

# **TEKNOLOGI FERMENTASI**

## **MEDIA FERMENTASI**

Rizky Muliani Dwi Ujianti, S.Pi., M.Si  
Tekpang UPGRIS

## ■ Kriteria untuk pemilihan media :

- a. Yield produk per unit substrat maksimum
- b. Konsentrasi produk dalam media maksimum
- c. Kecepatan pembentukan produk maksimum
- d. Produk samping yang tidak diinginkan seminimal mungkin
- e. Harganya relatif murah, kualitasnya konsisten dan kontinuitas ketersediaannya terjamin.
- f. Permasalahan yang dihadapi dari segi pelaksanaan proses, aerasi, agitasi, ekstraksi dan pemurnian produk serta penanganan limbah seminimal mungkin.

## ■ Contoh :

- tetes gula tebu, tetes gula bit, sereal, pati, glukosa, sukrosa dan laktosa sebagai sumber karbon
- garam amonium, urea, nitrat, bungkil kedele sebagai sumber nitrogen.

# FORMULASI MEDIUM

- Media harus memenuhi kebutuhan mikroba  $\Rightarrow$  untuk pembentukan biomasa selnya dan metabolit.
- Langkah utama yang harus dipertimbangkan
  - ➡ Persamaan reaksi pertumbuhan sel dan pembentukan produk :

Sumber energi + Sumber N + kebutuhan hidup  $\rightarrow$  biomassa sel + produk +  $\text{CO}_2$  +  $\text{H}_2\text{O}$  + panas



Dinyatakan secara kuantitatif

## Langkah-langkah dalam merancang formulasi medium :

### 1. Komposisi Sel

Tabel 1. Komposisi elemental tipikal untuk mikroba

Elemen	Bobot kering sel (%)
Karbon	50
Nitrogen	7-12
Pospor	1-3
Sulfur	0.5-1.0
Magnesium	0.5

Tabel 2. Komposisi unsur pada bakteri, yeast dan jamur (% berat kering)

Unsur	Bakteri	Khamir	Jamur
Karbon	50-53	45-50	40-63
Hidrogen	7	7	-
Nitrogen	12-15	7.5-11	7-10
Fosfor	2.0-3.0	0.8-2.6	0.4-4.5
Sulfur	0.1-0.2	0.01-0.24	0.1-0.5
Potasium	1.0-4.5	1.0-4.0	0.2-2.5
Sodium	0.5-1.0	0.01-0.1	0.02-0.5
Kalsium	0.01-1.1	0.1-0.3	0.1-1.4
Magnesium	0.1-0.5	0.1-0.5	0.1-0.5
Klorida	0.5	-	-
Besi	0.02-0.2	0.01-0.5	0.1-0.2

Element	Symbol	Atomic	Physiological function
Hydrogen	H	1	Constituent of cellular water and organic cell materials
Carbon	C	6	Constituent of organic cell material
Nitrogen	N	7	Constituent of proteins, nucleic acids and coenzymes
Oxygen	O	8	Constituent of cellular water and organic materials, as O <sub>2</sub> electron acceptor in respiration of aerobes
Sodium	Na	11	Principal extracellular cation.
Magnesium	Mg	12	Important divalent cellular cation, inorganic cofactor for many enzymatic reactions, incl. those involving ATP; functions in binding enzymes to substrates and present in chlorophylls
Phosphorus	P	15	Constituent of phospholipids, coenzymes and nucleic acids

Element	Symbol	Atomic	Physiological function
Sulfur	S	16	Constituent of cysteine, cystine, methionine and proteins as well as some coenzymes as CoA and cocarboxylase
Chlorine	Cl	17	Principal intracellular and extracellular anion
Potassium	K	19	Principal intracellular cation, cofactor for some enzymes
Calcium	Ca	20	Important cellular cation, cofactor for enzymes as proteinases
Manganese	Mn	25	Inorganic cofactor cation, cofactor for enzymes as proteinases
Iron	Fe	26	Constituent of cytochromes and other heme or non-heme proteins, cofactor for a number of enzymes
Cobalt	Co	27	Constituent of vitamin B <sub>12</sub> and its coenzyme derivatives
Copper	Cu	29	
Zinc	Zn	30	Inorganic constituents of
Molybdenum	Mo	42	special enzymes



## **2. Kebutuhan Biokimia Spesifik**

- Ada mikroba yang dapat tumbuh pada media garam mineral sederhana ada yang memerlukan zat-zat biokimia spesifik karena tidak mampu mensintesis sendiri.
- Contoh : khamir memerlukan biotin, tiamin dan riboflavin

# KOMPONEN PENYUSUN MEDIA

- Air
- Sumber tenaga
- Sumber karbon
- Sumber nitrogen
- sumber vitamin
- Buffer
- prekursor dan pengendali metabolisme
- Kebutuhan oksigen

# Air



- dibutuhkan terutama pd fermentasi substrat cair
- utk medium fermentasi, cleaning, waste-water treatment
- diperlukan air bersih, air murni, bebas ion

## 2. Sumber Tenaga

- ↳ Energi pertumbuhan sel diperoleh dari sinar atau oksidasi substrat
- ↳ Kebanyakan mikroba fermentasi bersifat kemo-organotrof
  - ⇒ sumber energi = sumber karbon seperti karbohidrat, lemak dan protein
- ↳ Beberapa mikroba dapat menggunakan metan, metanol atau hidrokarbon

### 3. Sumber Karbon

- ↳ Sumber karbon tergantung dari produk yang diharapkan  
Misal : produksi etanol dari protein sel tunggal membutuhkan ongkos produksi 60-77% dari sumber karbon ➡ perlu sumber karbon yang murah.
- ↳ Contoh : sereal, jagung, barley, malt, gula tebu, gula bit, tetes, laktosa, whey, limbah pati jagung, alkohol, hidrokarbon, metan, metanol, n-alkana, limbah industri kayu.

# Sumber karbon



- sumber komponen sel
- utk pertumbuhan, reproduksi, pembentukan produk, pemeliharaan sel
- sbg sumber energi
- sumber : karbohidrat, alkana, alkohol, lemak, minyak, asam organik
- contoh : molase, malt extract, starch, sulphite waste liquor, selulosa, whey
- metode sterilisasi karbohidrat sebaiknya dipisahkan dari bahan lain, karena gula dpt bereaksi dg ion amonium dan asam amino membentuk senyawa yang mengandung nitrogen dan berwarna hitam, pemanasan starch dpt menyebabkan gelatinasi shg medium mjd lebih viskous
- penggunaan sumber karbon yg cepat digunakan dpt mengurangi produksi metabolit sekunder

# Molasses



- tetes tebu
- mengandung 50% CHO (sukrosa) dengan 2% nitrogen, vitamin dan mineral, asam organik
- 12
- bahan baku untuk pembuatan etanol
- umumnya, molase juga digunakan untuk ruang lingkup peternakan dan juga pertanian.



# Malt extract



- Malt adalah kecambah biji-bijian sereal yang telah dikeringkan
- Biji-bijian dibuat berkecambah dengan merendamnya di dalam air, lalu menahan proses perkecambahan lebih lanjut dengan pengeringan
- Mengandung 90% CHO, 5% nitrogen dan protein, peptida dan asam amino





# Whey



- sampingan industri susu, tahu,
- Mengandung laktosa dan protein susu
- Susah untuk menyimpan (mendinginkan) mjd beku kering
- Banyak MO tidak akan memetabolisme laktosa tapi whey digunakan dalam produksi penecilluin, etanol, SCP, xanthan dll



## 4. Sumber Nitrogen

- ↳ Diberikan dalam bentuk :
  - ✓ senyawa organik seperti protein, urea dan asam amino
  - ✓ senyawa anorganik seperti gas amonia, garam amonium dan garam nitrat.
- ↳ Sumber Organik : corn steep liquor, yeast extract, pepton, soya bean meal
- ↳ Pada produksi antibiotik poliene, penggunaan sumber nitrogen secara cepat akan menghambat pembentukan produk ➡ dipilih bungkil kedele sebagai sumber nitrogen



pembentukan produk cepat, karena bungkil kedele mengandung protein dengan fosfor yang rendah dan hidrolisanya lambat.

## 5. Sumber Mineral

- Mineral penting dalam formulasi media : Mg, K, S, Ca dan Cl ➡ harus ditambahkan secara khusus.
- Co, Cu, Fe, Mn, Mo dan Zn ➡ penting dalam aktivitas mikroba, dan umumnya terdapat dalam bahan dasar sebagai *impurities* (pada tetes atau limbah pati jagung)

*Tabel 5. Kisaran Kadar Mineral dalam Media Fermentasi (g/l)*

Komponen	Kisaran
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.0-4.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25-3.0
KCl	0.5-12.0
$\text{CaCO}_3$	5.0
$\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	17.0
$\text{ZnSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	0.01-0.1
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.1-1.0
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.03-0.01
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.01-0.1

## 6. Sumber Vitamin

- ↪ Sumber C dan N biasanya sudah mengandung vitamin
- ↪ Pada produksi asam asetat perlu penambahan Ca pantotenat
- ↪ Pada produksi asam glutamat perlu penambahan biotin

## 7. Buffer

- ↳ Untuk pengaturan pH
- ↳ Jenis buffer yang umum ditambahkan : kalsium karbonat, protein, peptida, asam amino, amonia, NaOH dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$

## 8. Prekursor dan Pengendali Metabolisme

- Beberapa komponen dalam medium berfungsi sebagai pengendali pembentukan produk ➡ prekursor, penghambat atau pemacu proses metabolisme.
- Penambahan prekursor fenil asam asetat akan meningkatkan produksi penisilin hingga tiga kali lipat.
- Pembentukan gliserol akan dipercepat dengan penambahan Na-metabisulfit karena pembentukan asetaldehida dihambat.
- Akumulasi asam glutamat dalam media akan bertambah dengan penambahan penisilin ⇔ karena meningkatnya permeabilitas dinding sel.
- Akumulasi asam sitrat akan naik dengan adanya fosfat pada pH 2.0 karena terhambatnya pembentukan asam oksalat.
- Penambahan pati dan maltosa yang bersifat sebagai inducer dapat memacu pembentukan amilase oleh *Aspergillus sp.*
- Penambahan selulosa akan memacu pembentukan enzim selulase oleh *Trichoderma viridae*.



- prekursor : senyawa kimia yg ditambahkan ke medium fermentasi dan dpt berikatan dg molekul produk.
- Contoh : penggunaan phenylacetic acid pd fermentasi penisilin oleh *Penicillium chrysogenum*, terikat pd rantai samping molekul penisilin, membentuk penisilin G



- inducer : senyawa yg bersifat menginduksi sistem biosintesis produk enzim
- Inducible enzyme hanya disintesis utk merespon adanya inducer di lingkungannya, biasanya berupa substrat enzim atau senyawa yg strukturnya berdekatan
- Agar enzim tetap disintesis selama fermentasi, substrat inducer harus selalu ada dlm medium fermentasi → inducer diberikan terus dlm konsentrasi rendah
- Contoh :  
starch utk produksi  $\alpha$ -amilase oleh *Aspergillus* spp.  
dan maltosa oleh *Bacillus subtilis*,  
selulosa utk produksi selulase oleh *Trichoderma viride*





- inhibitor : senyawa kimia yg bersifat mengalihkan reaksi metabolisme, shg bisa dihasilkan satu atau lebih produk spesifik, utk akumulasi metabolisme intermediat.  
Contoh : penggunaan sodium bisulfit dlm produksi gliserol dg modifikasi fermentasi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dg merepres produksi aetaldehid.
- Atau utk meningkatkan produksi metabolit target dan menekan produk yg tdk diinginkan.  
Contoh : penggunaan inhibitor klorinasi bromid dlm produksi tetrasiklin oleh *Streptomyces aureofaciens* utk menekan dihasilkannya klortetrasiklin.
- Atau utk mempengaruhi struktur dinding sel shg meningkatkan permeabilitas ddg sel utk melepaskan metabolit.  
Contoh : penggunaan penisilin dlm produksi asam glutamat oleh *Micrococcus glutamicus*.



- elisitor : senyawa yg dihasilkan oleh mikroorganisme yg membantu mengsekresikan produk target dari sel tumbuhan.
- Contoh : dihasilkannya isoflavonoid pd kultur sel kedele oleh senyawa elisitor Pms yg dihasilkan oleh fungi patogen *Phytophthora megasperma* var. soja

# ANTIFOAM



- mrpk agensia surface-active yg mengurangi surface tension dg mengikat foam, shg mengurangi pembentukan foam
- foam : adanya protein yg terdenaturasi pada interface medium dan udara
- kontrol foaming : modifikasi komposisi medium, menggunakan pemecah foam, pemberian antifoam

# ANTIFOAM YG IDEAL



- cepat dan mudah tersebar dan reaktif
- aktivitas tinggi pd konsentrasi rendah
- aksinya lama
- non toksik thd mikroorg., manusia, hewan
- harga murah
- termostabil
- compatible dg komponen medium lainnya :  
tdk mempunyai efek thd laju transfer oksigen dan proses down stream
- contoh : plant oil, deodorized fish oil,  
mineral oil, tallow, alkohol, silikon oil

## 9. Kebutuhan Oksigen

- ↳ Formulasi media dapat mempengaruhi ketersediaan oksigen melalui metabolisme yang cepat, reologi serta adanya antifoam.
- ↳ Kadar glukosa yang terlalu pekat dapat menyebabkan metabolisme berlangsung cepat  $\Rightarrow$   $O_2$  berkurang
- ↳ Terbentuknya senyawa polisakarida mempengaruhi ketersediaan oksigen.
- ↳ Adanya buih dalam proses fermentasi menyebabkan kadar sel berkurang dan terjadi autolisis  $\Rightarrow$  perlu penambahan zat *anti foaming*  $\Rightarrow$  dapat mengakibatkan penurunan kecepatan transfer oksigen.
- ↳ Zat antifoam alami : minyak zaitun, minyak biji bunga matahari, minyak kedelai, minyak ikan yang dideodorisasi, minyak bumi dan tallow.
- ↳ Zat antifoam sintetis : minyak silikon, polialkohol, polialkil glikol



- diberikan dlm kondisi steril atau dlm btk oksigen murni
- kebutuhan bervariasi, tergantung pada sumber karbon yang digunakan → sumber karbon yang cepat dimetabolis tidak dalam konsentrasi tinggi (misalnya glukosa) dapat mengurangi oksigen
- foaming dan viskositas tinggi dapat mengurangi transfer oksigen

## ■ **CONTOH MEDIA FERMENTASI .....**

### ■ **Pembuatan Penicilin**

- **CARBON SOURCES:**

Lactose acts as a very satisfactory carbon compound, provided that is used in a concentration of 6%. Others such as glucose & sucrose may be used.

#### **NITROGEN SOURCES:**

- Corn steep liquor (CSL)
- Ammonium sulphate and ammonium acetate can be used as nitrogenous sources.

#### **MINERAL SOURCES:**

Elements namely potassium, phosphorus, magnesium, sulphur, zinc and copper are essential for penicillin production. Some of these are applied by corn steep liquor.

- **Calcium** can be added in the form of chalk to counter the natural acidity of CSL
- **PAA-** precursor