

# PENGEMBANGAN INOKULUM UNTUK INDUSTRI FERMENTASI

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

**Pengertian inokulum adalah** mikroorganisme atau patogen yang diinokulasikan ke dalam sebuah medium / inang, di mana mikroorganisme tersebut masih dalam keadaan hidup atau masih berada pada fase pertumbuhan yang sehat.

Inokulum artinya mikroorganisme yang akan dipakai dalam tahap kultur jaringan. Dengan demikian, Pengertian inokulum bakteri berarti bakteri yang akan di inokulasikan pada suatu kultur jaringan.

Inokulum artinya mikroorganisme yang akan dipakai dalam tahap kultur jaringan. Dengan demikian, Pengertian inokulum bakteri berarti bakteri yang akan di inokulasikan pada suatu kultur jaringan.

Sedangkan yang disebut dengan **inokulasi adalah** proses atau tahap kegiatan pemindahan mikroorganisme / patogen dari sumber asalnya (inang) ke sebuah medium yang baru dan telah disediakan sebelumnya dengan sangat teliti dan hati-hati. Hal ini dimaksudkan untuk bisa mendapatkan biakan mikroorganisme murni yang dapat digunakan untuk berbagai kepentingan, seperti: industri, pertanian dan bidang kesehatan. Sebuah inokulasi dapat berjalan dengan baik dan sesuai dengan harapan bila tingkat sterilisasi ruangan, peralatan, tenaga pelaksana dan teknik yang digunakan benar-benar memenuhi standar serta kriteria yang semestinya.

## INOKULUM

Inokulum adalah bahan padat/cair yang mengandung mikrobia/spora/enzim yang ditambahkan kedalam substrat/media fermentasi

Kriteria inokulum untuk industri :

1. Kultur mikrobia sehat dan aktif (dalam fase logaritmik)  
→ fase lag pendek
2. Tersedia dalam jumlah cukup untuk tercapainya proporsi inokulum dan media fermentasi yang optimal
3. Bebas kontaminan
4. Memiliki kemampuan membentuk produk yang tetap stabil
5. Berada dalam bentuk morfologi yang sesuai

- Proses fermentasi → diawali dg pemberian inokulum mikroba pefermentasi ke substrat, kmd diinkubasi selama waktu tertentu, sampai diperoleh produk fermentasi
- Istilah : Inokulum / Inokulan / Starter / Propagula

## Inokulum mempengaruhi keberhasilan fermentasi :

- jumlah sel dan spora inokulum
- konsentrasi inokulum
- umur inokulum
- medium inokulum

# INOKULUM

- Ragi
- Starter
- Bibit
- Biang
- Spawn
- Kultur induk

# TIPE INOKULUM

- Komposisi
  - Tunggal (murni)
  - Campur
- Tekstur
  - Padat
  - Cair
- Jenis
  - Sel vegetatif
  - Miselium
  - Spora

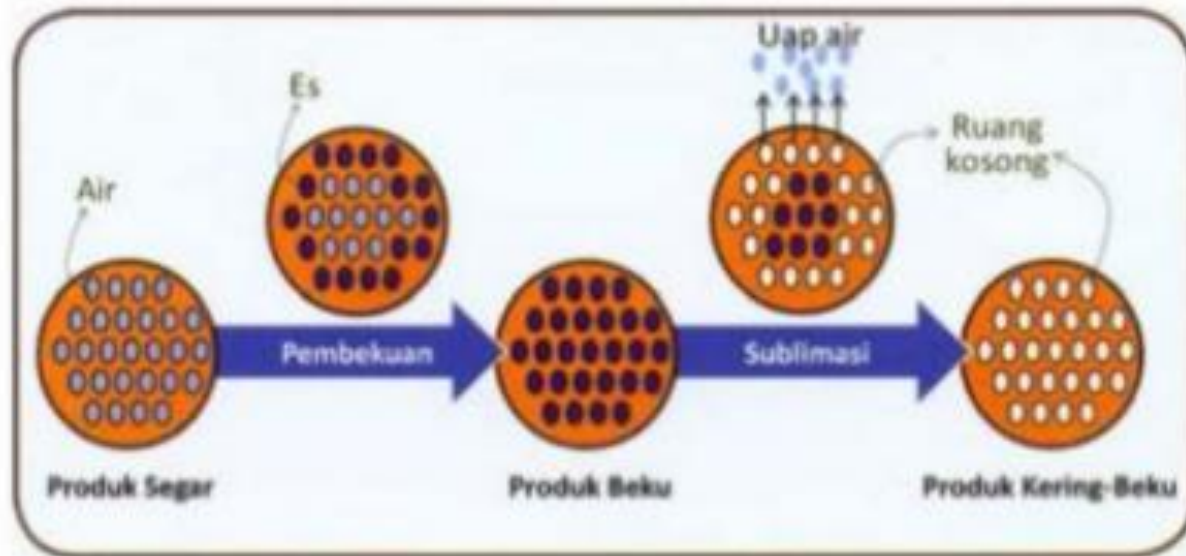


**Inokulum bisa berasal dr kultur segar atau kultur preservasi → harus diaktivasi dulu :**

- **kultur liofilisasi** 4 – 10 hari
- **kultur beku bakteri** 4 – 48 jam
- **kultur beku actinomycetes** 1 – 5 hari
- **kultur beku fungi** 1 – 7 hari
- **kultur dingin bakteri** 4 – 24 jam
- **kultur dingin actinomycetes** 1 – 3 hari
- **kultur dingin fungi** 1 – 5 hari

# LIOFILISASI / FREEZE DRYING

- Metode pengawetan produk dengan cara dibekukan kemudian dikeringkan (disublimasikan) dengan cara divakum
- Menghasilkan produk yang awalnya berfasa liquid menjadi produk padat tanpa mengandung air
- Mempertahankan produk (vaksin) agar diperoleh kestabilan strukturnya, baik kimia atau biologinya.



- Inokulum spora :

Kultur ditumbuhkan pada medium padat dg temperatur yg konstan selama 8 – 24 hari.

- Jumlah sel atau spora :

$10^6 - 10^9$  sel/ml

atau sesuai saran

# Konsentrasi inokulum :

- bakteri 0,1 - 3,0 %
- actinomycetes 5 - 10 %
- fungi 5 - 10 %
- suspensi spora  $1 - 5 \cdot 10^5$ /l cult.soltn.

# Umur inokulum :

- fase aktif kultur → fase pertumbuhan logaritmik / eksponensial → memperpendek fase adaptasi pd substrat baru

# Medium inokulum :

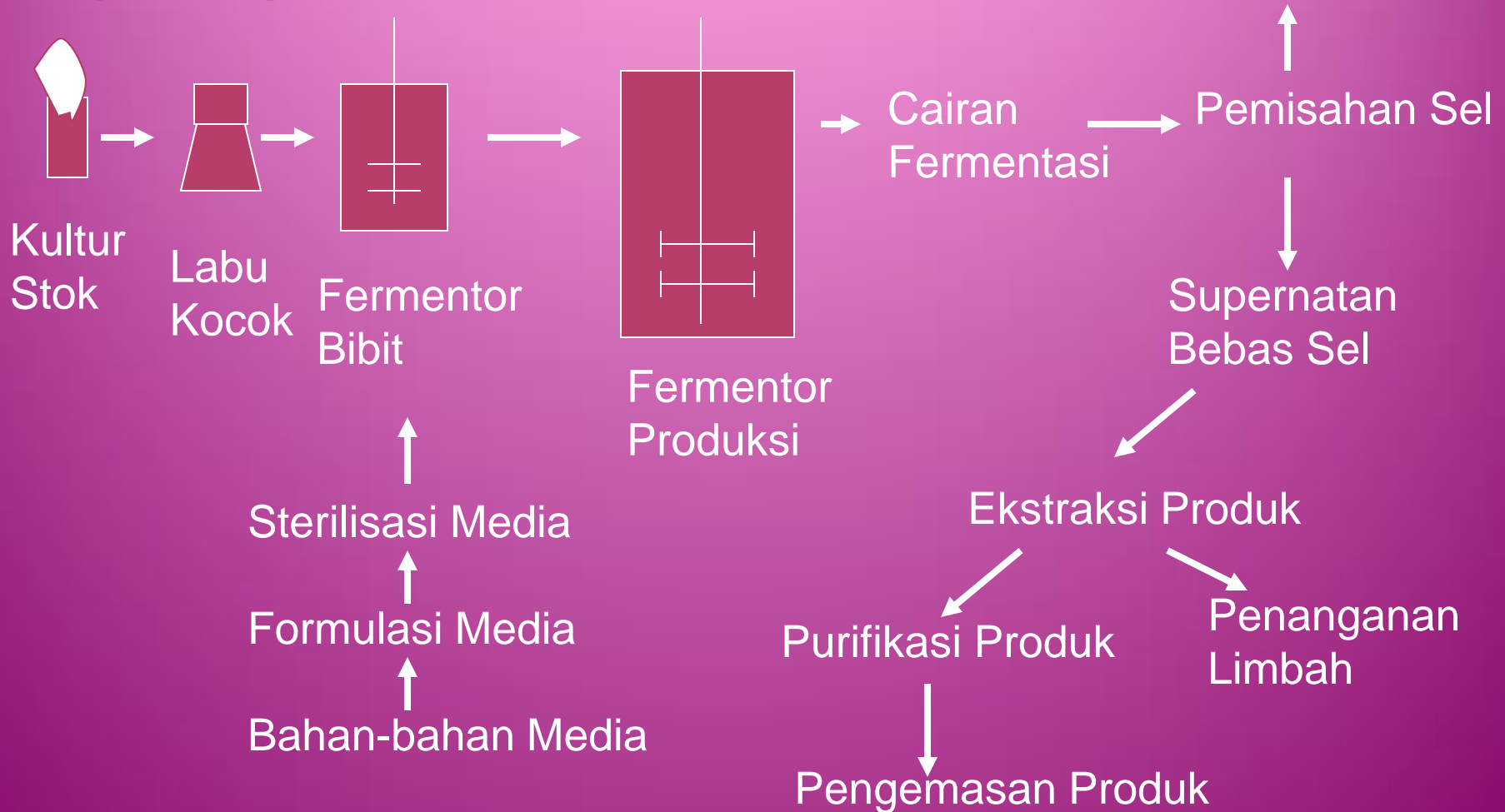
- medium propagasi (tahap penyesuaian mikroba terhadap lingkungannya atau ,media tumbuhnya sebelum benar-benar ditanam atau diinokulasikan ke media tumbuh yang sebenarnya)
- bisa tdk sama dg medium produksi
- dg menggunakan medium yg sama dg medium produksi pd tahap akhir pembuatan inokulum → utk meningkatkan produksi, memperpendek fase adaptasi

# Bentuk inokulum :

- suspensi mikroba (cair)
- inokulum padat (powder, grain, koji)
- sel mikroba vegetatif, spora

# SKEMA PROSES FERMENTASI

## Pengembangan Inokulum





## Komponen Proses Fermentasi

1. Formulasi media untuk penyiapan inokulum dan medium produksi
2. Sterilisasi media & fermentor/bioreaktor + perlengkapannya
3. Produksi inokulum yang aktif, murni dengan jumlah yang mencukupi
4. Pertumbuhan mikroba dalam fermentor pada kondisi optimum untuk pembentukan produk
5. Ekstraksi produk dan pemurniannya (Proses Hilir)
6. Pembuangan buangan/limbah yang dihasilkan selama proses

# Penentuan kondisi terbaik Fermentasi Asam Laktat

- Menggunakan mikroba *Lactobacillus casei* FNCC 266 & *Rhizopus oryzae*
- Variasi konsentrasi total gula (hidrolisat pati)
- Variasi jenis sumber nitrogen :  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan urea
- Waktu fermentasi s.d 72 jam (*Lactobacillus casei* FNCC 266 ) dan s.d 6 hari (*Rhizopus oryzae*)

# Diagram Alir Fermentasi Asam Laktat



Parameter : pH, Bobot Sel Kering, Total Asam/Asam Laktat, Gula Sisa



Produksi senyawa-senyawa penting  
menggunakan sel-sel hidup terimobilisasi

Senyawa	Sel-sel Mikroba	Carrier untuk Imobilisasi
Bir	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Polivinil klorida, bata, berliang renik, Kalsium alginat
Etanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kalsium alginat, k- karagenan, poliakrilamida, cincin Raschig berlapis, serpihan kayu
	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> <i>Saccharomyces bayanus</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Pachysolen tannophilus</i> <i>Zymomonas mobilis</i>	k-karagenan, silika berliang renik k-karagenan kalsium alginat kalsium alginat kalsium alginat, k-karagenan, manik- manik polistiren, borosilikat, hambalan serat gelas.

Produksi senyawa-senyawa penting  
menggunakan sel-sel hidup terimobilisasi

Senyawa	Sel-sel Mikroba	Carrier untuk Imobilisasi
Gliserol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	k-karagenan
Asam Asetat	<i>Acetobacter acetii</i>	Keramik berliang renik, Titanium hidrus
Asam Sitrat	<i>Aspergillus niger</i> <i>Saccharomyces lipolytica</i>	Kalsium alginat Serpihan kayu
Asam Glukonat	<i>Aspergillus niger</i>	Kalsium alginat
Asam laktat	<i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Kalsium alginat Kalsium alginat
Asam L- Glutamat	<i>Brevibacterium flavum</i> <i>Corynebacterium glutamicum</i>	Kolagen
L-Isoleusin	<i>Serratia marcescens</i>	k-karagenan
Vitamin B <sub>12</sub>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Poliuretan
Amilase	<i>Bacillus subtilis</i>	Poliakrilamida
Selulase	<i>Trichoderma reesei</i>	k-karagenan
Protease	<i>Streptomyces fradie</i>	Poliakrilamida

## PENGAWETAN DAN PEMELIHARAAN KULTUR

1. Suhu dingin, 5-10°C, dilakukan penyegaran dengan cara pergantian media setiap minggunya.
2. Pembekuan :
  - Suhu -20°C atau lebih rendah.
  - Perlu penambahan *cryoprotective* misalnya gliserol.
  - Selama transportasi kultur harus dalam keadaan beku.
  - Viabilitas 1-2 tahun
3. Pembekuan suhu *ultra cold*
  - Suhu -50 sampai -80°C.
  - *Cryoprotective* yang digunakan : gliserol 10% (v/v) dan dimetil sulfoxida (DMSO) 5% (v/v).
  - Sel dipanen pada saat pertengahan atau akhir fase pertumbuhan
4. Pembekuan dengan Nitrogen cair dengan suhu -196°C.
5. Pengeringan kultur.



## Pengeringan Kultur

a. Pengeringan Vakum

b. Pengeringan Semprot (suhu 70°C)

- Telah berhasil di USA dan Swedia
- Untuk mencegah kerusakan selama pengeringan ditambahkan senyawa :
  - asam askorbat
  - Na-glutamat
  - Lisin

c. Pengeringan beku :

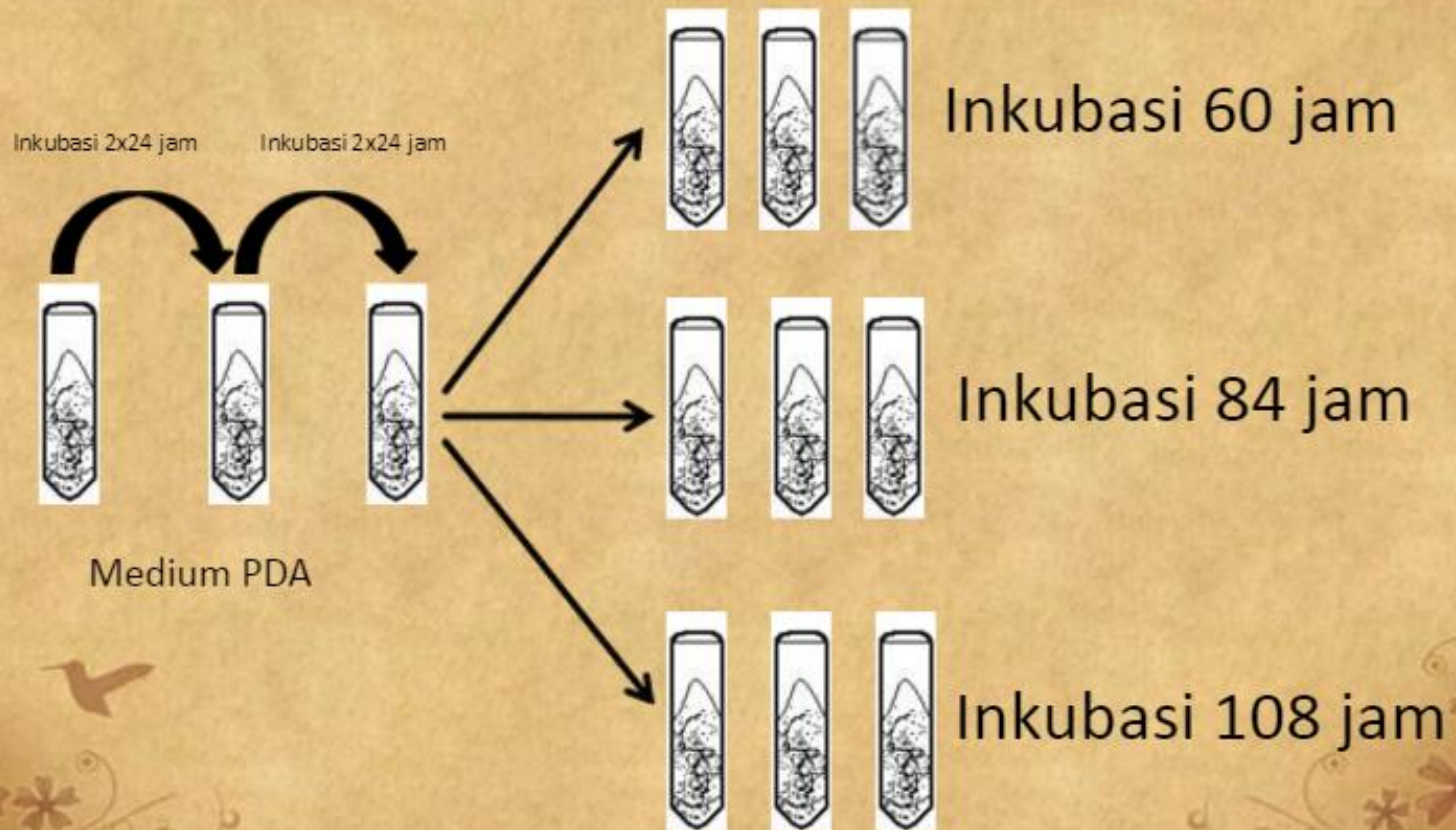
- |                   |                 |
|-------------------|-----------------|
| - Asam L-glutamat | - Skim          |
| - L-arginin       | - Gliserol      |
| - Lactosa         | - Kasiton       |
| - Malt ekstrak    | - Asetil Glisin |
| - Sukrosa         |                 |



PENGARUH UMUR INOKULUM  
PADA PERTUMBUHAN JAMUR  
*Aspergillus niger*

# Metode Kerja

## Subkultur dan Penyiapan Inokulum



# Suspensi Spora

Spora digosok-gosok  
dengan Oose



NaCl 0.85%  
+ Tween 80 0.01%



=



Suspensi Spora



Pengukuran kepadatan spora  
(haemacytometer)



# Perlakuan Variasi Umur Inokulum

10% v/v  
Inokulum  $10^6$   
spora/mL

Medium PDB

Hari ke-0

1

2

3

4

5

6

60 jam



84 jam



108 jam



Inkubasi pada Shaker 120 rpm

# Pengukuran Berat Kering

penyaringan



pH diukur



Pengeringan dengan oven  
selama 2 jam kemudian  
ditimbang

# Hasil Penyiapan Inokulum



Kultur Stok



Subkultur 1



# Hasil Penyiapan Inokulum



Inokulum Umur 60 jam, 84 jam dan 108 jam