



[www.esaunggul.ac.id](http://www.esaunggul.ac.id)

# TEKNOLOGI FERMENTASI

## IBP 611

*By Seprianto S.Pi, M.Si*



## Pertemuan 3

# FORMULASI MEDIA FERMENTASI

# Tujuan Perkuliahan

- Mahasiswa dapat menjelaskan tentang medium fermentasi dan komponen-komponen penyusunnya
- Mahasiswa dapat menjelaskan cara memformulasi medium fermentasi
- Mahasiswa mampu menjelaskan tahapan pekerjaan dalam teknologi fermentasi (formulasi medium

# Substrat Alternatif Fermentasi



# PEMILIHAN MEDIA FERMENTASI

## Kriteria untuk pemilihan media :

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

# PEMILIHAN MEDIA FERMENTASI

Contoh : media alternatif

- 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

- 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 + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + panas



Dinyatakan secara kuantitatif

## Langkah-langkah dalam merancang formulasi medium

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

<b>Element</b>	<b>Symbol</b>	<b>Atomic</b>	<b>Physiological function</b>
Sulfur	S	16	Constituent of <b>cysteine, cystine, methionine and proteins</b> as well as some coenzymes as <b>CoA and cocarboxylase</b>
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 special enzymes
Molybdenum	Mo	42	

## 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

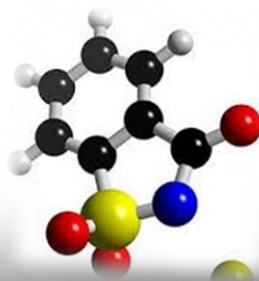
### 3. Kebutuhan Energi

- ❑ Mikroba dapat mengkonversi zat kimia dasar menjadi molekul kompleks → perlu energi → berasal dari oksidasi zat organik tereduksi yang terkendali.
- ❑ Karbon digunakan untuk menghasilkan energi (biosintesis) dan untuk memenuhi keperluan karbon pada sel dalam.
- ❑ Persamaan reaksi biosintesis sel :



Rasio massa sel per unit substrat (M/A) tergantung pada proporsi substrat untuk energi dan untuk massa sel

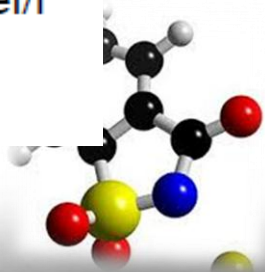
$$Y = \frac{\text{berat kering sel yang diperoleh}}{\text{berat substrat Karbon yang dipakai}}$$



Tabel 3. Harga Y terhadap substrat yang digunakan

Substrat	Koefisien Yield Sel
Metan	0.62
n-Alkana	1.03
Metanol	0.40
Etanol	0.68
Asetat	0.34
Maleat	0.36
Glukosa	0.51

Contoh : Harga Y untuk glukosa = 0.5  $\Rightarrow$  untuk memproduksi 30 g sel/l disediakan  $30/0.5$  g glukosa = 60 g glukosa/l.

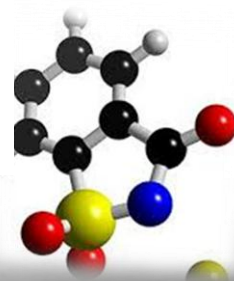


## Contoh langkah-langkah formulasi medium :

1. Untuk mensintesa 30 g/l massa sel khamir dengan amonium sulfat sebagai sumber N dan S maka perlu pemasukan 12 g/l  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , sehingga dipasok 2.4 g/l N dan 3.0 g/l S.



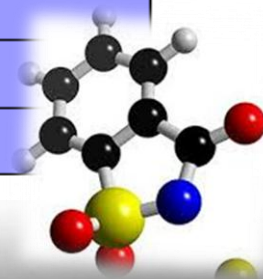
Dengan kalkulasi yang sama dapat dirancang bangun medium minimal untuk sintesis 30 g/l biomassa khamir.





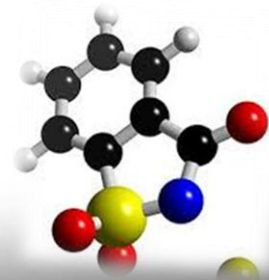
Tabel 4. Medium pertumbuhan untuk produksi 30 g/l khamir pada sumber karbon terseleksi

Komponen Medium	Konsentrasi (g/l)
Sumber Energi-Karbon	
Metanol	60.0
Etanol	40.0
Glukosa	60.0
Heksadekan	30.0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	12.0
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.3
$\text{MgSO}_4$	1.5
Mineral sedikit	
(Cu,Co,Fe,Ca,Zn,Mo,Mn)	$10^{-4}\text{M}$



# Komponen Penyusun Media

- Air
- Sumber Tenaga
- Sumber karbon
- Sumber Nitrogen
- Sumber Vitamin
- Buffer
- Prekursor dan pengendali metabolisme
- Kebutuhana oksigen



## A. Air

- Komponen utama media fermentasi
- Faktor - faktor yang perlu dipertimbangkan ;

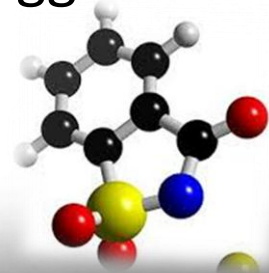
pH

Bahan terlarut

Kandungan mineral

Perlu perlakuan pendahuluan  
Deionisasi, Pengaturan pH

- Produksi bir perlu air berkadar  $\text{CaSO}_4$  dan  $\text{CaCO}_3$  tinggi



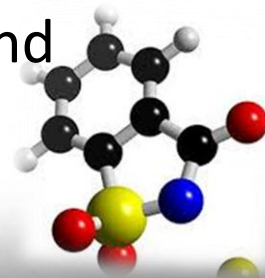
## C. Sumber Karbon

- 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.



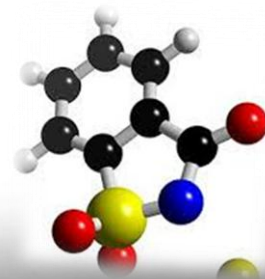
## C. Sumber Karbon.....

- **Molasses**
  - ✓ By product of cane sugar production
  - ✓ a dark viscous syrup containing 50% CHO (sucrose) with 2% nitrogen, vitamins and minerals
- **Malt extract**
  - ✓ Use aqueous extracts of malted barley to produce C sources for cultivation of fungi and yeasts
  - ✓ Contain 90% CHO, 5% nitrogen and proteins, peptides and amino acids



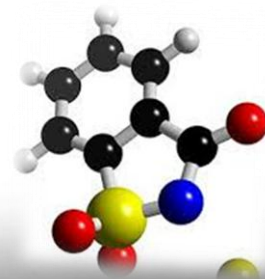
## C. Sumber Karbon.....

- **Whey**
  - ✓ Aqueous by product of dairy industry
  - ✓ Contains lactose and milk proteins
  - ✓ Difficult to store (refrigerate) so freeze dried
  - ✓ Many MO's won't metabolize lactose but whey is used in production of penecilluin, ethanol, SCP, xanthan gum etc



## D. 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  $\square$  dipilih bungkil kedele sebagai sumber nitrogen

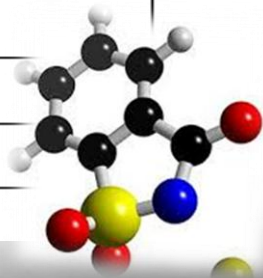


## E. Sumber Mineral

- ↪ 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)

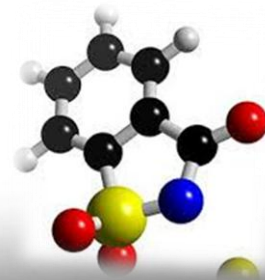
Komponen	Kisaran
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.0-4.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25-3.0
KCl	0.5-12.0
$\text{CaCO}_3$	5.0
$\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	17.0
$\text{ZnSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	0.01-0.1
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.1-1.0
$\text{CuSO}_4 \cdot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





## F. 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



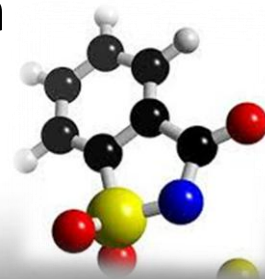
## G. Buffer

- Untuk pengaturan pH
- Jenis buffer yang umum ditambahkan : kalsium karbonat, protein, peptida, asam amino, amonia, NaOH dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



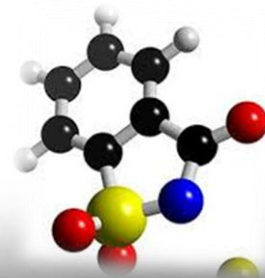
## H. Prekursor dan Pengendali Metabolisme

- 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



## H. Prekursor dan Pengendali Metabolisme

- 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*.



## i. Kebutuhan Oksigen

- Formulasi media dapat mempengaruhi ketersediaan oksigen melalui metabolisme yang cepat, agitasi serta adanya antifoam.
- Kadar glukosa yang terlalu pekat dapat menyebabkan metabolisme berlangsung cepat membuat O<sub>2</sub> berkurang
- Terbentuknya senyawa polisakarida mempengaruhi ketersediaan oksigen.
- Adanya buih dalam proses fermentasi menyebabkan kadar sel berkurang dan terjadi autolisis → perlu penambahan zat *anti foaming* → dapat mengakibatkan penurunan kecepatan transfer oksigen



## i. Kebutuhan 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



## CONTOH MEDIA FERMENTASI

- **Pembuatan nata de coco**
  - ✓ Air kelapa sebanyak 1L dididihkan lalu ditambahkan 6,7 g gula pasir dan 5 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .
  - ✓ Setelah dingin pH media diatur sehingga mencapai 4 dengan menambahkan asam asetat glasial
  - ✓ diinokulasi dengan starter dan diinkubasi pada suhu 30 – 32 oC.

