Bandung

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Bagian Biomassa | Hemiselulosa (%) | Selulosa (%) | Lignin (%) |
| Batang dan Daun (a) | 27,76 + 0,01 | 34,52 + 0,02 | 18,51 + 0,02 |
| Malay (b) | 40,75 + 0,02 | 34,95 + 0,03 | 5,83 + 0,01 |
| Dedak (c) | 47,83 + 0,02 | 21,96 + 0,01 | 4,78 + 0,01 |

Berdasarkan hasil penelitian, biomassa sorgum merah pada setiap bagiannya memiliki komposisi hemiselulosa yang lebih tinggi dari selulosa dan lignin. Monomer dari hemiselulosa adalah xilosa, sedangkan monomer dari selulosa adalah glukosa. Xilosa adalah substrat dalam fermentasi xilitol, sedangkan glukosa adalah ko-substrat dalam fermentasi xilitol. Komposisi selulosa lebih tinggi dari hemiselulosa pada batang dan daun sorgum, meskipun demikian selulosa memiliki ikatan yang lebih kuat sehingga lebih sulit untuk diuraikan. Narindi melakukan penelitian biokonversi daun sorgum menjadi bioethanol, pada hasil penelitiannya disebutkan bahwa komposisi lignoselulosa dalam daun sorgum adalah 32,9% hemiselulosa; 26,89% selulosa; dan 17,8% lignin 13. Penelitian lain menyebutkan bahwa kandungan lignoselulosa dalam batang sorgum adalah 57,99% hemiselulosa; 19,41% selulosa; dan 14,95% lignin 14.

**Komposisi Hidrolisat Biomassa Sorgum Merah**

Substrat hidrolisis adalah biomassa sorgum merah yang reaksinya dikatalis enzim xilanase teknis. Hasil pengujian menunjukkan aktivitas xilanase yang digunakan adalah 340,3 U/mL. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dapat menghasilkan enzim sebanyak 1 mol permenit. Konsentrasi enzim xilanase yang digunakan adalah 1%, hal ini menyatakan akan terdapat 340,3 mol xilanase beraksi setiap menitnya dalam 100 mL larutan substrat. Kondisi optimum untuk xilanase yaitu 500C kecepatan 200 rpm selama 96 jam (9). Kondisi optimum kerja xilanase, dipertahankan dengan penggunaan bufer asetat dengan pH 5. Asam asetat pada akhir hidrolisis merupakan residu yang perlu diketahui konsentrasinya diakhir proses hidrolisis sebab merupakan inhibitor fermentasi xilitol 11.

Xilosa dan glukosa adalah substrat dan ko-substrat fermentasi xilitol, sehingga jumlahnya perlu diketahui untuk menghitung Rendemen xilitol dan utilitas substrat. Konsentrasi xilosa dan glukosa serta asam asetat pada akhir waktu hidrolisis disajikkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Hidrolisat Biomassa Sorgum Merah Lokal Bandung

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Bagian Biomassa | Xilosa (g/L) | Glukosa (g/L) | Asam Asetat (g/L) |
| Batang dan Daun | 8,8 + 0,007 | 9,3 + 0,025 | 0,8 + 0,017 |
| Malay | 8,9 + 0,006 | 9,5 + 0,016 | 0,5 + 0,067 |
| Dedak | 9,2 + 0,003 | 9,7 + 0,003 | 0,4 + 0,001 |

Berdasarkan Tabel 3, dedak sorgum merah memiliki nilai konsentrasi xilosa dan glukosa lebih tinggi dari bagian biomassa lainnya dengan jumlah residu asam asetat paling rendah diantara bagian biomassa lainnya. Dedak sorgum merah memiliki komposisi hemiselulosa dan selulosa yang lebih tinggi dari bagian biomassa sorgum merah lainnya (Tabel 2) dengan konsentrasi lignin yang rendah. Lignin adalah perekat selulosa dan hemiselulosa, semakin rendah kandungan lignin maka akan semakin mudah suatu biomassa dikonversi menjadi monomer – monomernya 15. Rendemen hasil xilosa dan glukosa turut dievaluasi dalam penelitian dan disajikkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rendemen Hidrolisis Biomassa Sorgum Merah Lokal Bandung

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Bagian Biomassa | Rendemen Xilosa (%) | Rendemen Glukosa (%) |
| Batang dan Daun (a) | 15,1 + 0,028 | 20,2 + 0,001 |
| Malay (b) | 12,9 + 0,013 | 16,4 + 0,000 |
| Dedak (c) | 11,3 + 0,001 | 26,6 + 0,005 |

Nilai jumlah konsentrasi xilosa dalam hidrolisat biomassa sorgum tidak berbanding lurus dengan rendemen xilosa dalam biomassa sorgum merah (Tabel 3 dan Tabel 4). Namun demikian jumlah konsentrasi glukosa dalam hidrolisat berbanding lurus dengan rendemen glukosa dalam biomassa sorgum merah. Rendemen glukosa dan xilosa dalam hidrolisat biomassa sorgum masih dibawah 30% menunjukkan bahwa proses hidrolisis masih dapat dioptimalisasi. Optimalisasi dapat dilakukan pada penambahan konsentrasi sel, penambahan waktu hidrolisis atau meningkatkan konsentrasi substrat biomassa. Kelebihan proses hidrolisis yang dilakukan secara enzimatis adalah spesifik bekerja pada substrat yaitu hemiselulosa dan selulosa. Kelebihan lainnya adalah dapat meminimalisasi zat pengotor yang terbentuk yang dapat menghambat proses konversi dalam hidrolisis dan tahap fermentasi lanjut.

Enzim yang digunakan dalam penelitian adalah xilanase teknis industri yang merupakan enzim campuran yang dapat menghidrolisis gula pentosa dan heksosa. Salah satu produk hidrolisis gula heksosa yang diharapkan terkandung dalam hidrolisat adalah glukosa. Glukosa adalah kosubstrat dalam fermentasi xilitol 9. Keberadaan glukosa dalam hidrolisat adalah suatu hal yang sangat menguntungkan, sebab dapat menurunkan biaya produksi melalui penurunan penambahan glukosa sebagai nutrisi pertumbuhan *D. hasenii ITB CCR85* proses fermentasi xilitol. Enzim xilanase akan memutus ikatan β-1,4 pada rantai xilan secara teratur dan menghasilkan xilooligosakarida, sedangkan selulase akan memutus ikatan β-1,4 pada rantai selulosa menjadi glukosa 16. Hidrolisis dalam penelitian dilakukan secara *fed-batch* dengan tujuan untuk mengurangi kepekatan substrat dalam reaksi padat cair secara bertahap 17 18

**Komposisi Larutan Hasil Fermentasi**

Komposisi komponen dalam larutan hasil fermentasi meliputi xilitol, etanol, gliserol, xilosa dan glukosa. Berdasarkan hasil analisis HPLC, komposisi dalam larutan hasil fermentasi disajikkan pada Gambar 1.

Gambar 1. Komposisi Larutan Hasil Fermentasi Hidrolisat Biomassa Sorgum Merah Lokal Bandung

Secara umum Gambar 1 adalah grafik yang menunjukan bahwa xilosa dikonsumsi oleh sel *D.hansenii ITB CCR85* sehingga jumlahnya tidak terdefinisi diakhir wakti fermentasi. Konsentrasi glukosa berkurang diakhir waktu fermentasi. Pada produk akhir terbentuk senyawa gliserol dan etanol, sel memetabolisme xilosa menjadi gliserol kemudian dikonversi kembali menjadi glukosa untuk selanjutnya menjadi tambahan kosubstrat dalam fermentasi.

Gliserol adalah produk antara dalam fermentasi xilitol, senyawa ini diproduksi oleh *D.hansenii ITB CCR85* dalam kondisi tekanan osmotik yang tinggi 19. Konsentrasi gliserol akan semakin meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi xilosa sebab semakin tinggi tekanan osmotiknya. Gliserol yang diproduksi sel kemudian akan dimetabolisme kembali dalam jalur glukoneogenesis.

Glukoneogenesis membentuk glukosa dari senyawa non karbohidrat seperti gliserol dan protein. Jalan utama dari metabolisme glukoneogesis adalah siklus krebs dan glikolisis. Reaksi ini metabolisme dimulai dari piruvat (kebalikan dari glikolisis). Enzim regulator dalam metabolisme ini adalah PEP (PhospoenolPiruvate), Fruktosa1,6 biofosfat dan Glukosa-6 fosfatase.

Substrat utama glukoneogensis adalah asam amino glukogenik, asam laktat, gliserol dan asam propionat. Hal tersebut menjelaskan terjadinya peningkatan konsentrasi glukosa selama fermentasi. *D.hansenii* akan lebih memproduksi gliserol dibandingkan dengan xilitol dalam substrat dengan kondisi tekanan osmotik yang tinggi. Gliserol dapat digunakan sebagai kosubstrat dalam fermentasi xilitol 19 dengan lebih baik, sebab konsumsi gliserol oleh sel lebih lambat dari glukosa dan dapat meningkatkan QP xilitol 20.

Keterkaitan antara xilitol dengan kesehatan dan gizi adalah bahwa xilitol merupakan gula dengan 5 atom karbon yang memiliki tingkat kemanisan setara sukrosa tetapi memiliki nilai kalori lebih rendah yaitu 2,4 kal/g dibandingkan dengan sukrosa sebesar 4 kal/g 10. Xilitol adalah gula alkohol berantai 5 yang memiliki manfaat bagi kesehatan. Xilitol memiliki efek farmakologis bagi penderita diabetes, karena rendah kalori dan dapat digunakan pada pengobatan karies gigi 6. Konsumsi xilitol secara berlebihan hanya akan menyebabkan diare ringan tanpa dampak kesehatan lainnya 5 sehingga tidak terdapat batasan dalam konsumsi xilitol sebagai pangan harian.

**Rendemen Xilitol Terhadap Substrat (Yp/s) dan Utilisasi Substrat Fermentasi**

Rendemen fermentasi dapat dihitung dari perolehan produk terhadap substrat (Yp/s), perolehan produk terhadap biomassa (Yp/x) serta % utilisasi xilosa sebagai substrat dan glukosa sebagai ko-substrat. Yx/s menggambarkan biomassa yang dihasilkan per jumlah substrat yang dikonsumsi. Biomassa yang dihasilkan ditentukan dengan mengukur berat sel kering (g/L). Yp/s didefinisikan sebagai jumlah produk yang dihasilkan per jumlah substrat yang dikonsumsi. Yp/x menggambarkan jumlah produk yang dihasilkan per biomassa yang dihasilkan. % Utilisasi xilosa dan % utilisasi glukosa merupakan persentase konsumsi xilosa dan glukosa selama fermentasi. Rendemen produk xilitol terhadap konsentrasi substrat xilosa dan ko-substrat glukosa; serta % utilisasi substrat xilosa dan ko-substrat glukosa disajikkan pada Gambar 2.

Gambar 2. Rendemen Hasil Xilitol Terhadap Substrat (kiri) . Utilisasi Substrat Fermentasi Xilitol (kanan)

dari Biomassa Sorgum Merah Lokal Bandung

Berdasarkan Gambar 2, dapat dikatakan bahwa xilosa dikonversi sepenuhnya selama proses fermentasi. Dalam percobaan ini, glukosa sebagai ko-substrat belum sepenuhnya diutilisasi oleh sel selama proses fermentasi. Semakin besar konsentrasi awal glukosa (gambar 1), semakin lama glukosa diutilisasi sel (Gambar 2 kanan). Komposisi glukosa dalam hidrolisat terdapat pada sampel batang dan daun dan utilisasi glukosa paling rendah ditunjukkan oleh hasil fermentasi dengan sampel batang dan daun sorgum merah. Sampel hasil fermentasi dari batang dan daun sorgum merah juga memiliki Yp/s xilosa yang paling rendah dibandingkan sampel dedak dan malay sorgum, hal tersebut menunjukkan bahwa proses glukoneogenesis masih berlanjut untuk mengkonversi glukosa menjadi xilitol dari produk antara gliserol.

Perolehan dan rendemen hasil xilitol terhadap substrat (Yp/s) akan semakin rendah dengan semakin meningkatknya konsentrasi awal xilosa dalam substrat fermentasi. Sebaliknya, semakin tinggi konsentrasi awal xilosa dalam cairan fermentasi, semakin besar perolehan dan rendemen hasil gliserol terhadap substrat (Yp/s) yang didapatkan. Hal tersebut berkaitan dengan meningkatnya tekanan osmotik sel pada konsentrasi awal xilosa yang tinggi. Tekanan osmotik yang tinggi dapat menyebabkan viabilitas sel menurun, hal tersebut menyebabkan konsentrasi perolahan gliserol yang diproduksi pada kondisi tekanan osmotik sel tinggi meningkat dan xilitol yang diproduksi menurun. Hal tersebut sebab sel mengalami fase kematian lebih cepat setelah gliserol diproduksi. Xilitol adalah produk intermediet yang dihasilkan oleh sel khamir, produk akhirnya adalah etanol.

1. **SIMPULAN DAN SARAN**

Batang dan daun sorgum memiliki potensi yang lebih baik digunakan sebagai bahan baku xilitol yang diproduksi secara bioproses dibandingkan dedak dan malay sorgum. Berdasarkan hasil uji biomassa, batang dan daun sorgum memiliki komposisi hemiselulosa lebih rendah dan komposisi xilosa dalam hidrolisat lebih rendah dibandingkan bagian biomassa sorgum merah lainnya, tetapi memiliki rendemen hasil xilosa yang paling tinggi dibandingkan bagian biomassa lainnya. Pertimbangan lain yang menjadikan batang dan daun sorgum lebih baik sebagai bahan baku produksi xilitol secara bioproses adalah nilai utilisasi glukosanya lebih rendah dibandingakn bagian – bagian biomassa lainnya.

Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan kajian lanjut perbandingan konsentrasi antara media fermentasi, substrat dan inokulum untuk menghasilkan xilitol dengan rendemen lebih tinggi dari hidrolisat biomassa sorgum mera; pemurnian larutan xilitol untuk menghilangkan residu fermentasi; serta kajian penelitian sifat fisiko kimia larutan xilitol

**REFERENSI**

1. Noerhartati E, Rahayuningsih T, Studi P, Industri T, Teknik F, Kusuma UW. KARAKTERISASI GULA CAIR BATANG SORGUM ( Sorgum sp.) Characterization of Liquid Sugar Stem Sorghum (Sorghum sp .). 2012;

2. Efri Mardawati, Een Sukarminah, Tino Mutiarawati Onggo, Carmencita T. RI. Pengolahan biji sorgum : menjadi aneka produk pangan [Internet]. Sugeng Praptono, editor. Pustaka Giratuna; 2010. 125 p. Available from: https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=1094084

3. Kong GT. Peran Biomassa Bagi Energi terbarukan, Pengantar Solusi Pemanasan Global yang Ramah Lingkungan. Jakarta: Elex Media Komputindo; 2010. 191 p.

4. McKendry P. Energy production from biomass (part 1): Overview of biomass. Bioresour Technol. 2002;83(1):37–46.

5. Albuquerque TL De, Da Silva IJ, De MacEdo GR, Rocha MVP. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. Process Biochem [Internet]. 2014;49(11):1779–89. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.07.010

6. Kikuko A, Hidekazu A, Takashi U, Makiko F, Megumi K, Hajime S. Effects of xylitol on metabolic parameters and viceral fat accumulation. J Clin Biochem Nutr. 2011;48(2):154–60.

7. SigmaAldrich. Sigma Aldrich Catalog [Internet]. 2020 [cited 2021 Feb 11]. Available from: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=xilitol&interface=All&N=0&mode=match partialmax&lang=en&region=ID&focus=product

8. Alibaba.com. Alibaba Pricelist [Internet]. 2021 [cited 2021 Feb 11]. Available from: https://www.alibaba.com/product-detail/Xylitol-Xylitol-Hot-Sale-High-Quality\_60256679490.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\_offer.d\_title.430edc37lNlKBo&s=p

9. Mardawati E, Werner A, Bley T, Kresnowati M, Setiadi T. The Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunches to Xylose. J Japan Inst Energy. 2014;93:973–8.

10. Kresnowati M, Mardawati E, Setiadi T. Production of Xylitol from Oil Palm Empty Friuts Bunch: A Case Study on Bioefinery Concept. Mod Appl Sci [Internet]. 2015;9(7):206. Available from: http://ccsenet.org/journal/index.php/mas/article/view/50832

11. Yudiastuti S, Mardawati E, Kresnowati M, Bindar Y. Comparative study of glucose and xylose production in enzymatic hydrolysis by batch and fed batch method. J Teknol Pertan. 2018;12(1):79–86.

12. Shuler MK, Kargi F. Bioprocess Engineering : Basic Concept. 2nd ed. Michigan: Prentice Hall International Series; 1992. 476 p.

13. Narindri B, Cahyanto MN. Produksi Bioetanol Daun Sorghum ( Sorghum bicolor L . Moench ). 2016;1(1):44–50.

14. Meganandi A, Ellina K, Teknologi I, Raya J, Surabaya ITS, Teknologi I, et al. Produksi Bioetanol Dari Batang Sorghum bicolor ( L .) Moench Dengan Saccharomyces cerevisiae Dan Konsorsium Saccharomyces cerevisiae - Pichia stipitis. J Purifikasi. 2016;XVI(2):118–29.

15. Chatterjee S, Sharma S, Prasad R, Datta S, Dubey D, Meghvansi M, et al. Cellulase Enzyme based Biodegradation of Cellulosic Materials: An Overview. South Asian J Exp Biol. 2016;5(6):271-282–282.

16. Chardwaj N, Kumar B, Verma P. A Detailed Overview of Xylanase : an emerging biomolecule for curent and future prospective. Bioresour Bioprocess. 2019;40(6).

17. Gao Y, Xu J, Yuan Z, Zhang Y, Liu Y, Liang C. Optimization of fed-batch enzymatic hydrolysis from alkali-pretreated sugarcane bagasse for high-concentration sugar production. Bioresour Technol [Internet]. 2014;167:41–5. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.034

18. Cui M, Zhang Y, Huang R, Su R, Qi W, He Z. Enhanced enzymatic hydrolysis of lignocellulose by integrated decrystallization and fed-batch operation. R Soc Chem [Internet]. 2014;4:44659–65. Available from: http://dx.doi.org/10.1039/C4RA08891C

19. Klein M, Swinnen S, Thevelein J, Nevoigt E. Glycerol metabolism and transport in yeast and fungi : established knowledge and ambiguities.

20. Kogje AB, Ghosalkar A. Xylitol production by genetically modified industrial strain of Saccharomyces cerevisiae using glycerol as co ‑ substrate. J Ind Microbiol Biotechnol. 2017;