

PENGARUH pH, KADAR XILOSA DAN KADAR GLUKOSA TERHADAP PRODUKSI XILITOL OLEH *Candida shehatae* WAY 08

(The Influence of Initial pH, Xylose and Glucose Concentration on Xylitol Production by *Candida shehatae* WAY 08)

Wisnu Adi Yulianto ¹⁾

¹⁾ Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Wanga Manggala Yogyakarta

ABSTRACT

The objectives of this research were to determine the optimum culture conditions of initial pH, xylose and glucose concentration for xylitol production by *Candida shehatae* WAY 08. The initial pH was altered within the range of 4-7, the xylose concentration from 5-20%, and the glucose (cosubstrate) from 0-4%. The fermentation was performed at 30 °C in 500 ml erlenmeyer flasks placed in a shaker incubator at 250 rpm for 7 d. Biomass concentration was determined by oven method. Xylose, glucose and xylitol concentrations were determined by HPLC.

The result incated that the highest xylitol volumetric productivity of *Candida shehatae* WAY 08 was 0,314 g/l/h at the initial pH of 5 in medium containing 150 g/l xylose. Addition of glucose into media inhibited the xylitol production, but increased the xylitol yield.

Key words : pH, xylose, glucose, xylitol and candida shehatae WAY 08.

PENDAHULUAN

Xilitol termasuk kelompok gula alkohol yang memiliki rumus molekul $C_6H_{12}O_5$. Bahan pemanis ini telah banyak menarik perhatian karena kegunaannya yang potensial sebagai pemanis makanan alami (tingkat kemanisannya sama dengan sukrosa), penurunan karies gigi (bersifat anti kariogenik) dan memiliki sensasi dingin seperti mentol, sumber karbohidrat yang bersifat "insulin-independent" sehingga cocok bagi penderita diabetes "insulin-dependent" (Emodi, 1978), pencegah/ penahan laju osteoporosis tulang (Mattila dkk, 1997), dan pemacu imunitas pada hewan percobaan (Takashi dkk, 1999). Produksi xilitol secara fermentasi memberikan harapan lebih ekonomis dibanding secara kimiawi (hidrogenasi) yang memerlukan sirup xilosa murni. Dari hasil penelitian terdahulu telah didapatkan *Candida shehatae* WAY 08 yang memiliki potensi sebagai penghasil xilitol yang lebih tinggi dibanding 53 isolat yeast lainnya (Yulianto dkk, 2000).

Untuk meningkatkan produksi xilitol secara fermentasi dapat dikerjakan dengan pemilihan mikrobia penghasil xilitol yang unggul (eksplorasi mikrobia), pengaturan komposisi nutrisi dan kondisi lingkungan fermentasi yang tepat dan melalui rekayasa genetika untuk mendapatkan mikrobia penghasil xilitol yang unggul. Pada penelitian ini akan dikaji faktor yang kedua, terutama mengenai pengaruh pH, kadar xilosa sebagai substrat dan glukosa sebagai kosubstrat terhadap produksi xilitol.

Derajat keasaman (pH) medium telah diketahui mempengaruhi pertumbuhan sel dan pengaruhnya bervariasi diantara spesies/strain yeast. Membran sel yang tidak sepenuhnya permeabel terhadap ion hidrogen

menyebabkan pH intraseluler berbeda dengan pH medium. Disamping itu, pH juga menentukan kelarutan beberapa komponen di dalam medium sehingga modifikasi pH dapat mengakibatkan pengendapan nutrisi dan menjadi tidak dapat diasimilasi oleh yeast.

Pada umumnya dalam proses "batch" jika mikrobia yang dikultivasi toleran terhadap konsentrasi dan tekanan osmotik yang tinggi maka adanya kenaikan konsentrasi gula awal akan meningkatkan kecepatan pembentukan produk dan "product yield". Kadar xilosa juga mempengaruhi pertumbuhan sel dan pembentukan xilitol, dan pengaruhnya bervariasi diantara spesies atau strain yeast (Horitsu dkk, 1992; Vandaska dkk, 1995).

Dalam kaitannya dengan produksi xilitol, kosubstrat memiliki 3 fungsi yaitu untuk pertumbuhan, regenerasi kofaktor tereduksi (NADPH) yang digunakan untuk reduksi xilosa menjadi Xilitol dan untuk suplai energi dalam pemeliharaan metabolisme sel (Hallbom dkk, 1994). Adanya penambahan kosubstrat yang berupa glukosa ke dalam media, diharapkan seluruh xilosa (substrat) dapat dikonversi menjadi xilitol (produk) saja, tidak dimetabolisme lebih lanjut.

Tujuan penelitian ini adalah menentukan pH media, kadar xilosa sebagai substrat dan kadar glukosa sebagai kosubstrat yang optimal untuk produksi xilitol oleh *Candida shehatae* WAY 08.

METODOLOGI

Materi

Kultur mikrobia yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida shehatae* WAY 08 yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi PAU Pangan dan Gizi, UGM

Yogyakarta. Kultur tersebut dipelihara dalam media malt ekstrak yeast agar (MEA).

Pembuatan Inokulum/Starter

Kultur dalam 25 ml media inokulum yang setiap literanya terdiri dari yeast ekstrak 20g, xilosa 30g, KH_2PO_4 15g, $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g, $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ 3g, pH media diatur 5 dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Kultur ini diinokulasikan lagi pada 225 ml media inokulum dengan kondisi seperti tahap pembiakan pertama. Pada penelitian penentuan pH dan kadar xilosa yang optimum untuk produksi xilitol disiapkan 350 ml (dari kultur 35 ml) dan pada penelitian penentuan kadar glukosa sebagai kosubstrat yang optimum untuk produksi xilitol disiapkan 100 ml (dari kultur 10 ml) untuk setiap ulangan percobaan.

Penentuan pH dan Kadar Xilosa yang Optimum untuk Produksi Xilitol

Pada penelitian tahap ini terdapat 2 faktor perlakuan yang dipelajari. Pertama pH dengan level 4,5,6, dan 7, kedua xilosa dengan level 5,10,15 dan 20%. Kombinasi dari kedua faktor tersebut menghasilkan 16 perlakuan. Dua puluh ml inokulum yang sudah disiapkan, diinokulasikan pada 180 ml (dalam erlenmeyer 500 ml) media fermentasi yang setiap literanya terdiri dari yeast ekstrak 20 g, xilosa 50, 100, 150 dan 200 g, KH_2PO_4 15g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 1g, $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ 3g. Kadar sel awal dalam media diperkirakan 1.5×10^7 sel/ml. Inkubasi dilakukan dalam "shaker incubator" pada suhu 30°C selama 7 hari. Penentuan lama inkubasi didasarkan atas hasil penelitian pendahuluan, bahwa setelah 7 hari inkubasi produksi xilitol sudah tidak meningkat lagi. Pengambilan sampel sebanyak 5 ml dilakukan pada awal fermentasi, hari ke-3, ke-5 dan ke-7 untuk penentuan kadar xilitol, xilosa, dan biomasa selnya. Percobaan ini dilakukan xilitol selanjutnya dipilih untuk penelitian tahap berikutnya.

Penentuan Kadar Glukosa yang Optimum untuk Produksi Xilitol

Jalannya penelitian untuk tahap ini sama seperti pada sub 3, kecuali variabel perlakuan yang dipelajari yaitu kadar glukosa. Kadar glukosa sebagai kosubstrat yang digunakan adalah 0,1,2,3, dan 4%. Percobaan ini dikerjakan sebanyak 2 kali ulangan.

ANALISIS

Analisis yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi berat sel yang dikerjakan dengan metode pengeringan oven, dan penentuan kadar xilitol, xilosa dan glukosa digunakan HPLC. Kolom HPLC yang digunakan adalah RCM Monosaccharide Phenomenex, fase mobilnya aquabidest dan kalsium nitrat 0,001 M, kecepatan alimya

0,5 ml.menit, suhu 65°C , detektor 56 refraksi indeks Backman dan printer CR 3A Chromatopac Shimadzu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Variasi pH Media dan Kadar Xilosa Awal terhadap Produksi Xilitol

Hasil pengamatan mengenai perubahan kadar xilosa biomasa sel, xilitol dan pH selama 7 hari inkubasi oleh *Candida shehatae* WAY 08 disajikan pada Tabel 1. Dari tabel tersebut, selanjutnya dibuat gambar hubungan antara penurunan kadar xilosa dan peningkatan kadar xilitol dan biomasa sel dengan waktu inkubasi. Mengingat sangat terbatasnya ruang untuk tulisan ini, maka gambar tersebut (terdapat 16 gambar) tidak ditampilkan. Dari gambar tersebut terlihat; pertama produksi xilitol seiring dengan pertumbuhan selnya, kedua produksi xilitol dan biomasa sel tertinggi masing-masing dicapai pada pH media awal 5 dan 4, ketiga sampai akhir fermentasi pada pH media awal 6 dan 7 mengalami penurunan sedangkan pada pH media awal 4 mengalami sedikit peningkatan dan pH awal 5 relatif konstan. Hasil penelitian pendahuluan dan penelitian yang dilakukan oleh Vandaska dkk (1995) dengan menggunakan *Candida boidinii* dan Silva dkk (1996) dengan menggunakan *Candida guilliermondii* menunjukkan produksi xilitol menjadi konstan atau menurun setelah mencapai fase pertumbuhan stasioner. Atas pertimbangan tersebut, proses fermentasi dalam penelitian ini dikerjakan sampai 7 hari inkubasi. Pada gambar yang dibuat juga terlihat bahwa xilitol seiring dengan pertumbuhan selnya. Tipe fermentasi ini dikenal sebagai pertumbuhan "associated". Sampai hari ketujuh inkubasi, produksi xilitol masih meningkat, sedangkan pertumbuhan selnya mulai hari kelima sampai ketujuh memasuki fase pertumbuhan diperlambat.

Produksi biomasa sel tertinggi dari kadar xilosa awal 50, 100, 150 dan 200 g/l (pada pH media awal 4) masing-masing sebesar 12,63, 10,80; 11,12 dan 5,76 g/l. Produksi xilitol tertinggi dari xilosa awal 50, 100, 150 dan 200 g/l (pada pH media awal 5) berturut-turut adalah 21,40; 35,55; 52,76 dan 44,72 g/l. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1. Dilaporkan oleh peneliti terdahulu (Roberto dkk, 1996; Horitsu dkk, 1992; dan Vandaska dkk, 1995), kadar xilitol tertinggi dicapai pada pH awal 5,3 oleh *C. guilemondii*, pH 4 oleh *C. triopicalis* dan pH 7 oleh *C. boidinii*.

Tabel 1. Perubahan kadar Xilosa, biomasa sel, xilitol dan pH media selama 7 hari inkubasi oleh *C. shehatae* WAY 08 pada berbagai kadar xilosa dan pH media awal

No.	Xilosa g/l	Media Awal	Waktu Inkubasi															
			0 hari	3 hari					5 hari					7 hari				
			Xilosa g/l	Xilosa g/l	Xilosa Terkonsumsi g/l	Sel g/l	Xilitol g/l	pH	Xilosa g/l	Xilosa Terkonsumsi g/l	Sel g/l	Xilitol g/l	pH	Xilosa g/l	Xilosa Terkonsumsi g/l	Sel g/l	Xilitol g/l	pH
1		4		36.34	25.39	2.22	7.02	3.9	16.54	35.20	11.42	9.11	4.0	-	51.74	12.63	15.34	4.5
2		5	51,739	34.71	17.03	2.26	8.91	4.5	14.89	35.24	8.58	10.96	4.8	-	51.74	10.06	21.40	5.1
3	50	6		29.88	21.86	3.40	7.30	5.5	17.43	34.30	7.40	7.86	5.5	-	51.74	8.03	11.17	5.6
4		7		26.02	25.72	3.92	6.67	6.5	19.78	31.96	5.28	7.42	6.1	2.61	47.06	6.03	9.54	6.4
5		4		70.98	31.43	3.10	11.20	3.9	56.19	46.22	9.08	14.54	3.9	30.07	72.34	10.80	29.99	4.3
6	100	5	102,408	84.54	17.87	2.56	10.30	4.3	50.24	52.17	6.70	21.35	4.6	36.03	65.78	7.81	35.55	4.9
7		6		73.35	29.06	2.44	10.27	5.4	53.81	48.60	6.22	15.48	5.2	15.46	86.94	6.94	32.86	5.3
8		7		79.09	25.32	1.78	4.60	6.4	52.93	49.48	5.26	13.46	6.2	38.37	64.04	5.78	17.80	6.2
9		4		116.19	38.37	2.32	10.25	3.9	95.28	59.28	9.00	18.33	3.9	80.31	74.25	11.12	33.13	4.3
10		5		129.11	25.45	2.26	9.41	4.3	74.79	79.77	6.94	27.42	4.5	38.55	116.01	7.98	52.76	5.0
11	150	6	154,562	120.75	33.81	2.00	6.25	5.4	81.77	72.79	5.00	20.10	5.4	46.46	108.10	6.08	30.64	5.5
12		7		108.82	45.74	2.06	4.80	6.3	54.99	99.57	4.60	10.04	5.9	32.68	121.89	5.28	19.62	6.0
13		4		175.12	28.14	2.22	7.73	3.8	137.96	65.31	5.16	20.54	3.8	94.45	168.81	5.76	35.50	4.2
14		5		165.04	38.22	2.12	10.65	4.3	114.56	88.70	5.16	20.29	4.6	99.97	103.30	5.58	44.72	4.8
15	200	6	203,265	153.41	49.86	1.96	5.33	5.3	107.91	95.38	4.98	18.05	5.2	73.77	129.50	5.28	33.73	5.2
16		7		148.19	55.08	1.60	4.72	6.3	98.65	105.62	3.90	10.66	5.9	74.27	129.03	4.72	24.20	5.9

Peningkatan kadar xilosa awal dari 50 sampai 150 g/l pada pH media awal yang sama menunjukkan peningkatan kadar xilitol yang dihasilkan. Penyediaan kadar xilosa sampai 200 g/l pada pH media awal 4,6 dan 7 masih meningkatkan produksi xilitol, tetapi pada pH 5 sudah menghambat produksi xilitol. Produksi xilitol tertinggi oleh *C. shehatae* WAY 08 dalam penelitian ini (53 g/l) dicapai pada kadar xilosa 150 g/l pada pH media awal 5. Hasil penelitian ini sama dengan besarnya xilitol yang dihasilkan oleh *C. boidinii* (53 g/l) selama 14 hari inkubasi pada kadar xilosa awal 150 g/l dan produksi xilitolnya juga dihambat oleh kadar xilosa 200 g/l (Vandeska dkk, 1995).

Derajat keasaman (pH) media awal mengalami perubahan selama 7 hari inkubasi (Tabel 1). Pada akhir fermentasi, pH media awal 4 mengalami peningkatan sampai 4,2-4,5. Nilai pH awal 5 mengalami sedikit perubahan (relatif konstan) dan pH medium awal 6 dan 7 mengalami penurunan masing-masing 5,2-5,6 dan 5,9 – 6,4. Penurunan pH tersebut dapat disebabkan oleh terbentuknya asam-asam organik seperti asam asetat selama fermentasi xilosa, sedangkan peningkatan pH disebabkan oleh terbentuknya amonia dari reaksi deaminasi terhadap substrat berprotein atau berpolipeptida

sebagai sumber nitrogennya (Prior dkk, 1989; Forage dkk dalam Moo-Young, 1985). Yeast ekstrak yang digunakan sebagai sumber nitrogen pada penelitian ini dapat pula mengalami deminasi hingga mengakibatkan pH media kultur meningkat perubahan naik turunnya pH kultur tersebut dipengaruhi oleh besar kecilnya perbandingan antara senyawa organik yang bersifat asam dengan amonia yang bersifat basa.

Dari Tabel 1 juga terlihat bahwa produksi xilitol tertinggi dicapai pada hari ke-7 inkubasi. Oleh sebab itu, parameter fermentasi pada hari ke-7 inkubasi digunakan untuk mengkaji pengaruh kadar xilosa dan pH media terhadap produksi xilitol oleh *C. shehatae*. WAY 08, seperti yang tersaji pada Tabel 2. Dari Tabel tersebut terlihat peningkatan kadar xilosa dari 50 sampai 200 g/l pada pH media awal yang sama atau peningkatan pH awal dari 4 sampai 7 pada kadar xilosa yang sama cenderung menurunkan nilai "growth yield" ($Y_{x/s}$). $Y_{x/s}$ tertingginya dicapai pada kadar xilosa 50 g/l dan pH media awal 4. Pada kondisi ini nampaknya enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan biomasa menjadi aktif dan lebih efisien memanfaatkan xilosa untuk memperbanyak diri atau pertumbuhan selnya.

Tabel 2. Parameter fermentasi untuk produksi xilitol oleh *Candida shehatae* WAY 08 pada berbagai kadar xilosa dan pH media awal serta lama inkubasi 7 hari.

No.	Kadar xilosa (g/l)	PH Media	Parameter				
			$Y_{x/s}$ (g/g)	Xilitol (g/l)	$Y_{p/s}$ g/g)	η (%)	Q_v (g/l/jam)
1	50	4	0,234	15,34	0,30	33	0,091
2		5	0,184	21,40	0,41	45	0,127
3		6	0,145	11,17	0,22	24	0,066
4		7	0,117	9,54	0,19	21	0,057
5	100	4	0,142	29,99	0,42	46	0,179
6		5	0,111	35,55	0,54	59	0,212
7		6	0,074	32,86	0,33	36	0,196
8		7	0,082	17,89	0,28	31	0,107
9	150	4	0,142	33,13	0,45	49	0,197
10		5	0,065	52,76	0,45	48	0,314
11		6	0,051	30,64	0,28	31	0,182
12		7	0,039	19,62	0,16	17	0,117
13	200	4	0,031	35,5	0,34	37	0,217
14		5	0,049	44,72	0,43	47	0,266
15		6	0,037	33,73	0,26	28	0,201
16		7	0,032	24,2	0,19	2	0,144

$Y_{x/s}$ = (Biomasa yang diproduksi – biomasa awal) / xilosa yang dikonsumsi

$Y_{p/s}$ = Xilitol yang diproduksi / xilosa yang dikonsumsi

η = Efisiensi fermentasi dihitung berdasarkan nilai maksimal teoritis sebesar 0.917 g/g (Barbosa dalam Roberto dkk, 1996)

Q_v = Produktivitas volumetrik xilitol

Pada kadar xilosa yang sama, "product yield" (Y p/s) dan efisiensi fermentasi meningkat dengan adanya penurunan pH media awal dari 7 menjadi 5 dan menurun pada pH media awal 4. Pada pH media yang sama "product yield" dan efisiensi fermentasi meningkat dengan adanya penurunan penggunaan kadar xilosa awal 200 sampai 100 g/l dan menurun pada kadar xilosa awal 50%.

"Product yield" (Y p/s) tertinggi dicapai oleh *C. shehatae* WAY 08 pada kadar xilosa 100 g/l dan pH media 5 yaitu 0,5 (g/l) atau 59% dari efisiensi fermentasi teoritis. Menurut Barbosa (dalam Silva dkk, 1996), efisiensi fermentasi xilosa menjadi xilitol secara teoritis maksimum sebesar 0,917 g/g. Hasil tersebut tak jauh berbeda dengan Y p/s yang dicapai oleh *C. mogii* (0,62 g/g), tetapi relatif lebih tinggi dibanding dengan Y (p/s) yang dicapai oleh *C. tropicalis* ATCC 7349 (0,4 g/g), *C. parapsilosis* (0,4 g/g), *C. kefir* (0,29 g/g) dan *C. utilis* (0,18 g/g) (Sirisansanee yakul dkk, 1995). Namun hasil penelitian ini masih jauh lebih rendah dibanding dengan hasil penelitian Lu dkk (1995) yang menggunakan *Candida* sp L 102 dapat menghasilkan Y p/s 0,877 (g/g) atau 95,6% dari efisiensi teoritis.

Pada pH media yang sama, kecepatan produksi xilitol atau produktivitas volumetrik xilitol meningkat seiring dengan peningkatan penggunaan kadar xilosa awal 50 sampai 200 g/l, kecuali pada pH media awal 5 sudah mengalami penurunan. Pada kadar xilosa yang sama, kecepatan produksi xilitol meningkat dengan adanya penurunan pH media awal 7 selama 5 hari, tetapi menurun pada pH media awal 4. Produktivitas volumetrik xilitol

tertinggi dicapai *Candida shehatae*. WAY 08 pada kadar xilosa 150 g/l dan pH media awal 5 selama 7 hari inkubasi sebesar 0,314 g/l jam. Namun demikian hasil ini tidak diikuti oleh efisiensi fermentasi dan "product yield" yang tinggi, masing-masing hanya sebesar 49% dan 0,45 g/g. Capaian ini lebih rendah dibanding hasil dari kadar xilosa awal 100 g/l dan pH media awal 5. Hal ini dapat disebabkan oleh terbentuknya senyawa-senyawa metabolit selain xilitol. Dilaporkan oleh Prior dkk (1989), selama fermentasi D-xilosa oleh *Candida* sp. dapat terbentuk gliserol, arabitol, ribitol, xilulosa, asetat dan etanol. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibanding dengan kecepatan produksi xilitol oleh *Candida boidinii* yang mencapai 0,24 g/l jam (Vandeska dkk, 1995). Dominguez dkk (1996) melaporkan kecepatan produksi xilitol dari xilosa awal sekitar 150 g/l oleh *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, 20118, *C. guilliermondii* 42050, *P. tannophilus*, Mutan *Candida* sp. dan *D. hansenii* berturut-turut adalah 0,19; 0,72; 0,14; 0,01; 0,99 dan 0,90 g/l jam.

Pengaruh Variasi Kadar Glukosa (Co-substrat) Terhadap Produksi Xilitol

Penelitian untuk mengetahui pengaruh variasi kadar glukosa terhadap produksi xilitol oleh *C. shehatae* Way 08 yang dikerjakan pada kadar xilosa awal 150 g/l, pH awal 5, dan suhu inkubasi 30°C. Pertumbuhan sel, produksi xilitol, dan penurunan kadar xilosa dan glukosa selama 7 hari inkubasi oleh *Candida* sp. WAY 08 pada kadar glukosa 0, 10, 20, 30, dan 40 g/l disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perubahan kadar xilosa, biomasa sel, xilitol, dan glukosa selama 7 hari inkubasi oleh *Candida shehatae* WAY 08 pada berbagai kadar glukosa

Kosubstrat (glukosa) g/l	Waktu inkubasi (hari)	Glukosa g/l	Xilosa g/l	Xilosa terkonsumsi g/l	Biomasa g/l	Xilitol g/l
0	0	0	155,99	-	0,53	0
	3	0	102,35	53,64	3,51	10,51
	5	0	96,10	59,89	12,25	27,05
	7	0	46,56	109,43	13,35	54,86
10	0	9,99	151,55	-	0,53	0
	3	-	115,17	36,38	3,87	8,08
	5	-	97,36	54,19	12,52	23,2
	7	-	46,22	104,63	14,45	49,28
20	0	21,08	150,22	-	0,53	0
	3	-	113,60	36,62	4,07	7,38
	5	-	102,32	47,99	13,24	23,38
	7	-	60,54	89,68	14,43	50,05
30	0	31,23	146,67	-	0,53	0
	3	-	117,84	36,62	4,07	7,38
	5	-	108,07	38,60	13,40	22,52
	7	-	67,00	79,67	14,41	49,30
40	0	39,70	146,48	-	0,53	0
	3	-	119,37	27,11	4,50	5,06
	5	-	108,48	37,99	14,41	19,83
	7	-	70,52	75,96	15,40	48,13

Dari gambar yang telah dibuat (tak ditampilkan) pada hari ketiga inkubasi, glukosa telah habis dikonsumsi. Semakin besar konsumsi glukosa menyebabkan semakin kecil konsumsi substrat xilosanya. Akibatnya sampai hari ketiga inkubasi terlihat perbedaan yang cukup nampak dari besarnya xilitol yang dihasilkan. Produksi xilitol seiring dengan pertumbuhan selnya. Pertumbuhan sel diperlambat atau menuju fase stasioner setelah 5 hari inkubasi, tetapi sampai hari ketujuh inkubasi produksi xilitol masih meningkat. Produksi xilitol terbesar 54,86 g/l dicapai pada media tanpa penambahan glukosa. Hal ini menunjukkan penambahan kadar glukosa sampai 40 g/l ke dalam substrat xilosa 150 g/l hanya meningkatkan pembentukan biomasa sel, tetapi tidak mendorong produksi xilitol. Hasil ini sejalan dengan pendapat peneliti terdahulu (Hsiao dkk, Meyrial dkk dalam Nigam dan Singh, 1995) yang menyatakan glukosa menghambat penggunaan xilosa oleh *Candida* dan *Schizosacchormyces*, dan dilaporkan bahwa *Candida guilermundii* mampu mengkonsumsi glukosa, manosa, galaktosa, dan arabinosa secara cepat hanya untuk pertumbuhan dan pembentukan etanol, tetapi senyawa poliol tidak terdeteksi di didalam media kultur.

Parameter fermentasi untuk produksi xilitol oleh *C. shehatae* WAY 08 pada berbagai kadar glukosa dan lama inkubasi 7 hari disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Parameter Fermentasi untuk produksi xilitol oleh *C. shehatae* WAY 08 pada berbagai kadar glukosa (ko-substrat) dan lama inkubasi 7 hari

No.	Kadar Glukosa (g/l)	Parameter				
		Y x/s (g/g)	Xilitol (g/l)	Y p/s (g/g)	η (%)	Qv (g/l/jam)
1	0	0,117	54,86	0,775	85	0,327
2	10	0,121	49,28	0,471	51	0,293
3	20	0,125	50,05	0,558	61	0,298
4	30	0,125	49,30	0,619	68	0,93
5	40	0,128	48,13	0,634	69	0,287

Y x/s = (Biomasa yang diproduksi-biomasa awal) /glukosa dan xilosa dikonsumsi

Dari Tabel tersebut terlihat "growth yield" meningkat seiring dengan besarnya kadar glukosa yang ditambahkan. Y x/s tertinggi sebesar 0,128 g/g dicapai pada penambahan glukosa 40 g/l. Hal ini sesuai dengan pendapat Meyrial dkk (Nigam dan Singh, 1995) seperti tersebut diatas. Pada kultur tanpa penambahan glukosa, nampaknya konsumsi xilosa yang tinggi selain untuk pembentukan biomas, sebagian besar dikonversi menjadi xilitol secara lebih efisien. "Product yield" terbesar 0,775 g/g atau 85% dari efisiensi fermentasi teoritis dicapai pada medium tanpa adanya glukosa. Hasil ini sesuai dengan penelitian Silva

dkk (1996), bahwa efisiensi konversi D-xilosa menjadi xilitol sebesar 45% pada media yang mengandung glukosa dan xilosa, tetapi meningkat sampai 66% jika tanpa adanya glukosa. Namun demikian, hasil tersebut jauh lebih kecil dibanding hasil penelitian Hallborn dkk (1994) yang melaporkan adanya glukosa dan etanol, *Saccharomyces cerevisiae* mampu mengkonversi sebesar 1 g xilitol/g xilosa dikonsumsi. Perbedaan hasil ini, selain disebabkan oleh jenis mikrobianya berbeda juga telah perbandingan sumber karbon yang digunakan dalam penelitian tersebut, yaitu glukosa : xilosa atau etanol : xilosa sebesar 10 : 10 (g/l), sedangkan dalam penelitian ini glukosa : xilosa = 40 : 150 (g/l). Adanya glukosa tersebut dipergunakan oleh yeast sebagai equivalent reduksi (NAD(P) /HNADP) yang diperlukan untuk mereduksi xilosa menjadi xilitol untuk pemeliharaan serta pertumbuhan sel, sedangkan xilosa yang tersedia dapat langsung direduksi secara efisiensi menjadi xilitol.

Penambahan glukosa sebesar 10 sampai 40 g/l pada media xilosa 150 g/l oleh *Candida shehatae* WAY 08 cenderung menurunkan produktivitas volumetrik atau kecepatan produksi xilitolnya. Hal ini dapat disebabkan oleh terhambatnya konsumsi xilosa sehingga produksi xilitol pun menjadi lambat. Kecepatan produksi xilitol tertinggi sebesar 0,327 g/l jam pada kultur tanpa penambahan glukosa.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan tersebut diatas dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut. Kadar xilitol tertinggi 52,76 g/l dan kecepatan produksi volumetrik xilitol (QV) tertinggi 0,314 g/l/jam dicapai oleh *Candida shehatae* WAY 08 pada pH awal 5 dan kadar xilosa 150 g/l. Penambahan kosubstrat (glukosa) 1 sampai 4% pada media berkadar xilosa 150 g/l menghambat konsumsi xilosa (substrat) dan produksi xilitol (kadar xilitol dan Qv) oleh *Candida shehatae* WAY 08, tetapi mampu meningkatkan "product yield"-nya (Yp/s).

DAFTAR PUSTAKA

- Dominguez, J. M., Gong, C.S., Tsao, GL 1996. "Pretreatment of Sugar Cane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate for Xylitol Production by Yeast". *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 57/58 : 49-56
- Emodi, A. 1978. "Xylitol, Its properties and Food Applications" *Food Technol.*, 32 : 20 - 32
- Forage, R.G., Harison, D.E. F., dan Pitt, D.F. 1985. "Effect of Environment on Microbial Activity". Dalam Murray-Moo Young (ed) : *Comprehensive Biotechnology*, pp. 251-280, Pergamon Press. Oxford.

- Hallborn, J., Gorwa, M.F., Meinander, N., Penttila, M., Keranen, S. and Hahnagerdal, B 1994. "The Influence of Cosubstrate and Aeration on Xylitol Formation on Recombinant *Saccharomyces cereviside* Expressing the XYL 1 gene". *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 42 : 326-333.
- Horitsu, H. Yahashi, Y., Takamizawa, K., Kawai, K, Suzuki, T dan Watanabe, N. 1992. " Production of Xylitol from Xylose by *Candida tropicalis*: Optimization of Production Rate". *Biotechnol. Bioeng.*, 40 : 1085-1091.
- Lu, J. Tsai. LB., Gong, C.S dan Tsao, G.T. 1995 "Effect of Nitrogen Sources on Xillitol Production from D-xylose by *Candida* sp L102". *Biotechnol. Lett.*, 17: 167 - 170
- Mattila, P.T. Svanberg, M.J. Pokka, P. dan Knnutila, M.L.E. 1998. "Dietary Xilitol Protects Against Weakening of Bone Biomechanical Properties in Ovariectomized Rats." *J. Nutr.*, 128 : 1811-1814.
- Nigam, P. dan Singh. D. 1995. "Processes for Fermentation Production of Xilitol a Sugar Substitute". *Proc. Biochem*, 30 : 117-124.
- Prior, B.A. Kilian, S.G. dan Du Preezee, J.C. 1989. "Fermentation of D-Xylose by Yeast *Candida shehatae* dan *Pichia stipitis*" Prospects and Problems. *Proc. Biochem.*, 24 : 21-32.
- Roberto, I.C. Silva, S.S. Felipe, M.G. A., Demancilha, I.M., dan Sato, S. 1996 " Bioconversion of Rice Straw Hemicellulose Hydrolysate for the Production of Xylitol-Effect of pH and Nitrogen Source". *Appl. Biochem, Biotechnol.* . 57: 339-347
- Silva, S.S., Roberto, I.C., Felipe M.G.A. dan Machilha, I.M. 1996 "Batch Fermentation of Xylose for Xylitol Production in Stirred Tank Bioreactor". *Proc. Biochem.*, 31 : 549-553.
- Sirisansaneeyakul, S., Staniszewski, M., dan Rizzi, M. 1995 " Screening of Yeast for Production of Xylitol from D-Xylose" *J. Ferment. Bioeng.*, 80 : 565-570
- Takashi, K., Onodera, K. dan Akiba, Y. 1999. "Effect of Dietary Xylitol on Growth and Inflammatory Responses in Immune Stimulated Chickens " *British Poultry Sci.*, 40 : 552 - 554.
- Vandeska, E. Amartei, S. Kuzmanova, S., dan Jeffries, T. 1995 "Effect of Environment Conditions on Production of Xylitol by *Candida boidinii*" *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 11 : 213-128
- Vandeska, E., Kuzumanova, S dan Jeffries, T. W 1995 "Xylitol Formation and Key Enzyme Activities in *Candida boidinii* under Different Oxygen Transfer Rates". *J. Ferment. Bioeng.*, 80 : 513 - 516.
- "Yulianto, W.A. Rahayu, E.S., dan Naruki, S. 2000. Seleksi Yeast untuk Produksi Senyawa Poliol Proceeding Seminar Nasional Agroindustri I, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian - UGM Yogyakarta.