



www.esaunggul.ac.id

BIOTEKNOLOGI PANGAN

Program Studi Bioteknologi

Oleh: **Seprianto, S.Pi, M.Si**



Pertemuan Ke 8

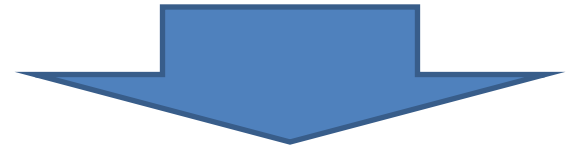
BIOTEKNOLOGI BIOPROSES

Defenisi Bioproses

- Teknologi Bioproses merupakan cabang ilmu dari teknik kimia atau teknik biosistem yang berhubungan dengan perancangan dan konstruksi proses produksi yang melibatkan agen biologi
- Agen biologi dapat berupa mikroorganismen (bakteri, kapang, mikroalga) atau enzim yang dihasilkan oleh mikroorganismen tersebut

BIOPROSES

Mikroorganisme/mikroba mampu untuk memperbanyak diri dalam waktu yang sangat singkat dengan melangsungkan reaksi-reaksi biokimia yang rumit dalam selnya.



- Untuk memanfaatkan mikroba → perlu menguasai pengetahuan tentang biokimia sel terutama **metabolisme sel**, sebagai sistem dasar yang digunakan mikroba untuk melaksanakan aktivitas pertumbuhan dan perkembangbiakannya.
- → **Fisiologi** adalah ilmu yang mempelajari perubahan-perubahan kimia yang terjadi di dalam sel dikaitkan dengan perkembangan, pertumbuhan dan siklus hidupnya.

Bioproses

- Aplikasi dari teknik bioproses dijumpai pada industri obat-obatan, bioteknologi pangan, energi, dan industri pengolahan air (baik air bersih maupun air limbah)



BioReaktor



Bio-Proses

Sel
(mikroba/hewan/tanaman)



- Microbial cells
- Enzymes
- Microbial metabolites



- Pharmaceutical products
- Products for agriculture
- Specialty chemicals
- Food additives
- Commodity chemicals
- Energy production

Enzim

Sunarko, B., 2013



Definisi Bioreaktor

- **Bioreaktor** /fermentor : peralatan atau sistem yang memberikan lingkungan yang terkontrol untuk pertumbuhan organisme atau bejana tempat terjadinya proses konversi yang melibatkan organisme atau bahan-bahan yang berasal dari organisme tsb. menjadi produk yang dikehendaki.
- Bioreaktor merupakan suatu reaktor yang digunakan untuk reaksi biologis dari suatu proses bioteknologi, baik menggunakan enzim larut, sel bebas dari mikroorganisme, tanaman maupun hewan

Fungsi Bioreaktor

1. Memberikan lingkungan tetap bagi optimasi pertumbuhan mikroorganisme dan aktivitas metabolisme dalam menghasilkan suatu produk yang diinginkan
2. Mencegah kontaminasi produksi dari lingkungan pada kultur sambil mencegah pelepasan kultur ke kultur lingkungan

Kinerja Bioreaktor

tergantung banyak faktor, yang penting diantaranya :

- Laju agitation (pengadukan)
- Laju perpindahan oksigen (aerobik)
- pH
- Suhu
- Pencegahan pembentukan busa
- Laju pertumbuhan mikroba
- Kandungan nutrisi media
- Cahaya (untuk yang fotosintetik),
- Sterilization dan kondisi aseptik
- Parameter rheologi

Cara operasi Bioreaktor (kultur terendam) : **batch**, **fed batch** or **sinambung**



Tipe Bioreaktor :

Berdasarkan Tipe Agen Biologis :

- Bioreaktor mikrobial
- Bioreaktor enzim

(Tersuspensi/
Terimobilisasi)

Berdasarkan Kebutuhan Proses :

- Aerobik : SMC/SSC
- Permukaan : media cair/pdt
- Anaerobik

Berdasarkan Metode Aerasi :

- Kultur diam
- Labu kocok
- Bioreaktor berpengaduk (STR)
- Bioreaktor kolom gelembung
(bubble column)
- *Air-lift bioreactor*
- *Fluidized-bed bioreactor*

SYARAT BIOREAKTOR

- Tidak boleh ada hubungan antara bagian sistem yang steril dengan non-steril.
- Hindari kelep-kelep / penghubung bentuk gelangan, karena bentuk demikian dapat mengendur akibat dari gerakan/fibrasi alat dan kenaikan suhu, dan memungkinkan kontaminasi.
- Bila mungkin seluruh konstruksi alat dilas.
- Hindari ruang-ruang perangkat serta bentuk leher, karena ruangan seperti itu sulit untuk dibersihkan.
- Semua bagian sistem harus dapat disterilisasi secara tersendiri.
- Setiap hubungan/kelep ke bejana harus dapat disterilkan dengan uap.
- Gunakan katup-katup yang mudah dibersihkan maupun disterilkan, misalnya katup bola atau diafragma.
- Tekanan dalam fermentor harus tetap positif sehingga kalau ada kebocoran akan mengarah ke luar.

ATURAN OPERASIONAL AGAR KONDISI STERIL :

- Sterilisasi fermentor, dengan uap bertekanan. Medium fermentasi dapat disterilkan bersama di dalam fermentor atau secara terpisah.
- Sterilisasi penyediaan udara, dilakukan dengan menggunakan penyaring berserat atau penyaring absolut.
- Aerasi dan agitasi, berkaitan dengan jenis bahan, struktur geometrik dan posisi pemasangannya serta penggunaan “seal”.
- Penambahan inokulum, nutrien dan bahan-bahan lain, harus dalam keadaan tekanan positif dan lubang pemasukan dilengkapi sistem pemberian uap.
- Pengambilan contoh (sampling).
- Pengontrolan buih.
- Monitoring dan pengontrolan berbagai parameter

TIPE-TIPE BIOREAKTOR / FERMENTOR

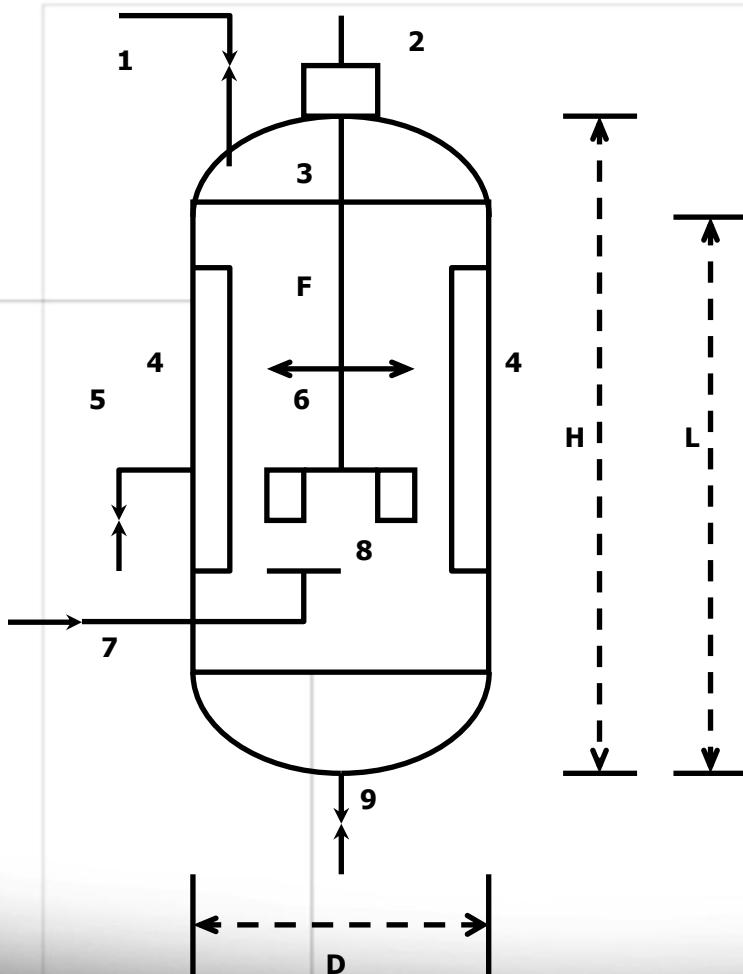
- Labu Kocok (Shake flask , 100-1000 ml)
- Skala laboratorium & skala pilot : ukuran 1-50 liter
- Skala industri besar : 5.000-100.000 gallon
- Setiap fermentor harus mempunyai “head space” sekitar $\frac{1}{4}$ atau $\frac{1}{5}$ dari volume total, yang berguna untuk menyediakan ruangan pada waktu aerasi dan pembentukan buih.

KARAKTERISTIK BAHAN PEMBENTUK FERMENTOR :

- Fermentor kapasitas 1-30 liter biasanya terbuat dari gelas atau *stainless steel*, permukaannya halus, tidak menimbulkan efek toksik dan tahan karat.
- Fermentor kapasitas > 30 liter biasanya terbuat dari stainless steel atau mild-steel.



Struktur fermentor (satu impeller multi-blade) :



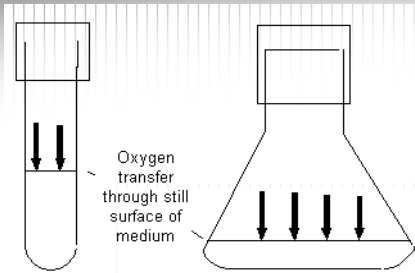
- Keterangan :
- 1 = pipa inokulasi
- 2 = seal stirrer sahft
- 3 = tinggi cairan kultur (=L)
- 4 = baffle
- 5 = pipa sambung
- 6 = impeller
- 7 = pipa udara steril
- 8 = sparger udara
- 9 = pipa pengeluaran
- H = tinggi fermentor
- D = diameter fermentor



Reaktor Kultur Diam

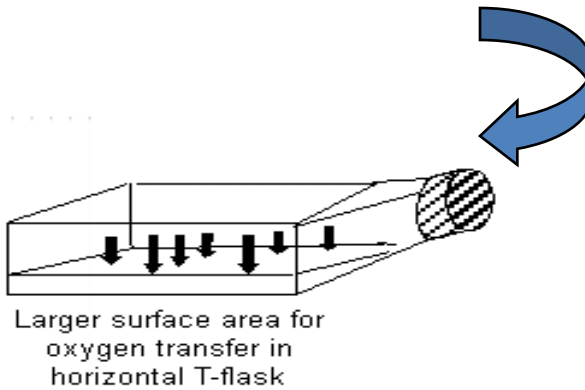
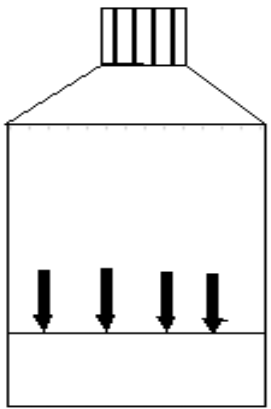
- ↪ **Tidak ada aerasi** (pemasokan udara) & pengadukan
⇒ aerasi tergantung pada transfer oksigen melalui permukaan kultur
- ↪ Biasanya digunakan dalam **skala kecil**, dimana pasokan oksigen tidak terlalu penting
- ↪ Jenisnya :
 - a. T-Flasks
 - b. Fernback flasks
 - c. Kultur Permukaan

1). T-Flasks



↪ Biasanya digunakan pada kultur **sel hewan** skala kecil

↪ Inkubasi dilakukan secara horizontal untuk memperluas permukaan transfer O_2



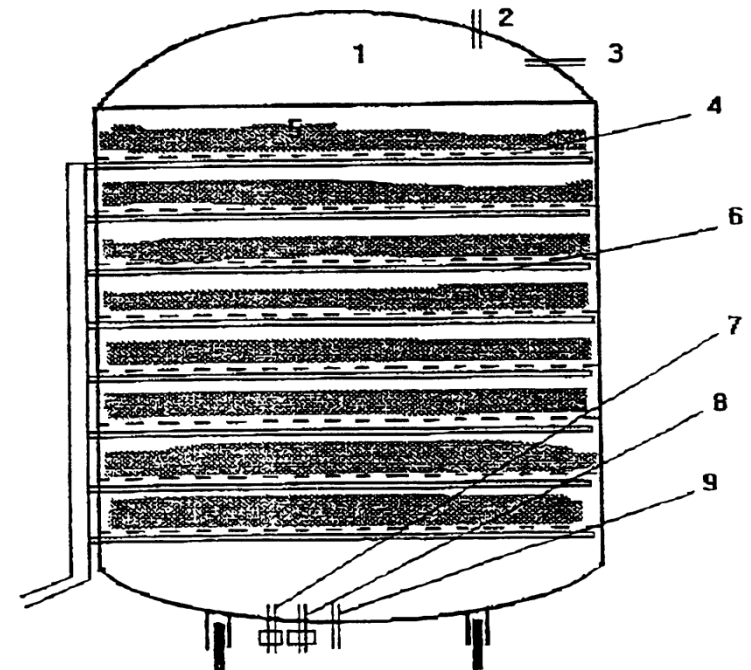
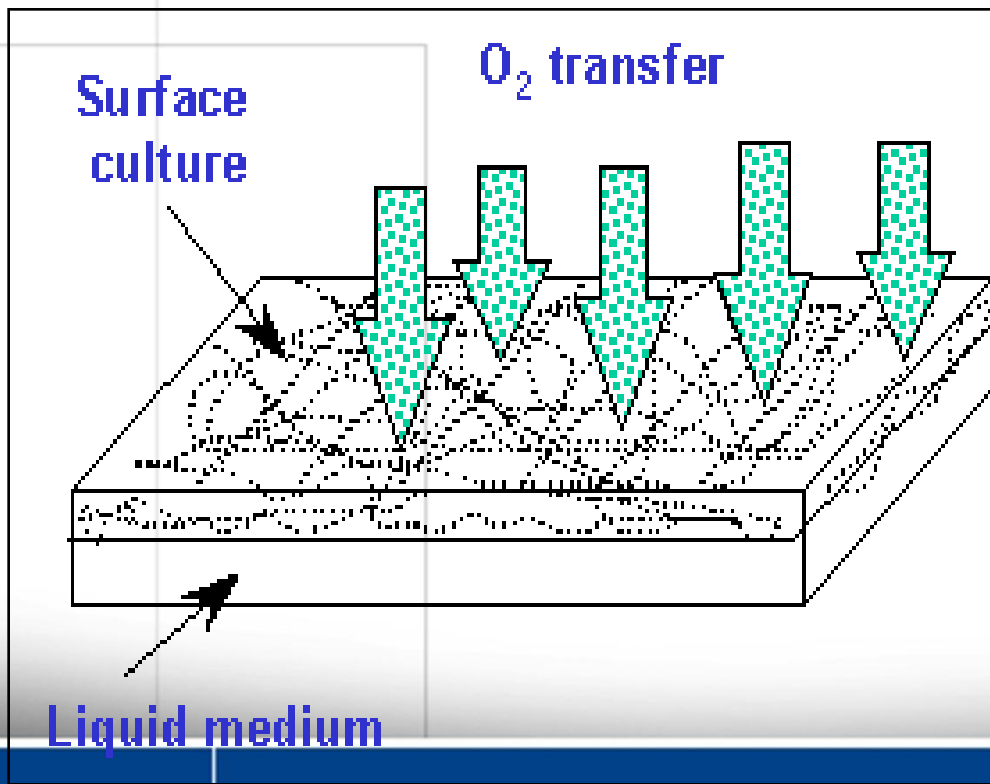
2). Fernback Flasks

↪ Contoh : **teh Kombucha** (teh + gula yang diinokulasi dengan khamir dan bakteri asam laktat)



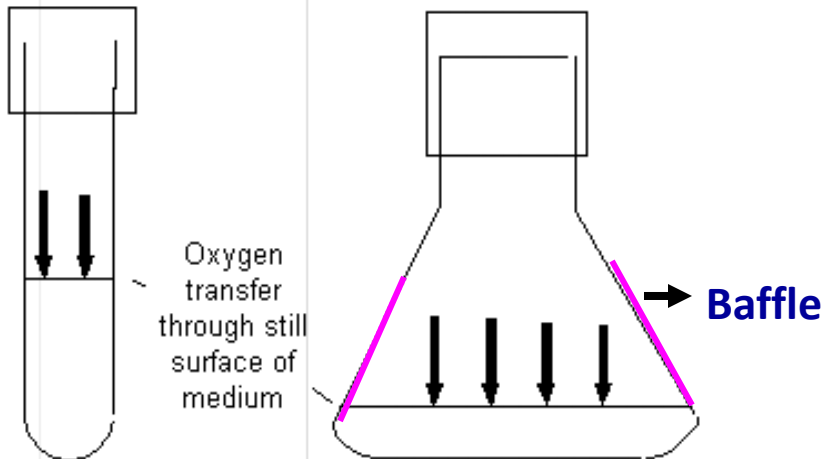
3). Kultur Permukaan

- ↪ Penggunaannya tidak terbatas di laboratorium
- ↪ Contoh : pembuatan asam sitrat oleh *Aspergillus niger* dengan menggunakan tray (baki)
 - kultur permukaan (media cair/padat)



Labu Kocok

- ↪ Biasanya digunakan pada kultivasi sel skala kecil
- ↪ "Shaker" (mesin pengocok) → OTR (*oxygen transfer rate*) lebih tinggi dibanding pada kultur diam
- ↪ Keterbatasan transfer oksigen masih tidak dapat dihindari apabila densitas sel yang tinggi











<http://blog.talboys.com/flask-clamps-what-are-my-options/>

→ Baffle meningkatkan efisiensi transfer O_2
pada "Orbital Shaker"

Bioreaktor Tangki Berpengaduk

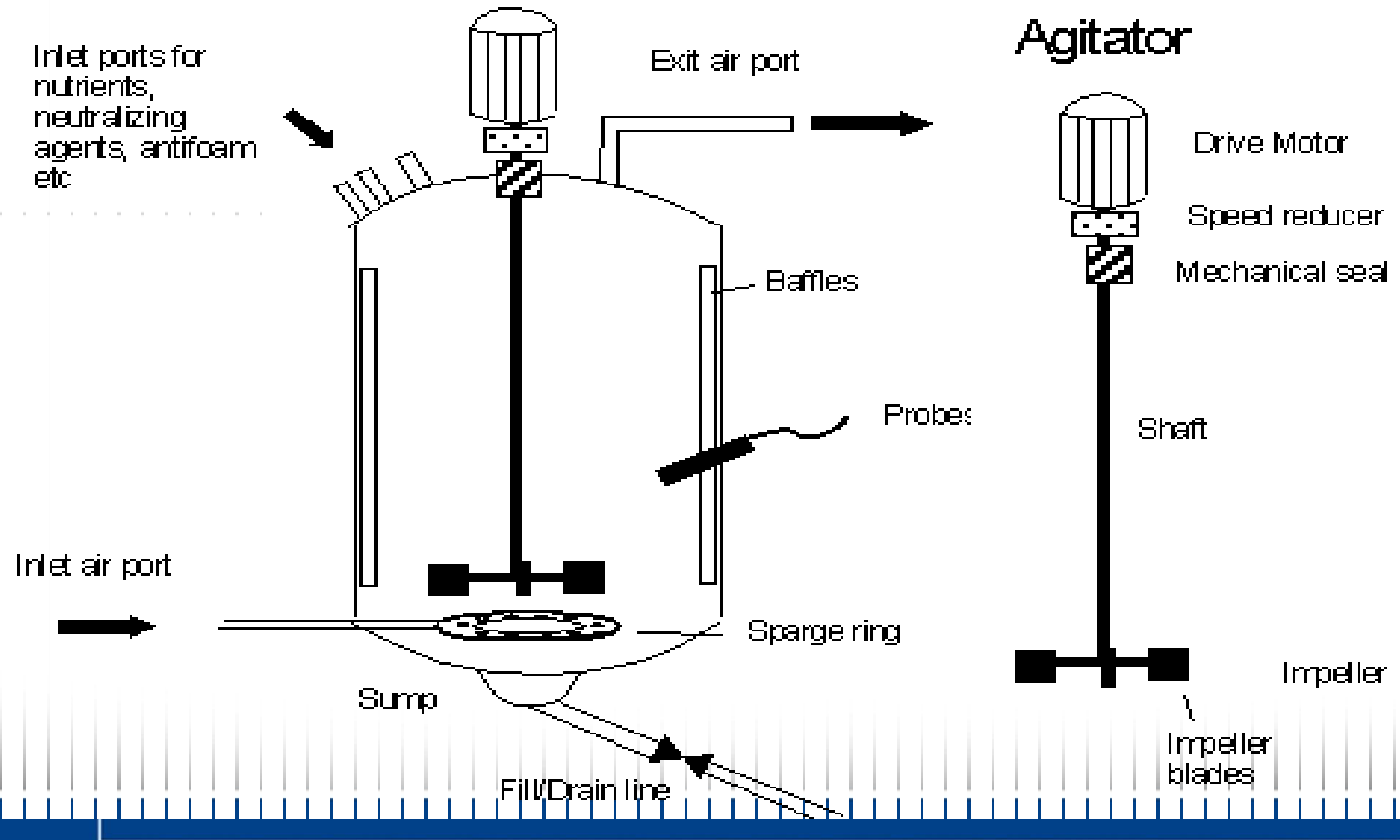
→ Pengadukan secara mekanis

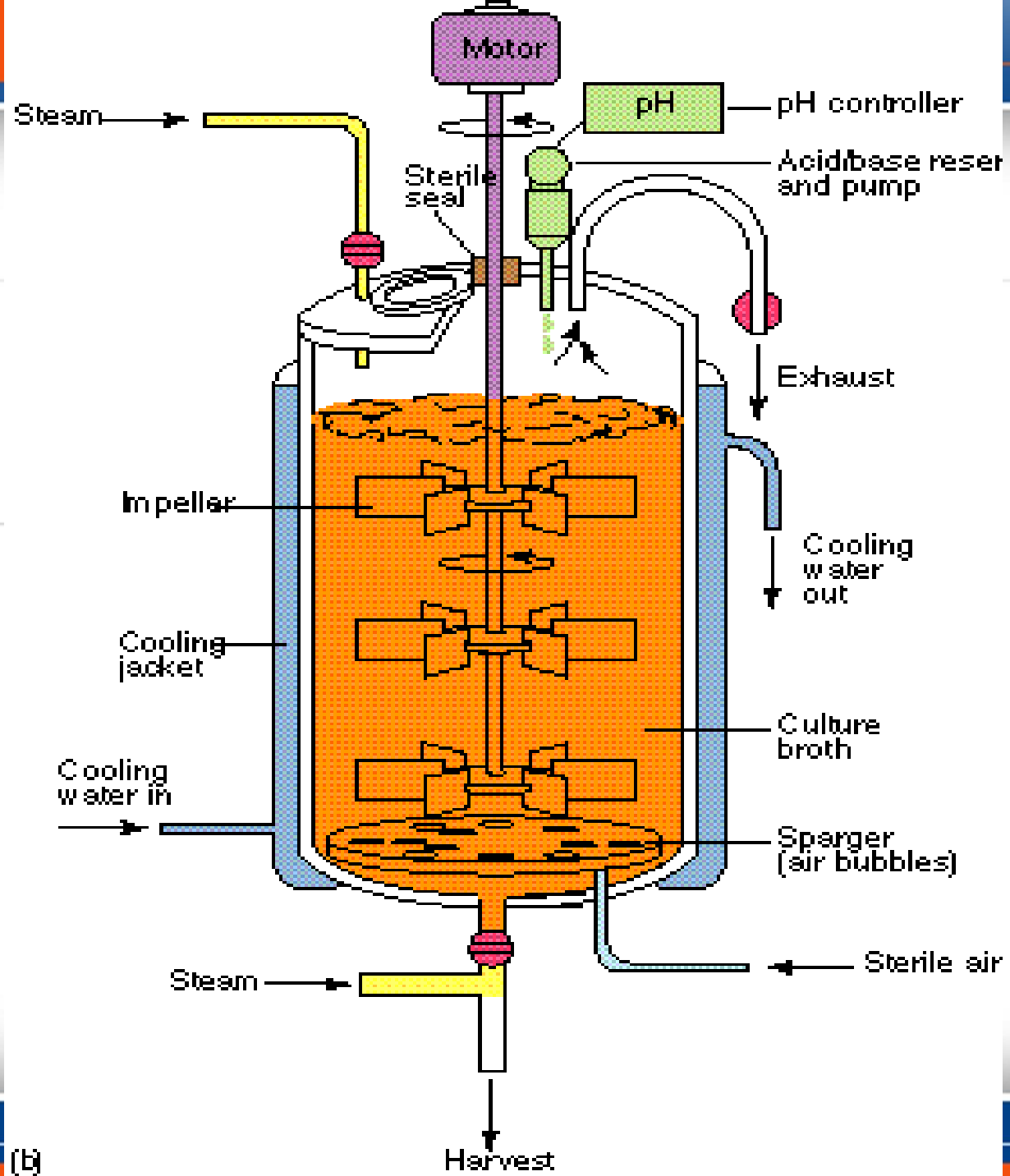
Perlengkapan Dasar :

-  Sistem agitasi (pengadukan)
-  Sistem pemasokan oksigen (aerasi)
-  Sistem Pengendalian Busa
-  Sistem Pengendalian Suhu
-  Sistem Pengendalian pH
-  Lubang (port) pengambilan sampel
-  Sistem Pembersihan dan Sterilisasi
-  Saluran untuk mengumpulkan dan mengeluarkan isi bioreaktor

Bioreaktor Tangki Berpengaduk

(stirred tank bioreactor = STR)





(b)



Sistem Agitasi

Fungsi :

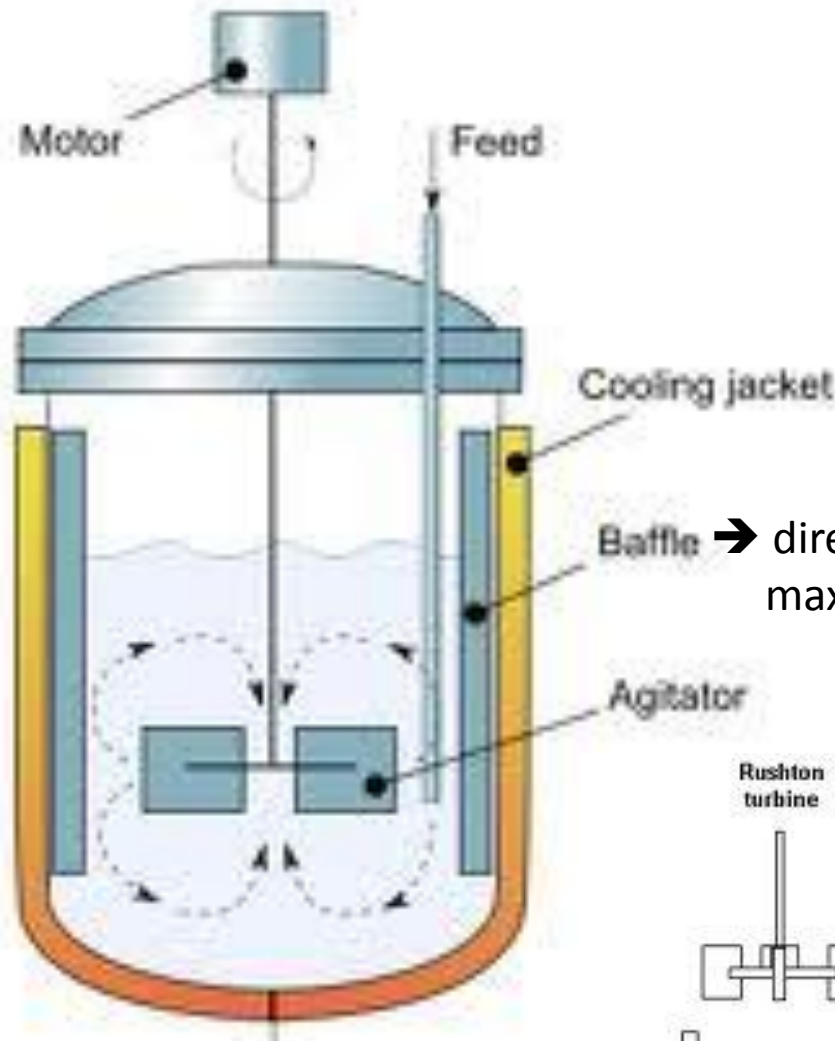
- Agar pencampuran merata (homogen) → meningkatkan laju perpindahan massa menembus film pembatas cairan dan gelembung udara
- Memberikan kondisi gaya geser ("shear") yang dibutuhkan untuk memperkecil gelembung udara → luas permukaan pindah massa lebih besar

Sistem agitasi terdiri dari : **agitator dan baffle**.

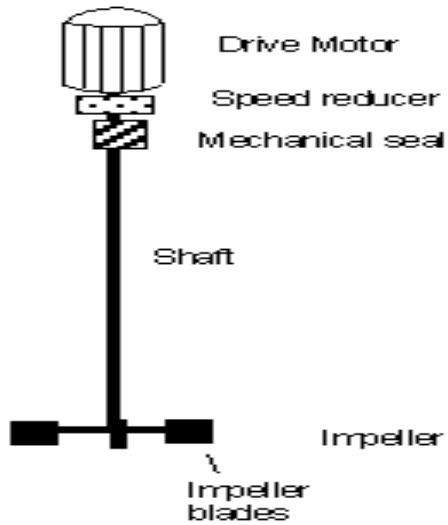
Agitator → jumlah **impeller** tergantung dari tinggi cairan dalam bioreaktor

→ Tiap impeller terdiri dari 2 - 6 bilah (blade).

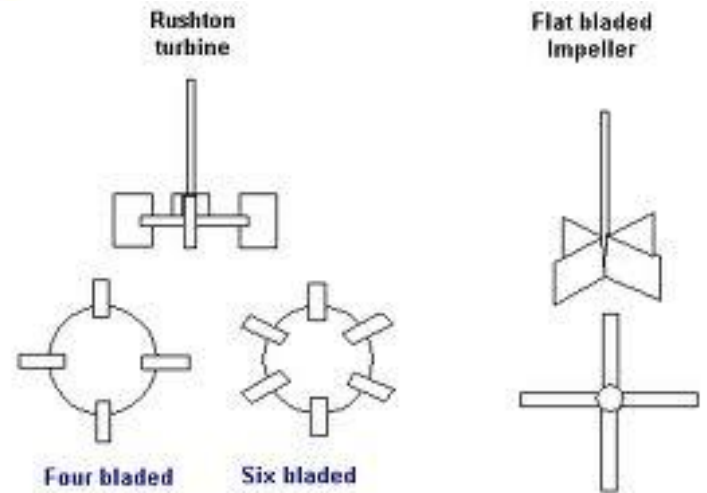
Baffle digunakan untuk memecah aliran cairan, sehingga terjadi turbulensi dan efisiensi pencampuran meningkat.



Agitator



Baffle → direct the flow of fluids for maximum efficiency.

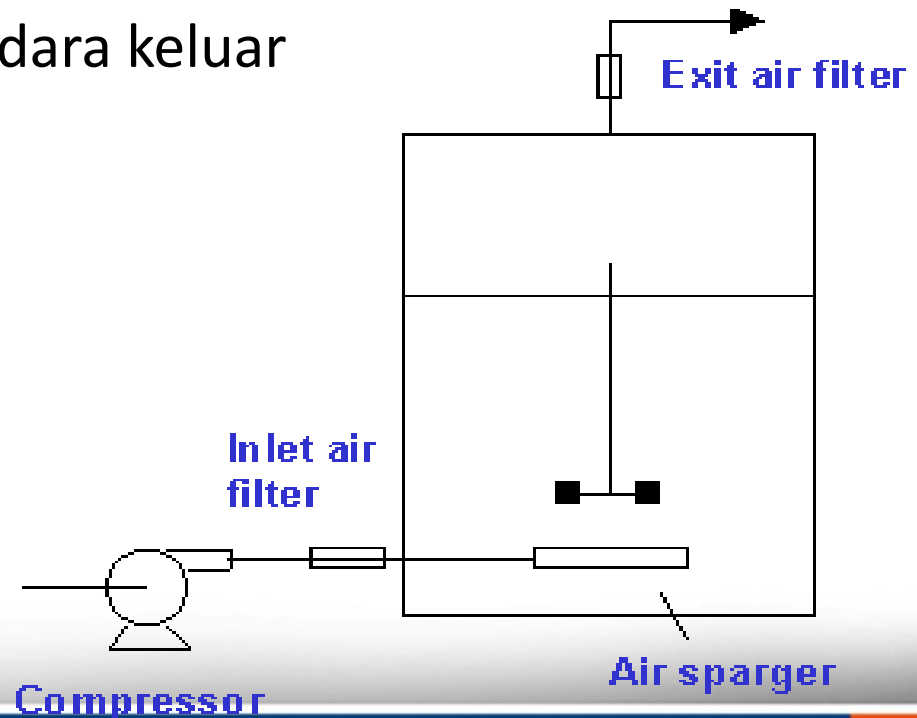


http://en.wikipedia.org/wiki/Baffle_%28in_vessel%29

Sistem Pemasokan Oksigen

(=Aerasi), terdiri dari :

- ↪ Kompresor yang menekan udara masuk ke dalam bioreaktor
- ↪ Sistem sterilisasi (**membran**) udara masuk (inlet)
- ↪ Sparger udara
- ↪ Sistem sterilisasi (**membran**) udara keluar



Sistem Sterilisasi Udara

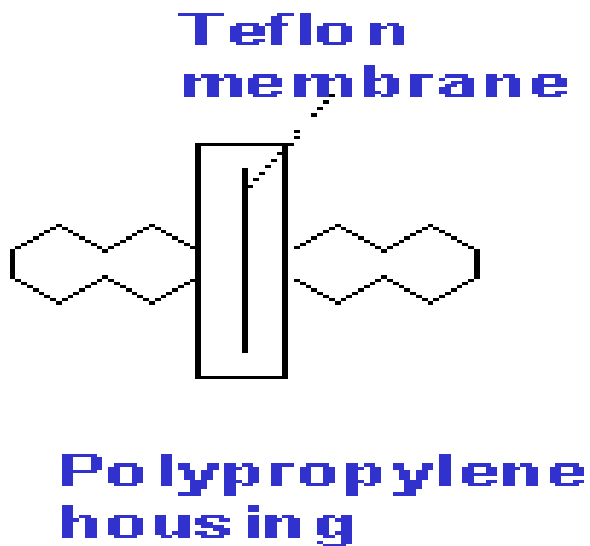
- ✎ Sterilisasi udara masuk → mencegah kontaminasi mikroba dari udara yang masuk ke dalam bioreaktor
- ✎ Sterilisasi pada udara keluar → mencegah kontaminasi udara sekitar terhadap mikroba dari dalam bioreaktor

Sistem Sterilisasi Udara

Metode umum untuk sterilisasi adalah Filtrasi membran :

- ➡ Bioreaktor kecil (volume kurang dari 5 L) umumnya menggunakan membran Teflon berbentuk cakram (disk).
- ➡ Bioreaktor laboratorium skala besar (sampai 1000 L), digunakan "pleated membrane filter" yang dilekatkan pada "polypropylene cartridges" → luas permukaan untuk filtrasi udara lebih besar, sehingga menurunkan tekanan yang dibutuhkan untuk melewati udara melalui filter

Sterilisasi Udara

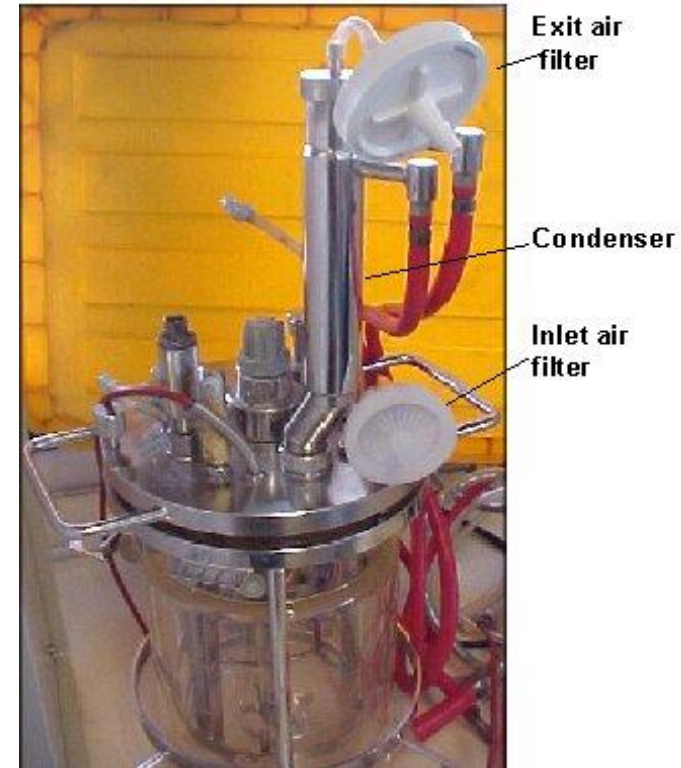


“Pleated membrane filter”

housed in polypropylene cartridges are used.

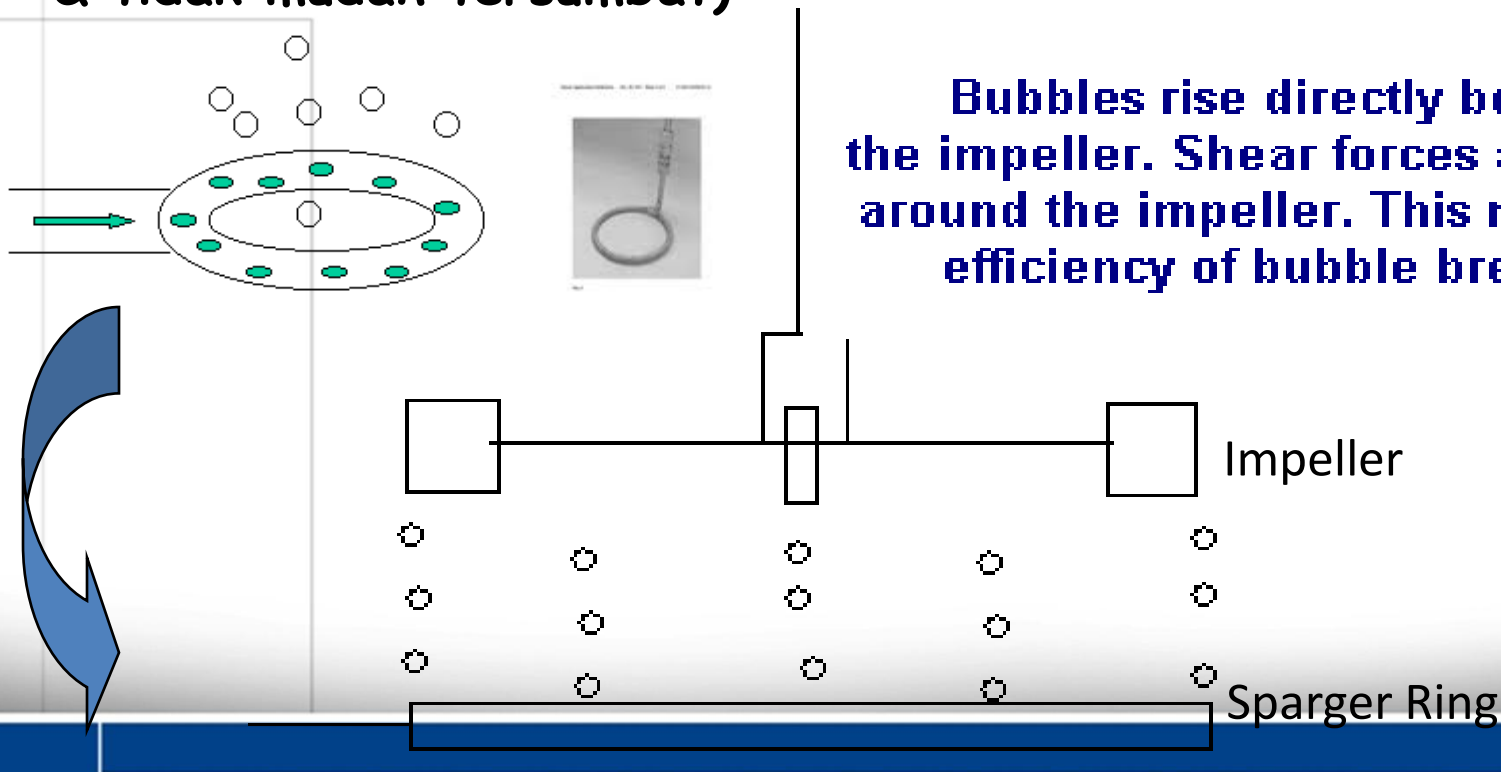
Pada bioreaktor skala kecil , sistem pengeluaran udara dari dalam bioreaktor dilengkapi dengan **kondensor** :

- **Kondensor** merupakan **alat penukar panas** sederhana yang dilalui oleh air dingin.
- Bahan volatil dan uap air pada media mengembun di bagian dalam permukaan kondensor → meminimumkan evaporasi air dan kehilangan bahan volatil
- Pengeringan udara juga mencegah penyumbatan filter udara keluar oleh air.



Sparger

- Berfungsi untuk memecah udara yang masuk menjadi gelembung-gelembung kecil → luas permukaan >
- tipe yang sering digunakan sparger ring (berupa tabung berlubang-lubang kecil, mudah dibersihkan & tidak mudah tersumbat)



Sistem Pengendalian Busa

- Pada bioreaktor yang menggunakan sparger, diperlukan pengendali busa
- Busa yang berlebihan akan menyebabkan penyumbatan pada filter udara keluar dan terbentuk tekanan di dalam bioreaktor → menyebabkan kehilangan media dan kerusakan bioreaktor
- Busa dikendalikan dengan alat penghancur busa mekanis atau penambahan senyawa anti busa (silikon, minyak nabati/hewani dll)
- Penambahan senyawa anti busa yang berlebihan dapat memperkecil laju perpindahan oksigen.

Faktor yang menyebabkan pembentukan busa :

- ☞ Media fermentasi kaya **protein** (e.g *whey powder* dan *corn steep liquor*)
- ☞ Produk yang dihasilkan selama fermentasi (senyawa mirip deterjen : protein & lemak)
- ☞ Laju alir udara dan kecepatan agitasi → semakin besar kecepatan agitasi & laju aerasi meningkatkan pembentukan busa



- Penggunaan alat pemecah busa mekanis → dapat mengurangi kebutuhan senyawa antibusa
- Semakin besar volume head-space, semakin besar kecenderungan busa untuk pecah karena bobotnya sendiri

Sistem Pengendalian Suhu

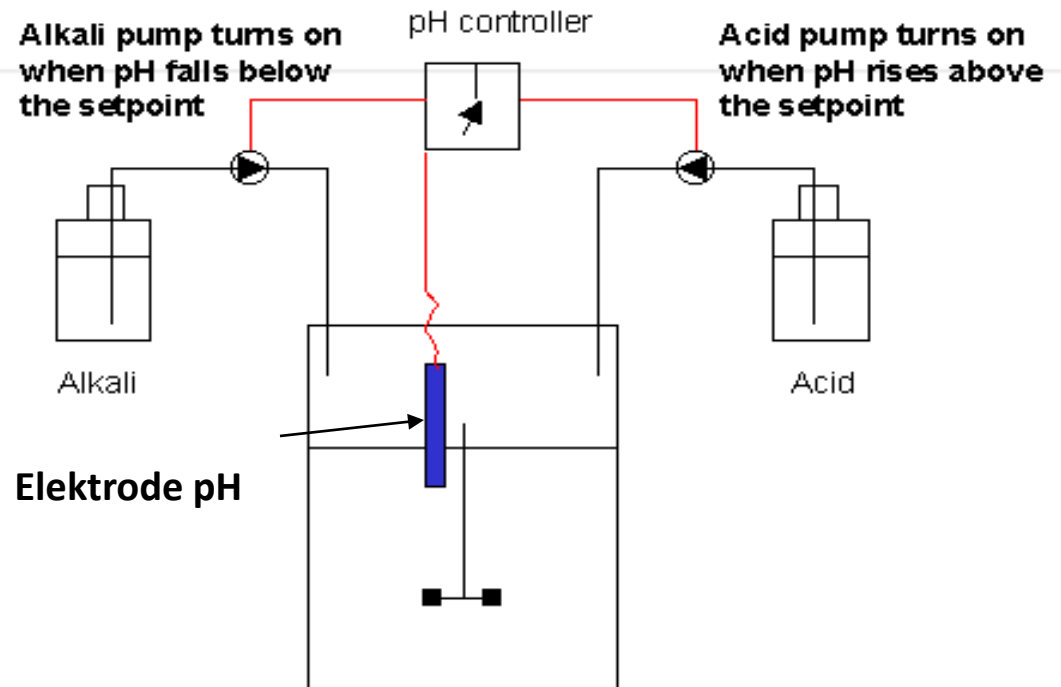
Terdiri dari :

- ↳ Elektroda suhu (*temperature probes*)
- ↳ Sistem pindah panas → jaket atau *coil*
(efisiensi lebih baik tapi sulit dibersihkan dan disterilisasikan)



Sistem Pengendalian pH

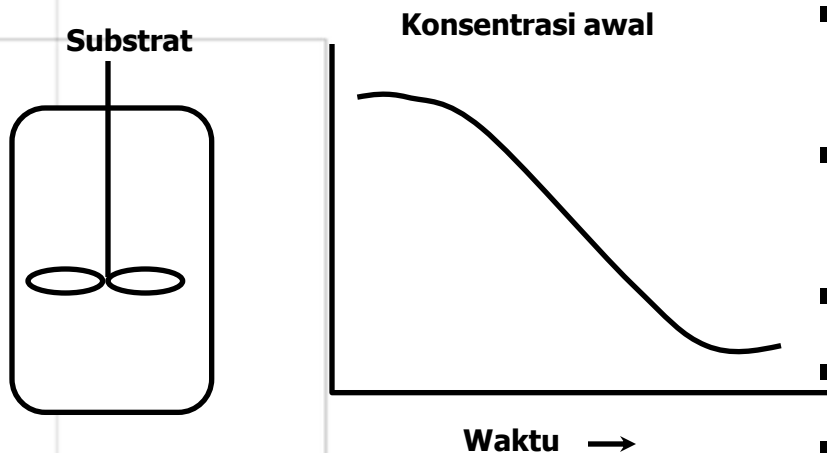
Terdiri dari : pH probe (elektroda), sistem pemberian alkali dan sistem pemberian asam



- Basa/asam yang digunakan jangan yang korosif atau toksik terhadap sel mikroba.
- KOH lebih baik, namun lebih mahal dibandingkan NaOH.
- Pada bioreaktor skala kecil sering digunakan NaCO_3 .
- HCl sebaiknya tidak digunakan karena sangat korosif.
- Penggunaan asam sulfat jangan lebih besar dari konsentrasi 10 %.

JENIS-JENIS FERMENTOR BERDASARKAN PEMBERIAN SUBSTRAT (DENBIGH&TURNER (1971) :

• Batch Fermentor



Proses fermentasi :

- Sistem tertutup
- Fermentor diisi oleh nutrisi/medium, suhu & pH di set → sterilisasi
- Inokulum dimasukan proses fermentasi hingga waktu yg ditentukan
- Proses s.d fase akhir log/stasioner
- Proses selanjutnya diulang
- Tidak ada nutrisi yang ditambahkan

Continuous Fermentor

- Pemberian nutrisi secara kontinyu/berkala dalam jangka waktu tertentu
- Volume nutrisi di dalam reaktor harus tepat antara nutrisi yang dikeluarkan dan dimasukkan harus ekuivalen
- Proses fermentasi bersifat sensitif terhadap kontaminasi, biomasa berkurang krn ikut terbang, perubahan fase biotik

Fed batch fermentor

- Intermediary bioreactor
- Nutrisi ditambahkan pada saat fase yang dibutuhkan
- Selama proses fermentasi kecepatan pertumbuhan μ dan konsentrasi biomassa dapat dikontrol dengan penambahan nutrisi saat fase tertentu

Retensi mikroorganisme di dalam fermentor

- **Batch fermentor**

- Mikroorganisme tdk hilang selama proses fermentasi
- MO. Memiliki waktu utk beradaptasi dan kecepatan pembelahan maksimum
- Biotransformasi MO. Berjalan dgn baik dgn parameter lingkungan yang terkontrol
- MO dpt lebih cepat/lambat msk ke fase stasioner dan terakumulasi toksin saat nutrisi terbatas

Retensi mikroorganismes di dalam fermentor

• Continuous Fermentor

- MO., nutrisi dan cairan dapat ikut terbuang
- MO. Membutuhkan waktu utk beradaptasi lagi setiap penambahan nutrisi
- Rentan thd MO kontaminan

Feed batch fermentor

- Pemberian nutrisi secara berselang
- Mikroorganismes lebih sehat karena nutrisi dapat terpenuhi

FERMENTOR BERDASARKAN TINGKAT ASEPTIS :

- FERMENTOR ASEPTIS
- FERMENTOR NON ASEPTIS

