



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

# TEKNOLOGI FERMENTASI

## IBP 611

*By Seprianto S.Pi, M.Si*



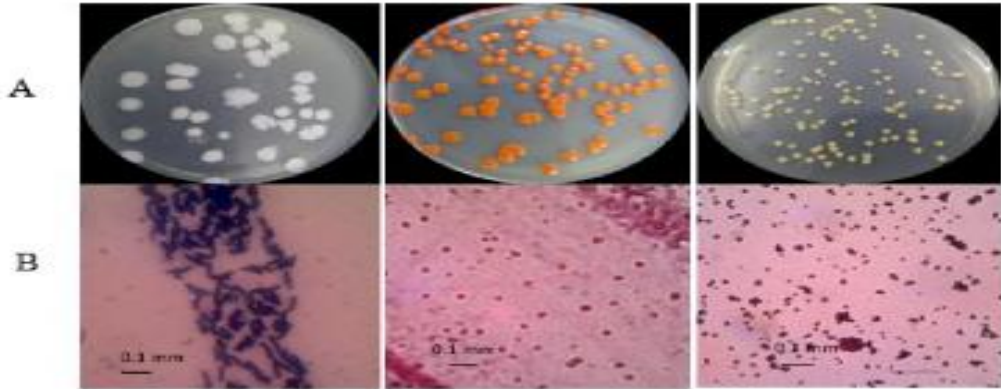
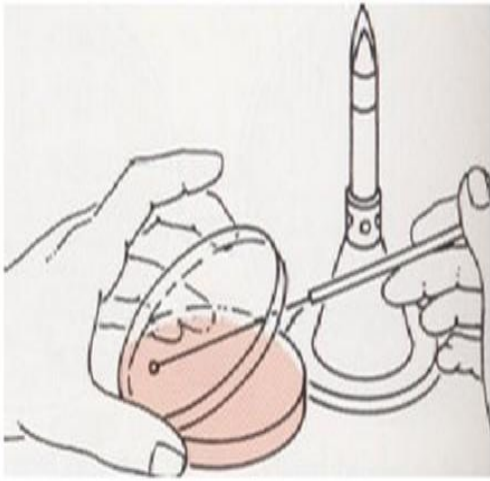
## Pertemuan 6

# Pengembangan Inokulum

# Tujuan Perkuliahan

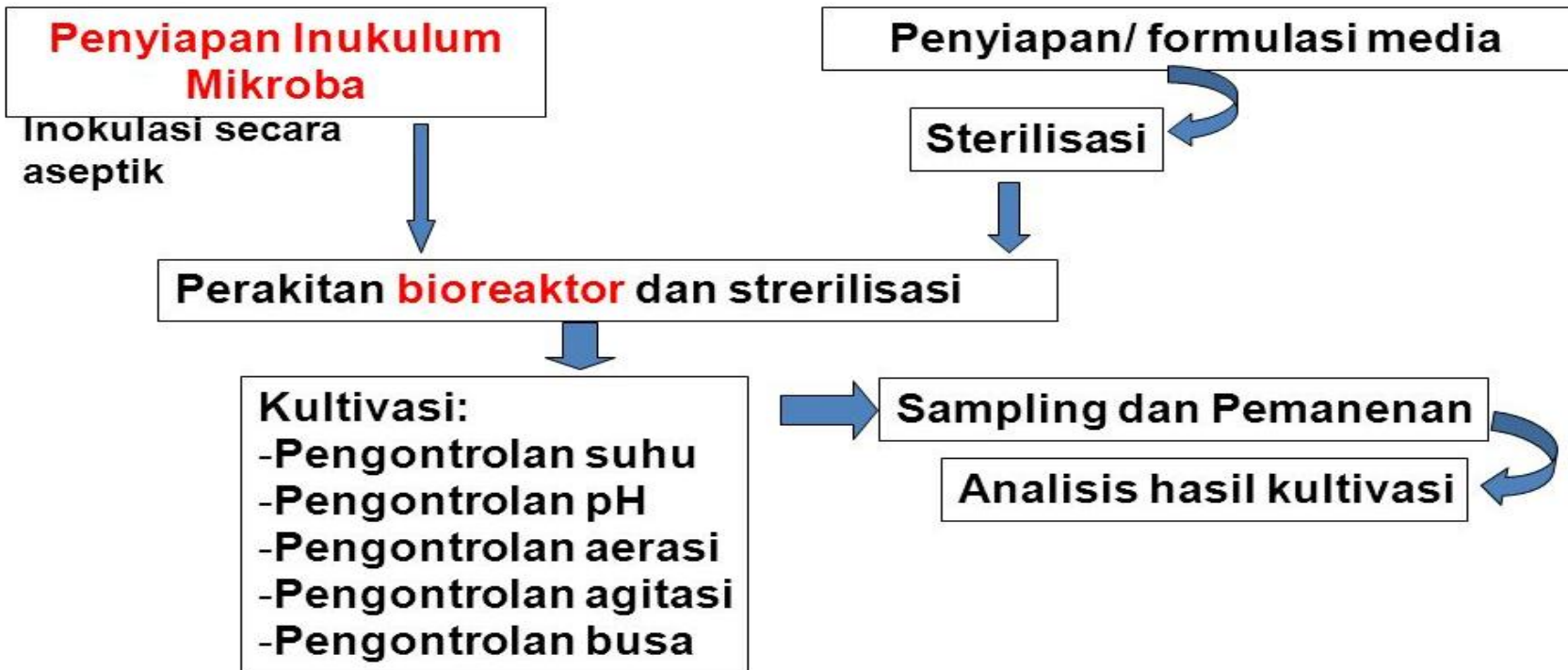
- Mahasiswa mampu menjelaskan tahapan pekerjaan dalam teknologi fermentasi (Pengembangan inokulum)
- Mahasiswa dapat menjelaskan tujuan pengembangan inokulum yang digunakan untuk stater
- Mahasiswa dapat menjelaskan tahapan proses pengembangan inokulum
- Menjelaskan factor-faktor yang berpengaruh pertumbuhan Inokulum

# Pengembangan Inokulum



**Labu Kultur**

# Kultivasi dalam Fermentasi

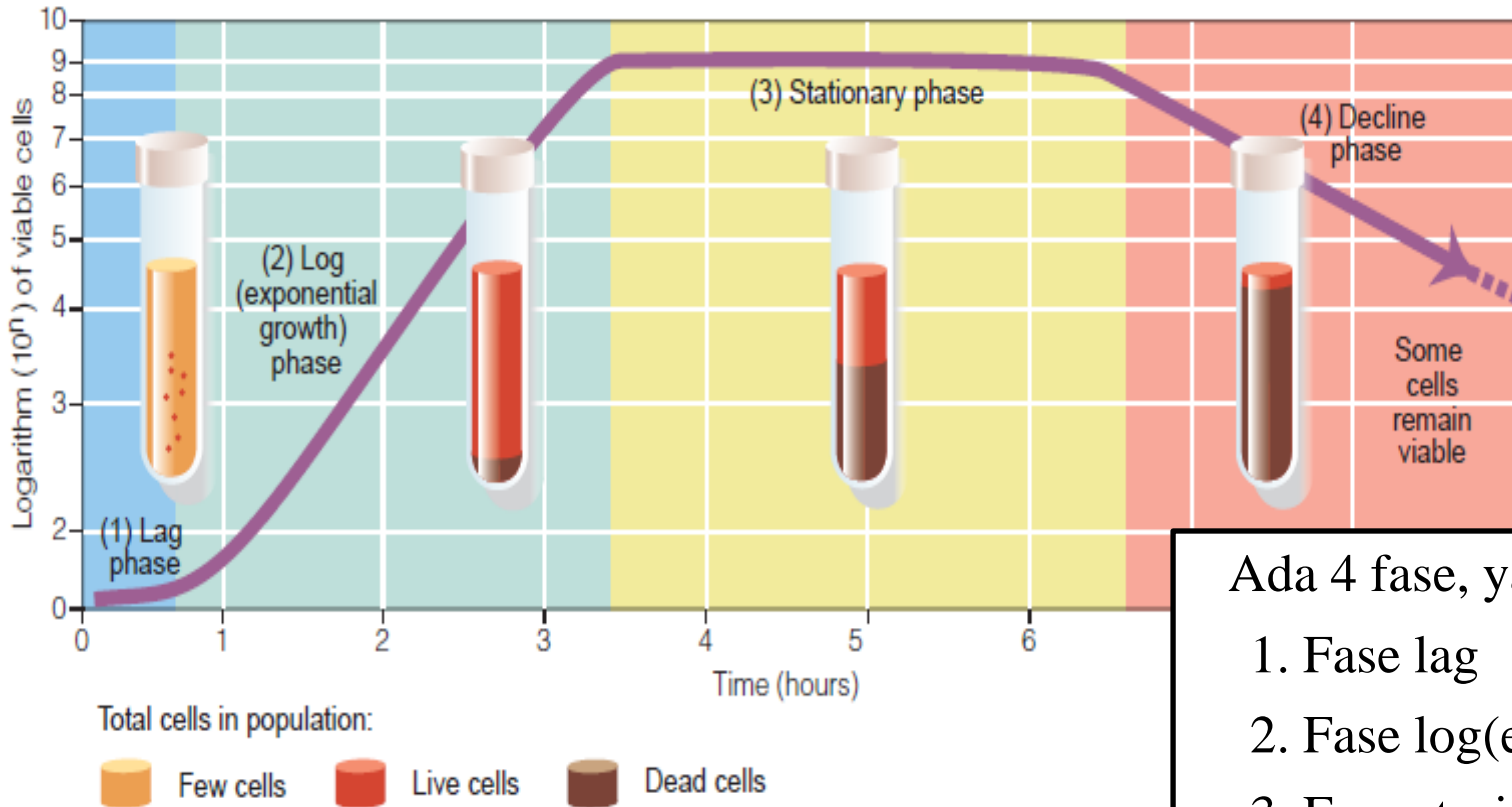


## PENYIAPAN INOKULUM

- **Inokulum :**  
kultur mikroba yang diinokulasikan ke dalam media kultivasi
  - kultur mikroba aktif yang dipanen pada fase pertumbuhan eksponensial
  - Kurva Pertumbuhan (pada Kultivasi Curah)



# Kurva Pertumbuhan Bakteri



Ada 4 fase, yaitu :

1. Fase lag
2. Fase log(eksponensial)
3. Fase stasioner
4. Fase kematian

# Kurva Pertumbuhan Bakteri

- **Fase Eksponensial** :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

(diturunkan dari neraca massa)

- **Keterangan :**

**X = konsentrasi biomassa di dalam bioreaktor  
(g/l bobot kering)**

**$\mu$  = laju pertumbuhan spesifik (1/jam)**

**t = waktu (jam)**

- **Model pertumbuhan mikrobial ini dikenal sebagai Model Pertumbuhan Eksponensial**



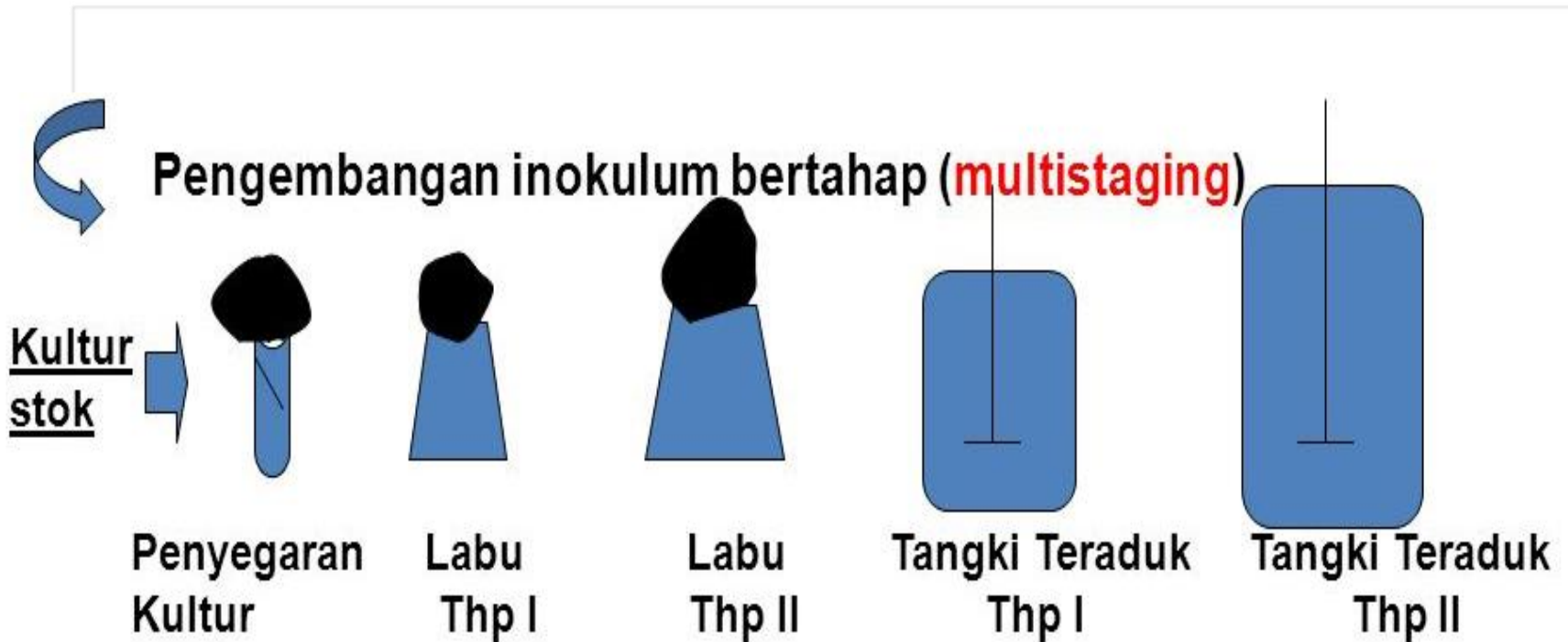
# Kriteria Inokulum

- Sehat & berada dalam keadaan aktif
- Tersedia dalam jumlah cukup, sehingga memenuhi ukuran optimum inokulum (3-10 % v/v)
- Berada dalam morfologi yang sesuai (*A. niger* pelet)
- Bebas kontaminasi oleh mikroba lain yg tdk dikehendaki
- Dapat mempertahankan kemampuannya untuk membentuk produk yang diinginkan (secara genetik stabil)
- Dipengaruhi oleh media kultur yang digunakan

# Penyiapan inokulum

- ditujukan untuk memperbanyak sel, bukan pembentukan produk
- Komposisi media untuk inokulum mungkin berbeda dengan media kultivasi (N tinggi C/N lebih kecil)
- untuk mempersingkat fase adaptasi, sebaiknya media kultur untuk inokulum mirip dengan media kultivasi
- Jumlah inokulum 3 – 10 % (v/v), sehingga kultur induk (kultur stok) yang dorman (tidak aktif) harus dikembangkan beberapa tahap, tergantung ukuran bioreaktor yang akan digunakan

# Pengembangan Inokulum Bertahap



**Agar miring**



**Kultur  
Stok  
(dorman)**

**Penyegaran  
(reaktivasi)**

**Media cair**



**Propagasi**

**Inokulum**

**Bioreaktor**

**Kultivasi  
Pada Bioreaktor**



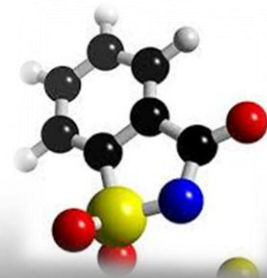
- **Penting diperhatikan pada Pengembangan Inokulum :**  
Resiko kontaminasi cukup besar → harus dilakukan secara aseptis & dilakukan pengujian kemurnian kultur (a.l cek dg mikroskop)
- **Contoh Penyiapan Inokulum**  
**Bakteri *Clostridium* sp (produksi aseton-butanol)**

Tahap	Kondisi Kultur	Media
I	Rekonstitusi isolat <b>ampul</b>	Potato Glucose Broth (pepton)
II	Inokulasi ke media 600 ml	Gula 4 % (Molase) (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 %, CaCO <sub>3</sub> 6 %, fosfat 0,2 %
III	Inokulasikan 90 ml ke dlm 3 L (labu erlenmeyer 4 L)	Idem Thp II
IV	Inokulasi ke dalam bioreaktor 25.000 L	Idem Thp II (6 % gula)
V	Inokulasi ke dalam bioreaktor 300.000 – 2.500.000 L (0,5 – 3 %)	Idem Thp IV ditambah amonia



# Penyiapan Inokulum Kapang

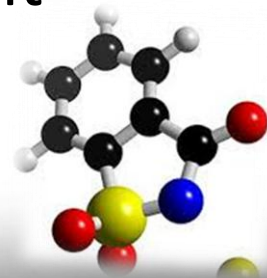
- Sebagian besar kapang membentuk spora aseksual
- Untuk pembuatan inokulum biasanya digunakan suspensi spora sebagai inokulum
  - Contoh : *Penicillium chrysogenum* (penisilin), *Aspergillus niger* (asam organik : contoh asam sitrat), *Actynomicetes* (antibiotika)





# Penyiapan Inokulum Kapang

- Inokulasi spora langsung dapat mengurangi biaya produksi
- inokulasi setelah spora bergerminasi dapat mempersingkat waktu kultivasi
- Produksi spora dapat dilakukan dengan menggunakan media padat (agar, biji-bijian : kedelai, bekatul, beras, jagung giling, barley, malt dll) atau media cair



# Penyiapan Inokulum Kapang

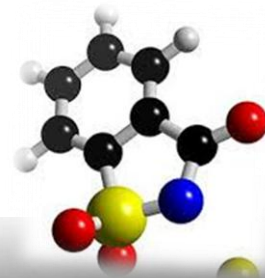
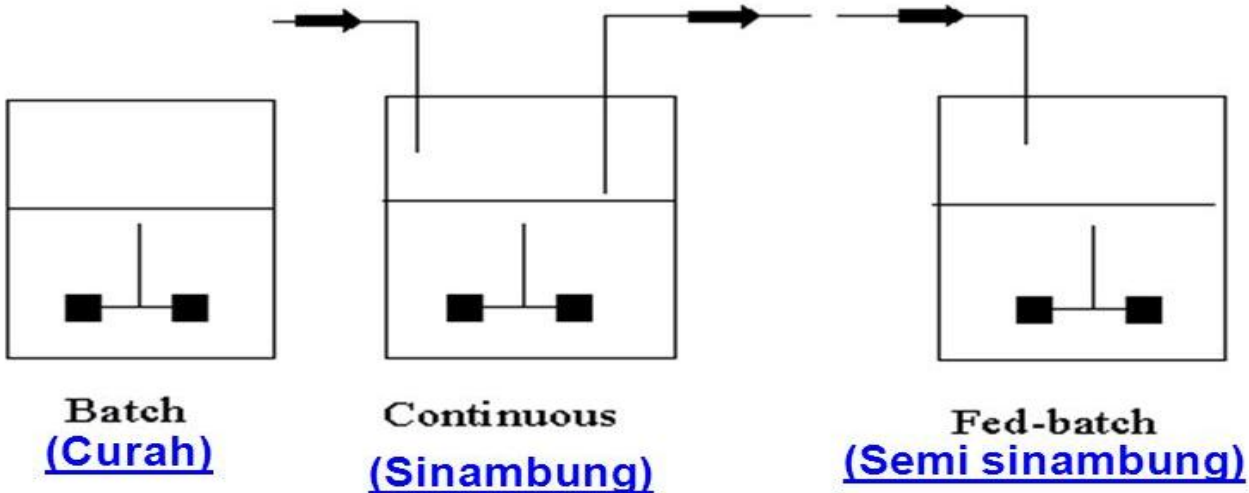
Pada kultivasi cair (kultur terendam)

- komposisi media & konsentrasi spora akan mempengaruhi bentuk kapang (filamen atau pelet)
- konsentrasi spora :
  - bentuk filamen : viskositas naik
  - bentuk pelet (gumpalan) : viskositas (menurun)



# Metode Kultivasi

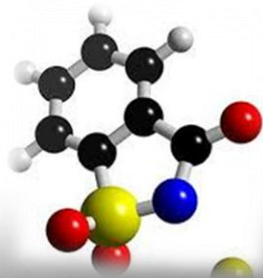
- Terdapat tiga metode kultivasi berdasarkan cara operasi bioreaktor :
  - curah (batch)
  - sinambung (continuous)
  - semi sinambung (fed batch)



# Kultur Curah

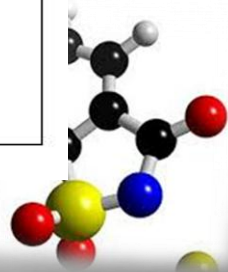
## Pelaksanaan kultivasi :

- Bioreaktor diisi dengan media segar steril lalu diinokulasi kultur mikroba (inokulum) → merupakan sistem tertutup
- Pada akhir kultivasi, isi bioreaktor dikeluarkan untuk dilakukan pemanenan (proses hilir)
- Bioreaktor selanjutnya dibersihkan dan disterilisasi untuk digunakan pada kultivasi berikutnya



# Karakteristik kultur curah

1. Resiko kontaminasi rendah
2. Kultur curah merupakan cara yang paling sederhana, sehingga menjadi titik awal untuk studi kinetika
3. Tidak perlu mikroba dengan kestabilan tinggi
4. Dapat untuk fase fermentasi yang berbeda pada bioreaktor yang sama  
(Contoh : produksi metabolit sekunder e.g antibiotik pertumbuhan sel pada fase eksponensial & pembentukan produk pada fase stasioner)
5. Dari aspek rekayasa proses, kultur curah lebih fleksibel dalam perencanaan produksi, terutama untuk memproduksi beragam produk dengan pasar kecil
6. Kelemahan : produk yang menghambat pertumbuhan terakumulasi, sehingga metabolisme sel terganggu





## Aplikasi Kultur Curah :

Digunakan untuk memproduksi biomassa, metabolit primer dan metabolit sekunder

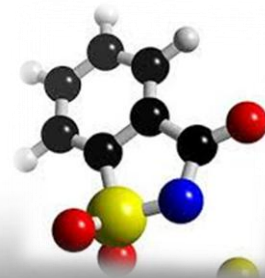


- Untuk produksi biomassa → digunakan kondisi kultivasi yang mendukung pertumbuhan biomassa (nutrisi/O<sub>2</sub> untuk m.o aerob mencukupi), sehingga mencapai maksimal
- Untuk produksi metabolit primer → kondisi kultivasi harus dapat memperpanjang fase eksponensial yang dibarengi dengan sintesis produk (pengaturan konsentrasi substrat)
- Untuk produksi metabolit sekunder → kondisi kultivasi harus dapat memperpendek fase eksponensial dan memperpanjang fase stasioner → pengaturan nutrisi media

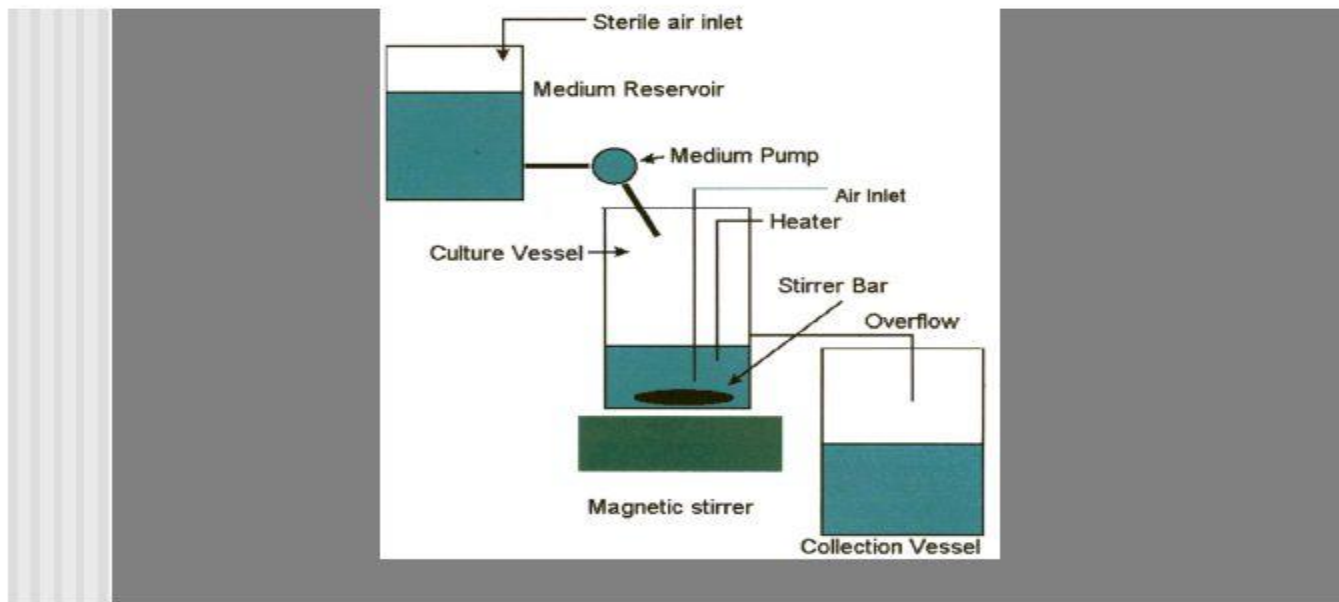


# KULTUR SINAMBUNG

- Media segar secara kontinyu ditambahkan ke dalam bioreaktor, dan pada saat yang bersamaan cairan kultivasi dikeluarkan dg laju alir yang sama (Sistem Terbuka)
- Sel mikroba secara kontinyu berpropagasi menggunakan media segar yang masuk, dan pada saat yang bersamaan produk, produk samping metabolisme dan sel dikeluarkan dari bioreaktor
- Dapat mengatur konsentrasi sel mikroba
- Sedikit pembersihan di banding kultur curah
- Imobilitas sel



**Ciri khas** : kondisi lingkungan (suhu, pH, O<sub>2</sub> dan konsentrasi nutrisi) dapat dipertahankan **tetap (steady-state)** → kons. biomassa atau  $\mu$  (laju pertumbuhan spesifik) dapat diatur & konstan dipertahankan selama kultivasi (dg mengatur kons. substrat umpan)



Source :  
[Microbial Growth](#)

Kultivasi sinambung (**Kemostat**) : laju pertumb. dikendalikan oleh komp. tunggal pd medium (substrat pembatas)

$$\rightarrow X = yx/s (S_0 - S)$$

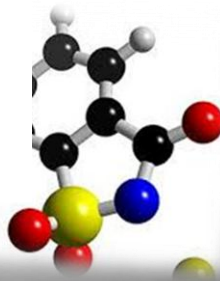
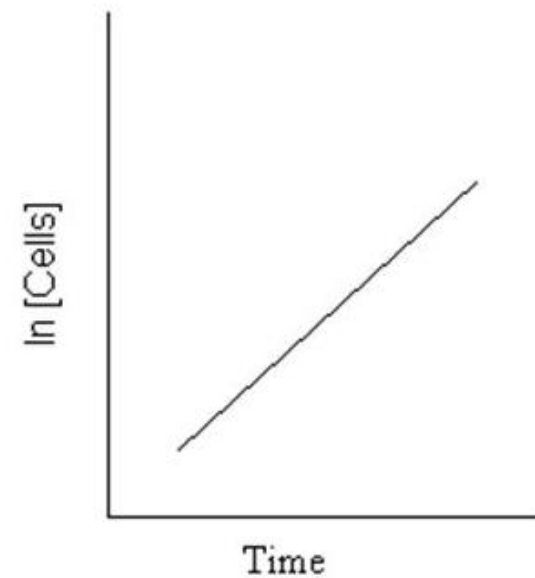
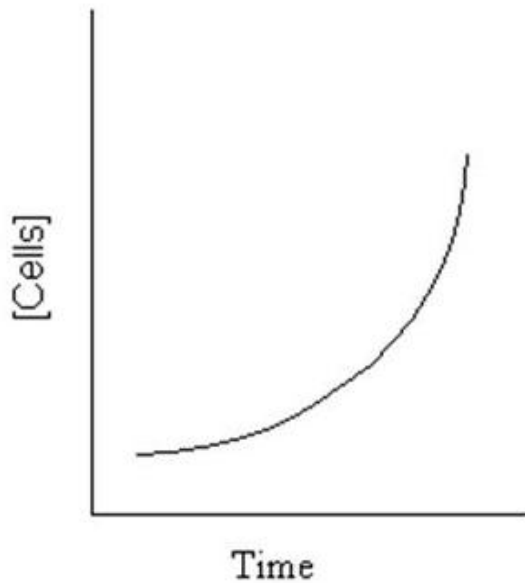
# KULTUR SINAMBUNG

1. Memerlukan mikroba dengan kestabilan genetik tinggi (mikroba rekombinan kadang tidak stabil sifat genetiknya)
2. Produktivitas lebih tinggi
3. Dapat dijalankan pada waktu yang lama
4. Harus ada pasar/konsumen yang tetap terhadap produk
5. Cocok untuk proses yang resiko kontaminasinya rendah (contohnya penanganan limbah cair) & produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan
6. Pemantauan dan pengendalian proses lebih sederhana
7. Tidak ada akumulasi produk yang menghambat



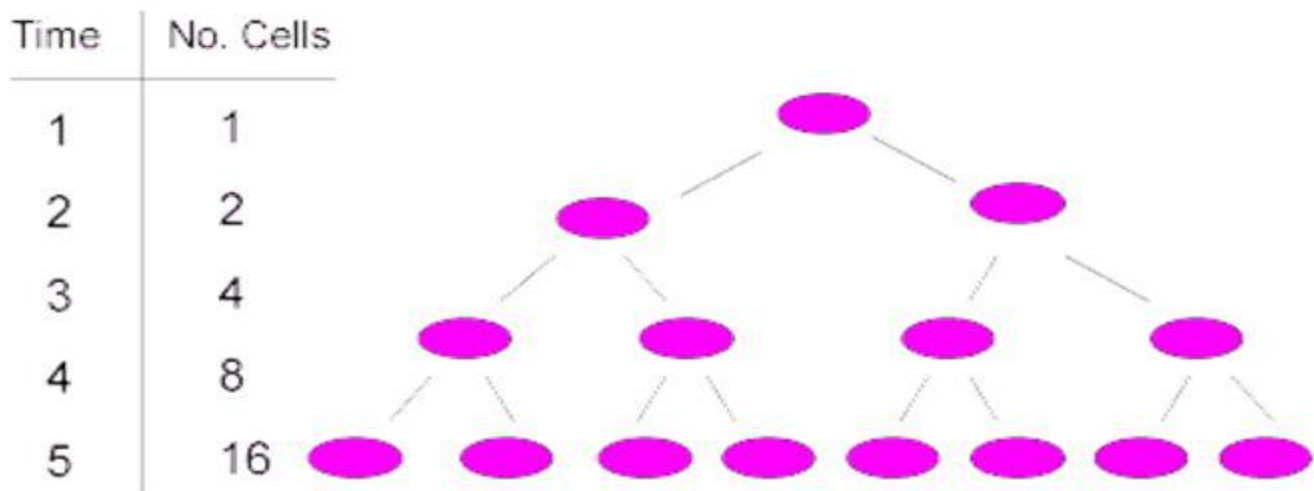
# KULTUR SINAMBUNG

- Plot antara  **$\ln[\text{Sel}]$  terhadap waktu** akan menghasilkan hubungan garis lurus pada fase eksponensial



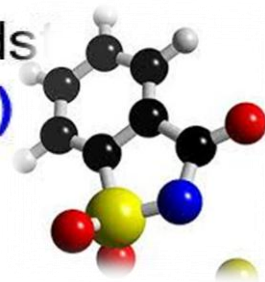


- Mengapa populasi sel meningkat dengan cara **eksponensial** ?
- Perhatikan **sel tunggal** (contoh bakteri) di dalam bioreaktor. Sel ini membelah diri tiap satuan waktu.
- Populasi sel pada tiap waktu generasi dapat digambarkan sbb.



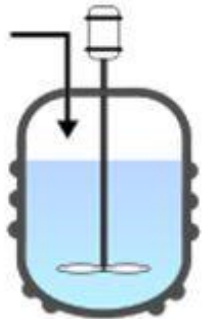
Bila 1 sel membelah menjadi 2 sel  $\rightarrow 2 \rightarrow 4 \rightarrow 8 \dots$  ds  
 $1 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow 2^4 \dots \rightarrow 2^n = N$  (jumlah sel)

Pangkat (**eksponen**)  $n =$  jumlah generasi



## KULTUR Semi Sinambung (FED BATCH)

- Media segar ditambahkan ke dalam bioreaktor secara kontinu/sekuensial tanpa pengeluaran isi bioreaktor



<http://www.thefullwiki.org/Fed-batch>

- Pada saat isi bioreaktor penuh, bioreaktor dikosongkan, baik sebagian atau seluruhnya dan proses dimulai kembali.
- Harus disediakan ruang dalam bioreaktor (head space) untuk penambahan media

Meskipun total biomassa meningkat terhadap waktu, namun konsentrasi sel tetap mengingat volume juga meningkat, akibat ada penambahan media/umpan



