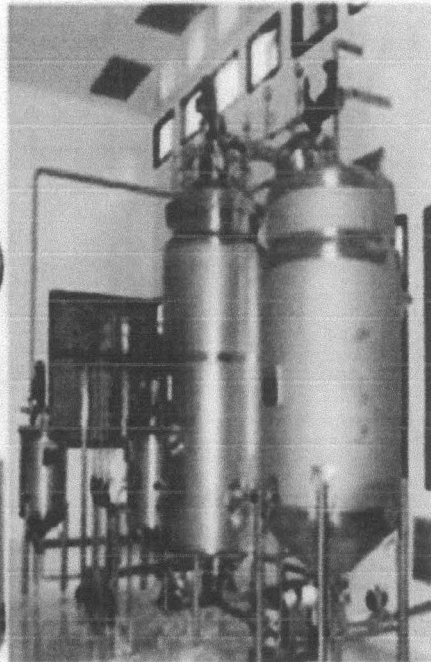
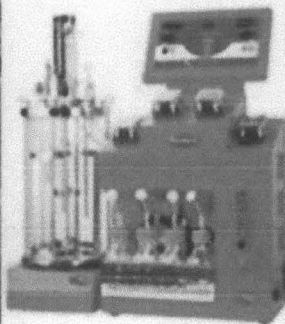
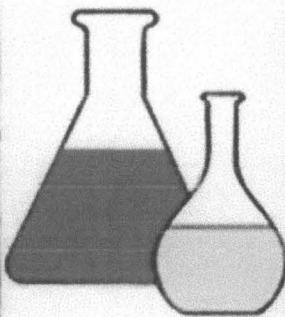
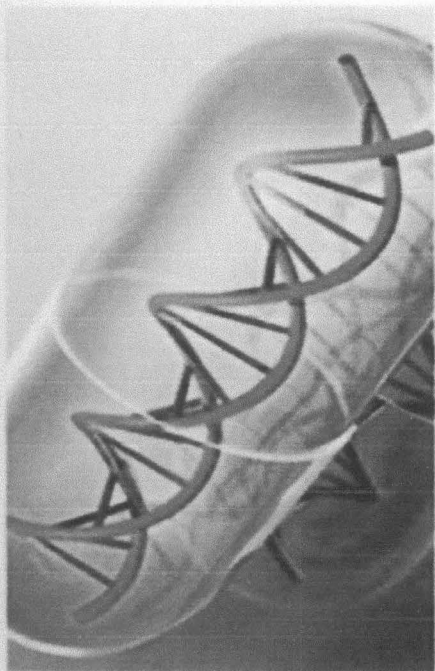




CIEB 2010

Conference on Industrial Enzyme and Biotechnology

Proceeding Enzyme Technology for Eco-Friendly Industry



Serpong, Tangerang
Seminar, 3 August 2010
Workshop, 4 - 6 August 2010

Held by

Supported by



Deutscher Akademischer Austausch Dienst
German Academic Exchange Service



Center for Bioindustrial Technology
Deputy of Technology for Agroindustry and Biotechnology
Agency for the Assessment and Application of Technology (BPPT)

ISBN 978-979-98404-9-3

PROCEEDING:
CONFERENCE ON INDUSTRIAL ENZYMES AND
BIOTECHNOLOGY (CIEB 2010)

Enzyme Technology
for Eco-Friendly Industry

Organized by:

Center for Technology of Bio industry
Government Agency for Assessment and Application of Technology

in cooperation with

Research Center for Sciences and Technology
Ministry of Research and Technology

and

Deutscher Akademischer Austauschdienst (German Academic Exchange Service)

Tangerang, 2010

ISBN 978-979-98404-9-3

PROCEEDING:

**CONFERENCE ON INDUSTRIAL ENZYMES AND
BIOTECHNOLOGY (CIEB 2010)**

**Enzyme Technology
for Eco-Friendly Industry**

Tangerang, Banten 03 August 2010

Edited by:

Budiasih Wahyuntari
Suyanto Pawiroharsono
Siswa Setyahadi
Is Helianti
Trismilah

@ All right reserved

Published by:

**Center for Technology of Bioindustry
Government Agency for Assessment and Application of Technology
(BPPT)
BPPT building 2, 15th floor, Jl. MH Thamrin 8, Jakarta 10340
Telp. 021-316-9513. Fax. 021-316-9510**

2010

Introduction

Enzymes are biocatalysts which accelerate a certain (bio) chemical reaction and found in every cell of all living beings, from simple single cellular organisms to highly complex multicellular organisms. Enzymes play an important role in our live, not only in our own metabolism, but also in other processes sustaining our daily activities. They are used to assist the production of the food we eat and contribute to the care of our health by providing therapeutic agents or sensitive and specific diagnostic tests. Thus it has high commercial and industrial value.

Enzymes also play an important role in 'green industry'. Instead of using more hazardous chemicals, enzymatic process is a more environmentally friendly choice. For example, instead of using chlorine for the bleaching processes, protease is a 'greener' choice for detergent as well as pulp and paper industries.

In addition, products more environmentally friendly processed are now in higher demands, due to tighter environmental regulations, especially in the developed countries. Cases involving rejections of Indonesian exported products by the environmentalists because the manufacturing processes were considered not environmentally friendly should never have occurred, had the decision makers applied stricter laws and had the industrialists had more awareness on environmental issues. Enzymes, therefore, would be one of the answers.

The data from our market research consultant indicated that in 2004 the value of enzyme demand in Asia Pacific was 640 millions US dollar, where 387 millions US dollars is associated with industrial enzymes and 253 US dollars with specialty enzymes used in the pharmaceutical, research and diagnostic fields. Although the pattern is less predictable, Indonesian domestic demands seem to increase quite steadily between 2001-2005, reaching more than 3500 tons in total in 2005. The highest demand seems to be from the detergent industry, consisting on average 15% of total. The rests were used in other industrial sectors, including leather processing, cattle feed, textiles, pulp and paper, as well as food and pharmaceuticals. Unfortunately, the whole amount is still completely imported.

Considering the ever increasing application of enzymes in industries, worldwide as well as domestically, it is only reasonable that researchers in the field of biocatalysts as well as decision makers start to think about this problem. In Indonesia, where industries are not yet closely linked with the research and academic world, research products would always be merely research products unless the decision makers assert their authority in policy making, supporting the application of domestic research products in national industries. Therefore, in order to bring the industrialists, enzyme researchers and decision maker closer together, we organised the Conference on Industrial Enzyme Biotechnology 2010 (CIEB 2010), which was held in Tangerang on 3 – 6 August 2010, with title **Enzyme Technology for Eco-Friendly Industry**.

Tangerang, 3 August 2010

Director of
Center for Bioindustrial Technology

Witono Basuki

Content

	page
Introduction	iii
List of content	iv
Industrial Enzyme Production in Bacteria: Genetics and Strain Improvement Friedhelm Meinhardt	viii
Bioconversion: From Biomass to Chemicals and Products Klaus-Dieter Vorlop, Frank Schuchardt, Heinz Stichnothe, Thomas Willke	ix
Current State of Enzyme Research in Indonesia Maggy Thenawidjaja Suhartono	xix
P-01 Isolation and Identification of Thermophilic Cellulase-Producing Bacteria from Merapi Volcano Crater In West Sumatera Jamsari, Yusniwati, Aswaldi Anwar, Benni Ismul Huda	1
P-02 Isolation Of Thermostable –Amylase From Thermophilic Bacteria Of Sonai Hot Spring South East Sulawesi Sapto Raharjo, Andi Noor Kholidhasyarifin, L.M. Ramadhan, Prima Endang, S	7
P-03 Screening for cellulase producing bacteria from Takifugu rubripes fish Dian Andriani, Bambang Prasetya, Don Hee Park	17
P-04 Screening of Thermostable Cellulase and Xylanase Producing Microorganisms Prima Endang Susilowati; Sapto Raharjo; Ardiansyah, Rahmawati Rahim, Sarni Marwanti, Ahmad Zaeni	24
P-05 Selection of Trypsin like protease producing lactic acid bacteria and characterization of the enzyme Dyah Wulansari, Budiasih Wahyuntari	30
P-06 Characterization of Alkalo-thermophilic Xylanase Producing Bacteria isolated from Rokan Hulu, Riau Shafa Noer, Yulneriwarni; Trismilah	37
P-07 Screening of Enzyme Activity among Fungal and Bacterial Isolates as Biocontrol Agent of Clubroot Disease (Plasmodiophora brassicae) on Cabbage (Brassica oleraceae). Baharuddin, Tutik Kuswinanti and Gusmiaty	47
P-08 Xylooligosaccharides Production from Corn cob Xylan using Streptomyces costaricanus 45I-3 Enzyme. Anja Meryandini ¹ , Titi Candra Sunarti ² , Emma Mauren Moko ³	52
P-09 Potential of Algal Biomass for Biodiesel Producing Through Enzymatic Transesterification of Microalgal Fatty Acids Joko Sulisty, Rita Dwi Rahayu and Yati Sudaryati Soeka	60

P-10	Optimalization of chitinase production by <i>Bacillus</i> sp C15 and characterization of the enzyme	70
	Ruby Setiawan, Budiasih Wahyuntari	
P-11	Optimization of Aeration and Cosubstrate addition in Xilose Bioconversion into Xilitol by <i>Candida Tropicalis</i>	78
	Laksmi Ambarsari, Suryani, Fransiska Eka Handayani	
P-12	Optimization Of Na-Alginate And Cacl2 Concentration For Immobilized Cell <i>Candida Tropicalis</i> In Xylitol Production	84
	Suryani, Laksmi Ambarsari, Dyta Hismayanti	
P-13	The effect of Trichlorfon on Cholinesterase Activity of Different Organs of Blue Mussel, <i>Mytilus edulis</i> .	91
	K. Yaqin and P.-D. Hansen	
P-14	The Effect of Yoghurt Therapy on Profile and Activity of Digestive Enzyme (Protease, Lipase and Sucrase) Exposed by Formaldehyde on <i>Rattus novergicus</i> Jejunum	101
	Ika Rahmatul Layly, Aulanni'am, Chanif Mahdi	
P-15	The Improvement of L-arabinose isomerase local <i>Geobacillus stearothermophilus</i> Acidic tolerance for Tagatose Industrialization by Site-Directed Mutagenesis of Glu-269	125
	Dewi Fitriani, Lita Triratna and Budi Saksono	
P-16	Cyclodextrin Glycosyl Transferase Synthetic Gene of <i>Bacillus</i> sp A2-5a: Overexpression in <i>Escherichia coli</i> and Characterization of the product	130
	Catur Riani, Akhmad Muchlisin, Casilawati, Debbie Sofie Retnoningrum	
P-17	Cloning phytase gene of <i>Kliebsella pneumonia</i> asr1 into <i>e.coli</i> bl21 (de3) and characterization of the enzyme	135
	Adi Magna Patriadi Nuhriawangsa, Zaenal Bachruddin, Sajidan, Ali Wibowo	
P-18	Cloning Of Thermostable Dna Polymerase Gene From A Thermophilic <i>Brevibacillus</i> Sp. Isolated From Sikidang Crater, Dieng Plateu, Central Java	144
	Lucia Dhiantika Witasari, Irfan Dwija Prijambada, Jaka Widada	
P-19	Characterization of Bioelectrochemical Electrode of <i>Phanerochaete chrysosporium</i> Flavin Domain Cellobiose Dehydrogenase Recombinant (PcCDH), Substrate Affinity, Optimum pH and Storage Stability	154
	Desriani, Stefano FERRI, Koji SODE	
P-20	Application of Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Early Detection of PLRV, PVX and PVY on Atlantic Variety Potato seed Generation 0 (G0) and Generation 2 (G2)	155
	Tutik Kuswinanti, A. Masniawati, Ade Rosmana dan Baharuddin	
P-21	The Use of Molecular Technique in Cathecin Concentration Diagnosis of <i>Uncaria gambir</i> Roxb	160
	Istino Ferita ¹ , Jamsari, Irfan Suliansyah, Gustian, Hamda Fauza, dan Yusniwati	

¹ Corresponding author, istinoferita@yahoo.com

P-22	Detection of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Ae. albopictus</i> Virus in Dengue Fever Endemic in Padang City using Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction Method (RT-PCR)	
	Hasmiwati, Dahelmi, Nurhayati	167
P-23	Potential for Protein Deposition in Different Broiler Genotypes Depending on Age	
	Samadi	176
P-24	Lovastatin Content Production By Mutan Of <i>Aspergillus Terreus</i> Using Solid Fermentation Process And Liquid Fermentation Process	
	Triana Rizna Dewi, Ade Sumiardi, Susi Purwasih	181
P-25	Effect Of Fermentation With Addition Starbio Probiotics On Nutrient Content Of Rice Straw (<i>Oryza Sativa</i> L)	
	Ade Sumiardi, Susi Herinawati	190
P-26	Some Methods to Detect the Ecotoxic of Agrochemicalson Microbial Activity in Soil	
	Ferisman Tindaon	198
P-27	The Uptake of Cadmium Ions and Its Influence on The Growth and Production of Some Secondary Metabolites in Shoot Cultures of <i>Solanum melongena</i>	
	Tjie Kok	208
P-28	Chemical Composition Of Essential Oil Of South Sumatran <i>Pittosporum Ferrugineum</i> L Ait.	
	Adek Zamrud Adnan, Zainuddin, Asmadi	215
	ORGANIZING COMMITTEE	216

P-11

Optimization of Aeration and Cosubstrate addition in Xilose Bioconversion into Xilitol by *Candida Tropicalis*

(Biokonversi Xilosa Menjadi Xilitol Melalui Optimasi Aerasi Dan Penambahan Kosubstrat Oleh *Candida Tropicalis*)

Laksmi Ambarsari*, Suryani, Fransiska Eka Handayani

Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Bioconversion of xylose-into-xylitol using *Candida tropicalis* become an alternative method to produce xylitol in low cost and efficient so it can fulfilled the xylitol availability in xylitol trading which is relatively low. The aim of this experiment was to optimize aeration and addition of cosubstrate. Aeration conditions used were 25.0, 32.5, 50.0, 67.5, and 75.0 mL in 125 mL Erlenmeyer flask and co-substrate concentrations added were 15.0, 30.0, 45.0, and 60.0 gl^{-1} . Xylitol concentration was determined by spectrophotometer method at 492 nm. The results showed that, the optimum aeration condition was 75 mL fermentation medium in 125 mL Erlenmeyer flask with xylitol concentration of 6.3790 gl^{-1} . Addition of co-substrate to the fermentation medium decreased the xylitol production 76.82%.

Keywords: Bioconversion, Xylitol, *Candida tropicalis*

Biokonversi xilosa menjadi xilitol menggunakan *Candida tropicalis* menjadi alternatif dalam menghasilkan xilitol dengan biaya murah dan lebih efisien sehingga dapat memenuhi ketersediaan xilitol dalam perdagangan yang relatif rendah. Untuk mempelajari biokonversi xilosa menjadi xilitol telah dilakukan optimasi aerasi dan penambahan kosubstrat. Kondisi aerasi yang digunakan adalah 25.0, 32.5, 50.0, 67.5, dan 75.0 mL dalam labu Erlenmeyer 125 mL, dan konsentrasi kosubstrat yang ditambahkan adalah 15.0, 30.0, 45.0, dan 60.0 gl^{-1} . Pengukuran konsentrasi xilitol ditentukan dengan metode spektrofotometer pada panjang gelombang 492 nm. Hasil analisis menunjukkan bahwa kondisi aerasi optimum adalah 75 mL media fermentasi dalam labu Erlenmeyer 125 mL dengan konsentrasi xilitol 6.38 gl^{-1} . Penambahan kosubstrat ke dalam medium fermentasi menyebabkan produksi xilitol menurun sebesar 76.82%.

Kata kunci: Biokonversi, xilitol, *Candida tropicalis*

PENDAHULUAN

Xilitol merupakan gula alkohol berkarbon lima dengan tingkat kemanisan setara dengan sukrosa tetapi kalorinya 40 % lebih rendah dibandingkan gula lainnya. Senyawa ini sering disebut bahan pemanis alami karena secara alami terdapat di dalam buah-buahan dan sayuran. Sebagai agen pemanis, xilitol telah digunakan dalam makanan sejak tahun 1960 dan produk-produk kesehatan gigi (Kiet *et al.* 2006).

Secara ekonomi xilitol mempunyai harga yang tinggi yaitu \$7 per kg (Leather 2003). Hal ini menyebabkan ketersediaan xilitol dalam perdagangan dunia masih rendah. Namun kebutuhan akan aplikasi xilitol pada industri makanan dan obat-obatan menyebabkan tingginya permintaan untuk memproduksi xilitol dengan harga yang lebih murah. Selama ini xilitol diproduksi secara kimiawi melalui proses reduksi xilosa. Proses kimia ini memerlukan biaya yang tinggi karena suhu dan

* Corresponding author. e-mail: ami_icha@yahoo.com

tekanan yang digunakan dalam reduksi xilosa sangat tinggi, serta diperlukan pemurnian lebih lanjut terhadap xilitol sehingga meningkatkan biaya produksi (Rao *et al.* 2006).

Ketersediaan xilitol yang belum memadai dan tingginya biaya produksi mendorong penggunaan metode lain untuk memproduksi xilitol dengan biaya yang relatif murah dan efisien. Produksi xilitol dengan proses bioteknologi melalui fermentasi dengan memanfaatkan mikroba merupakan salah satu cara yang diharapkan dapat memberikan harapan yang lebih ekonomis dibanding secara kimiawi.

Di dalam penelitian ini dikaji faktor konsentrasi substrat yaitu xilosa dengan konsentrasi 150 g/L, optimasi aerasi, serta penambahan glukosa (kosubstrat). Adapun mikroba yang digunakan adalah khamir (*Candida tropicalis*) yang merupakan kultur koleksi laboratorium Mikrobiologi LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Cibinong.

BAHAN DAN METODE

Peremajaan Kultur

Peremajaan kultur dilakukan sebelum proses produksi dalam media fermentasi dimulai. Prosedur yang dilakukan yaitu pembiakan *C. tropicalis* sebanyak satu ose dalam media YM dengan komposisi (3 g/L ekstrak khamir, 3 g/L ekstrak malt, 5 g/L bacto pepton, dan 20 g/L glukosa). Media tersebut kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Sel diinokulasikan ke dalam media YM steril sebanyak satu ose, kemudian diinkubasi dalam *waterbath* selama 18 jam, dengan pengocokan pada kecepatan 120 rpm, dan suhu 30 °C.

Penentuan Kondisi Aerasi

Sebanyak satu persen dari biakan yang terdapat pada media YM dimasukkan ke dalam media fermentasi dengan komposisi: 150 g/L xilosa, 5 g/L ekstrak khamir, 10 g/L pepton, 0.5 g/L K₂HPO₄, 0.5 g/L KH₂PO₄, 0.5 g/L MgSO₄ · 7H₂O, dan 0.5 g/L amonium sulfat pH 5.0. Selanjutnya sebanyak lima buah labu Erlenmeyer 125 mL disiapkan untuk media fermentasi. Variasi aerasi pada setiap Erlenmeyer diberikan berbeda-beda yaitu 25 mL, 33.5 mL, 50 mL, 62.5 mL, dan 75 mL. Variasi aerasi ini merupakan volume media fermentasi yang ditempatkan dalam labu Erlenmeyer 125 mL. Selanjutnya media diinkubasi dalam *waterbath* selama 48 jam dan dilakukan pengocokkan dengan kecepatan 120 rpm, 30 °C. Kemudian sampel diambil sebanyak 3 mL, dan disentrifugasi (Beckman Microfuge 11) pada 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan diambil dan ditentukan konsentrasi xilitolnya dengan kit D-Sorbitol/Xilitol. Untuk keperluan analisis xilitol, supernatan diencerkan 10 kali.

Penentuan Konsentrasi Glukosa sebagai Kosubstrat pada Media Fermentasi

Sebanyak satu persen biakan yang terdapat pada media YM dimasukkan ke dalam media fermentasi dalam empat buah Erlenmeyer 125 mL. Kemudian pada setiap Erlenmeyer ditambahkan glukosa dengan konsentrasi 15, 30, 45 dan 60 g/L.

Penentuan Kadar Xilitol dengan Kit D-Sorbitol/D-Xylitol (Metode Roche)

Kadar xilitol dalam penelitian ini ditentukan dengan kit D-sorbitol/xilitol. Kit terdiri atas empat botol pereaksi yang terdiri atas, botol pertama 25 mL larutan Natrium fosfat/buffer trietanolamin pH 8.6 dan triton X-100, botol kedua berisi 35 mg liopilisat (4 µ diaporase dan 28 mg NAD), botol ketiga berisi 2.5 mL iodonitrotetrazolium klorida (INT), dan botol keempat berisi 25 µ liopilisat SDH/XDH (xilitol dehidrogenase). Botol kedua hingga keempat dilarutkan dengan akuabides masing-masing 2.5 mL, 6 mL, dan 0.6 mL. Prosedur pengukuran xilitol dimulai dengan menyiapkan tabung untuk blanko dan sampel. Tabung blanko berisi 0.6 mL larutan satu, 0.2 mL larutan dua, 0.2 mL larutan tiga, dan 2 mL akuabides. Tabung sampel berisi 0.6 mL larutan satu, 0.2 mL larutan dua, 0.2 mL larutan tiga, 0.1 mL supernatan dan 1.9 mL akuabides. Semua larutan dihomogenkan dengan cara divorteks, kemudian dibiarkan selama 2 menit. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometer pada

λ 492 nm sebagai nilai A1a. Dua menit kemudian larutan diukur kembali sebagai nilai A1b sehingga dapat dilihat kestabilan pengukuran dengan kit ini. Jika perbedaan kedua nilai tersebut lebih dari 0.1 maka pengukuran harus diulangi. Jika perbedaan kurang dari 0.1 maka prosedur dilanjutkan. Prosedur dilanjutkan dengan penambahan 0.05 mL larutan empat ke dalam setiap tabung, kemudian dihomogenkan dengan cara divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansi larutan dengan spektrofotometer pada λ 492 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian dikonversi menjadi konsentrasi xilitol yang terbentuk menggunakan rumus. Pengukuran diulangi setiap interval lima menit hingga nilai dari pengukuran stabil.

Rumus untuk menghitung konsentrasi xilitol :

$$C = \frac{V \times MW}{E \times d \times v \times 10} \Delta A \text{ [g/L]}$$

Keterangan:

V = volume akhir [mL]

v = volume sampel [mL]

MW = bobot molekul xilitol [g/mol]

d = jarak lintasan cahaya [cm]

E = koefisien INT-formazan pada 492 nm

= 19.9 [l x mmol⁻¹ x cm⁻¹]

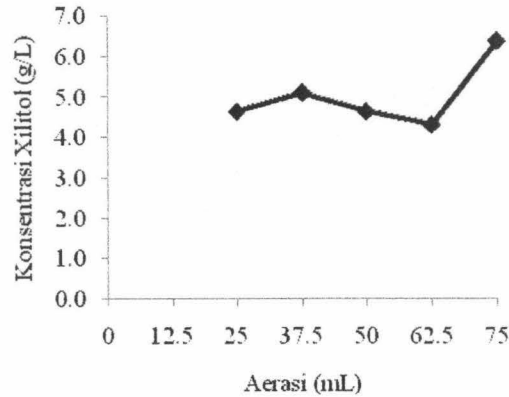
HASIL DAN PEMBAHASAN

Aerasi untuk Produksi Xilitol dengan Konsentrasi Xilosa 150 g/L

Konsentrasi xilosa yang digunakan dalam penelitian ini adalah 150 g/L, konsentrasi tersebut termasuk ke dalam golongan konsentrasi yang tinggi, karena beberapa penelitian pada umumnya menggunakan konsentrasi xilosa antara 30-100 g/L (Rao *et al.* 2006; Helle *et al.* 2004). Konsentrasi xilosa akan mempengaruhi pertumbuhan sel, pembentukan xilitol, serta memberikan pengaruh yang berbeda terhadap spesies khamir (Horitsu *et al.* 1992; Vandeska *et al.* 1995). Percobaan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh aerasi terhadap konsentrasi xilosa, mengingat *C. tropicalis* yang digunakan masih belum diketahui kemampuannya dalam mengkonversi xilosa menjadi xilitol.

Berdasarkan hasil percobaan yang telah dilakukan diperoleh konsentrasi xilitol pada masing-masing perlakuan aerasi, yaitu 4.6421 g/L untuk 25 mL, 5.1029 g/L untuk 32.5 mL, 4.6407 g/L untuk 50 mL, 4.3217 g/L untuk 67.5 mL, dan 6.3790 g/L untuk 75 mL yang dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 125 mL (Gambar 1). Hasil tersebut menunjukkan kondisi aerasi yang sebaiknya digunakan untuk produksi xilitol dengan konsentrasi substrat xilosa yang tinggi (150 g/L) yaitu 75 mL media fermentasi dalam Erlenmeyer 125 mL. Kondisi ini termasuk ke dalam kelompok mikroanaerobik. Menurut Nolleau *et al.* (1993), volume media sebanyak ≤ 32.5 mL termasuk ke dalam kelompok aerobik, volume media $32.5 < V < 67.5$ mL termasuk ke dalam kelompok semi-aerobik, dan volume ≥ 67.5 mL termasuk ke dalam kelompok mikroanaerob. Menurut Winkelhausen & Kuzmanova (1998), pembentukan xilitol dapat terjadi di bawah keadaan oksigen yang terbatas karena pada keadaan ini NADH akan terakumulasi. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Meinander *et al.* (1997), bahwa reduksi xilosa terjadi ketika keberadaan oksigen sangat terbatas. Oksigen merupakan salah satu parameter yang mempengaruhi akumulasi xilitol. Pembentukan xilitol di bawah kondisi kekurangan oksigen selain mengakumulasi NADH juga akan menghambat NAD⁺. Di dalam metabolismenya *C. tropicalis* akan mengkonversi xilosa menjadi xilitol oleh enzim xilosa reduktase dan xilitol menjadi xilulosa oleh enzim xilitol dehidrogenase. Xilosa reduktase dapat menggunakan dua koenzim berupa NADH dan NADPH, tetapi xilitol dehidrogenase hanya dapat menggunakan NAD⁺ (Winkelhausen & Kuzmanova 1998). NAD⁺ yang dihambat dengan adanya NADH yang terakumulasi akan menyebabkan konversi xilitol menjadi xilulosa terhambat. Oleh sebab itu pada variasi aerasi (media 75 mL dalam Erlenmeyer 125 mL) menghasilkan konsentrasi xilitol tertinggi,

yaitu 6.3790 g/L. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi xilosa yang tinggi (150 g/L), xilitol dapat diproduksi dalam kondisi anaerob. Namun konsentrasi xilitol yang dihasilkan pada penelitian ini masih rendah karena *yield* terbesar yang diperoleh hanya mencapai 4.25%.



Gambar 1 Konsentrasi xilitol (g/L) yang dihasilkan pada variasi aerasi (25, 32.5, 50, 67.5, dan 75 mL) dalam Erlenmeyer 125 mL

Glukosa Sebagai Kosubstrat dalam Produksi Xilitol

Dalam penelitian ini konsentrasi kosubstrat (glukosa) yang digunakan bervariasi, yaitu 15, 30, 45, dan 60 g/L. Penambahan glukosa dilakukan pada kondisi media yang kekurangan oksigen (anaerob) atau kondisi aerasi terendah yaitu dengan volume media 75 mL dalam 125 mL Erlenmeyer.

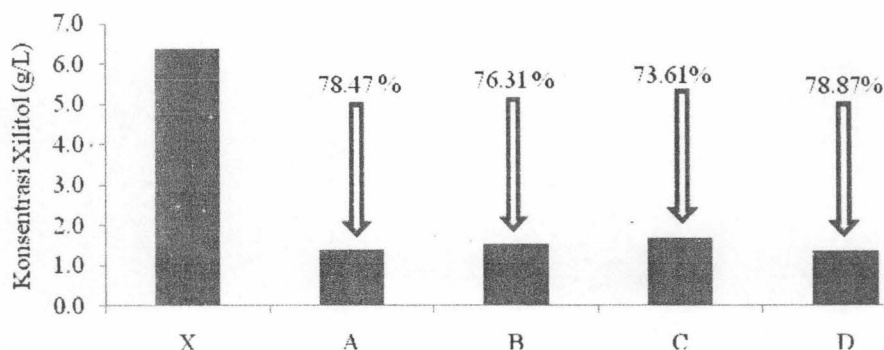
Berdasarkan hasil analisis penentuan konsentrasi xilitol, terlihat bahwa penambahan konsentrasi kosubstrat terus meningkat namun dengan peningkatan yang tidak terlalu signifikan. Konsentrasi xilitol mencapai optimum sebesar 1,68 g/L pada penambahan glukosa dengan konsentrasi 45 g/L Tabel 1.

Tabel 1. Penambahan Kosubstrat (glukosa) ke dalam Medium Fermentasi pada Kondisi Anaerob

No.	Glukosa (g/L)	Xilitol (g/L)
1	15	1.37
2	30	1.51
3	45	1.68
4	60	1.35

Namun demikian penambahan kosubstrat ke dalam medium fermentasi menyebabkan penurunan konsentrasi xilitol yang dihasilkan, terlihat bila dibandingkan dengan medium tanpa penambahan kosubstrat atau medium fermentasi yang mengandung substrat xilosa (Gambar 2). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penambahan kosubstrat dapat menurunkan produksi xilitol dengan rata-rata penurunan 76.82 %. Penurunan ini sejalan dengan pernyataan bahwa xilitol yang terbentuk pada kultur *C. tropicalis* dengan adanya penambahan kosubstrat menurun hingga 25% dari 63-68% ketika hanya xilosa saja yang digunakan sebagai substrat (Ooi *et al.* 2002). Penurunan konsentrasi xilitol dapat juga disebabkan oleh kebutuhan waktu inkubasi yang lebih lama dari 48 jam jika

menggunakan glukosa sebagai kosubstrat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ooi *et al.* (2002) bahwa konsumsi xilosa oleh *C. guilliermondii* dan *C. tropicalis* pada media yang berisi kosubstrat-selesai setelah 60 jam inkubasi. Waktu ini lebih lama dibandingkan waktu inkubasi ketika tanpa adanya glukosa sebagai kosubstrat yaitu 37-42 jam.



Gambar 2 Perbandingan konsentrasi xilitol yang terbentuk antara media xilosa dan media xilosa dengan penambahan glukosa. Keterangan: X: 150 g/L xilosa, A: xilosa + 15 g/L glukosa, B: xilosa + 30 g/L glukosa, C: xilosa + 45 g/L glukosa, D: xilosa + 60 g/L glukosa.

Penambahan kosubstrat ke dalam media fermentasi diharapkan dapat menaikkan produksi xilitol. Adanya penambahan kosubstrat ke dalam media diharapkan berfungsi untuk mencukupi kebutuhan koenzim tereduksi yang digunakan untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol, sehingga sebagian besar xilosa dapat dikonversi menjadi xilitol (Yulianto *et al.* 2006) dan tidak dimetabolisme lebih lanjut menjadi xilulosa maupun etanol. Namun demikian dalam penelitian ini penggunaan glukosa tidak mendorong pembentukan xilitol tetapi digunakan untuk pembentukan biomassa sel. Hal ini dapat terlihat dari biomassa sel *C. tropicalis* yang ditumbuhkan dalam media fermentasi dengan xilosa dan glukosa sebagai substratnya cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan biomassa sel *C. tropicalis* yang ditumbuhkan dalam media fermentasi dengan xilosa sebagai substrat. Secara signifikan data keseluruhan menunjukkan bahwa penambahan glukosa meningkatkan biomassa sel karena nilai absorbansi media fermentasi dengan penambahan glukosa lebih besar dibandingkan dengan kontrol (tanpa glukosa) (data tidak ditampilkan).

KESIMPULAN

Hasil penelitian dengan menggunakan *C. tropicalis* diperoleh kondisi aerasi untuk memproduksi xilitol dengan konsentrasi xilosa 150 g/L adalah pada kondisi kekurangan oksigen (anaerob) atau pada 75 mL media fermentasi dalam labu Erlenmeyer 125 mL. Penambahan kosubstrat berupa glukosa secara keseluruhan menurunkan produksi xilitol dengan rata-rata penurunan sebesar 76.82%, sehingga penambahan glukosa sebagai kosubstrat tidak dianjurkan dalam produksi xilitol.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian utama yang berjudul "Pemanfaatan Ampas Tebu untuk Produksi Xilitol Melalui Teknik Amobilisasi Sel dan Fermentasi Batch Berulang" yang dibiayai oleh Badan Litbang pertanian melalui Program Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T).

DAFTAR PUSTAKA

- Helle SS, Murray A, Lam J, Cameron DR, Duff SJB. 2003. Xylose fermentation by genetically modified *Saccharomyces cerevisiae* 259ST in spent sulfite liquor. *Bioresourc Technol* 92: 163-171.
- Horitsu H et al. 1992. Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: optimization of production rate. *Biotechnol Bioeng* 40: 1085-1091.
- Kiet A, Milgrom P, Rothen M. 2006. Xylitol, sweetener, and dental caries. *Pediatric Dentist* 28:154-163.
- Leather TD. 2003. Bioconversion of maize residues to value-added coproduct using yeast like fungi. *FEMS Res* 3: 133-140.
- Meinander NQ, Hahn HB. 1997. Influence of cosubstrate concentration on xylose conversion by recombinant, XYL1-expressing *Saccharomyces cerevisiae*: a comparison of different sugars and ethanol as cosubstrates. *Appl Environ Microbiol* 63: 1959-1964.
- Nolleau V, Preziosi-Belloy L, Delgenes JP, Navarro JM. 1993. Xylitol production from xylose by two yeast strain. *Curr Microbiol* 27: 191-197.
- Nolleau V, Preziosi-Belloy L, Delgenes JP, Navarro JM. 1993. Xylitol production from xylose by two yeast strain. *Curr Microbiol* 27: 191-197.
- Ooi BG, Le TTB, Markuszewski BM. 2002. The effect of glucose on the yeast conversion of xylose into xylitol by *C. guilliermondii* and *C. tropicalis*. *Elect J Environ Agricult Food Chem* 3:189-202.
- Rao RS et al. 2004. Xylitol production by *Candida* sp.: parameter optimization using Taguchi approach. *Process Biochem* 39: 951-956.
- Vandeska E, Amartey S, Kuzmanova S, Jeffries TW. 1995. Effect of environmental conditions on production of xylitol by *Candida boidinii*. *J Microbiol Biotechnol* 11: 3-8.
- Winkelhausen E, Kuzmanova S. 1998. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. *J Ferm Bioeng* 86: 1-14.
- Yulianto WA, Kuswanto KR, Tranggono, Indrati R. 2006. Kinetika fermentasi pada produksi xilitol dengan penambahan arabinosa dan glukosa sebagai kosubstrat oleh *Candida shehatae* WAY 08. *J Teknol Industri Pangan* 16: 215221.