

## PEMODELAN MATEMATIKA PROSES PRODUKSI POLYHYDROXYBUTYRATE (PHB) DARI TAPIOKA

Margono<sup>1\*)</sup>, Rochmadi<sup>2)</sup>, Siti Syamsiah<sup>2)</sup>, dan Muhamad Nurcahyanto<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta.

<sup>2)</sup>Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

<sup>3)</sup>Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

<sup>\*)</sup>Penulis korespondensi: mrgono04@yahoo.com

### Abstract

**MATHEMATICS MODELLING OF POLYHYDROXYBUTYRATE (PHB) PRODUCTION FROM TAPIOCA.** *One of the technical approaches to get improvement of PHB productivity was a process simulation by using mathematical modeling. The objective of this research was to develop mathematical model which could be used to simulate fermentation of polyhydroxybutyrate production by Bacillus cereus IFO 13690 using tapioca substrates. Three different experiments with initial ammonium of 0.286, 0.566, and 1.203 g/L were carried out in 5 L fermentor and 500 rpm of agitation speed. The pH medium was controlled at 5.6 after it came down from the initial pH of 6.8. Meanwhile, the initial doT was 70% air saturation and also came down to and maintained at doT of 5% air saturation. PHB accumulation was growth associated product. Model of bacteria mechanism on utilizing tapioca and the mathematical model were proposed. The proposed model was suitable with the experimental phenomena. However, the rate of fermentation process was the controlling rate for overall PHB synthesis.*

**Keywords:** *Bacillus cereus IFO 13690; mathematical model; polyhydroxybutyrate; simulation*

### Abstrak

*Salah satu pendekatan teknis untuk melakukan optimasi proses fermentasi adalah melakukan simulasi menggunakan model matematika. Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan model matematika yang dapat digunakan untuk melakukan simulasi proses pada fermentasi produksi polyhydroxybutyrate (PHB) dari tapioka oleh Bacillus cereus IFO 13690. Tiga buah percobaan dengan konsentrasi amonium awal 0,286, 0,566, dan 1,203 g/L dilakukan pada fermentor dengan volume 5 L dan kecepatan pengadukan 500 rpm. Percobaan dilakukan dengan kondisi awal pH 6,8 dan konsentrasi oksigen terlarut (doT) 70% udara jenuh. Kondisi awal tidak dikontrol sehingga pH medium turun dan dijaga pada 5,6 menggunakan pengontrol pH. Sedangkan doT turun dan dikontrol pada 5% udara jenuh. Data percobaan dan model matematika menunjukkan bahwa produksi PHB mengikuti pola pertumbuhan berasosiasi dengan produk (growth associated product). Model mekanisme pemanfaatan tapioka dan model matematika yang diusulkan sesuai dengan fenomena proses yang terjadi dalam percobaan. Kecepatan proses fermentasi merupakan kecepatan yang mengontrol keseluruhan proses sintesis PHB.*

**Kata kunci :** *Bacillus cereus IFO 13690; model matematika; polyhydroxybutyrate; simulasi*

### PENDAHULUAN

*Polyhydroxyalkanoate (PHA)* adalah poliester yang disintesis secara intraseluler oleh mikroorganisme sebagai bahan makanan cadangan (Solaiman dan Ashby, 2005). Anggota PHA yang umum diproduksi oleh bakteri dan telah banyak diteliti adalah *Polyhydroxybutyrate (PHB)*. PHB memiliki sifat-sifat mirip dengan polipropilen yang merupakan plastik berbasis minyak bumi. PHB umumnya disintesis dalam keadaan sumber karbon

berlebihan dan kekurangan nutrisi lainnya seperti nitrogen, fosfor, sulfur atau oksigen (Anderson dan Dawes, 1990).

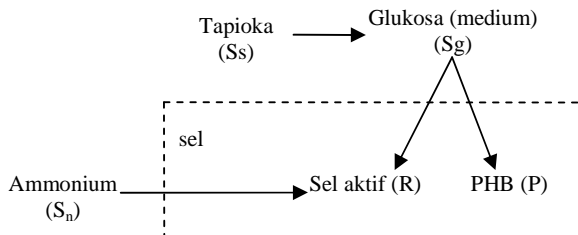
Beberapa strain bakteri yang telah dikenal dan dinilai sebagai bakteri yang potensial dalam mensintesis PHB antara lain *Alcaligenes eutrophus*, *Alcaligenes latus* (Wang dan Lee, 1997; Grothe dan Chisti, 2000), dan *Escherichia coli* rekombinan (Ahn dkk., 2000; Ahn dkk., 2001; Park dkk., 2002).

Kelebihan dari PHB adalah bersifat biodegradabel dan biokompatibel. Penggunaan plastik biodegradabel telah menjadi sebuah kebutuhan, karena sampah buangan plastik berbasis minyak bumi yang selama ini digunakan berpotensi menimbulkan masalah lingkungan. Namun demikian, harga PHB yang relatif tinggi menjadikannya tidak kompetitif dibandingkan plastik sintetis.

Berbagai penelitian telah dilakukan agar harga PHB di pasaran lebih kompetitif, antara lain penggunaan substrat murah, perbaikan metode ekstraksi dan pemurnian produk, dan optimasi proses fermentasi. Salah satu pendekatan teknik optimasi adalah melalui simulasi menggunakan model matematika. Penelitian ini dimaksudkan untuk melakukan pengembangan model matematika pada proses fermentasi yang memproduksi PHB dari substrat tapioka menggunakan bakteri amilolitik.

Proses produksi PHB dari tapioka terdiri dari 2 langkah proses berurutan, yaitu sakarifikasi tapioka menjadi glukosa yang terjadi dalam medium dilanjutkan fermentasi yang mensintesis PHB dari glukosa dalam sel bakteri amilolitik *B. cereus* IFO 13690. Namun demikian, proses sakarifikasi dan fermentasi tersebut berlangsung dalam rentang waktu yang bersamaan selama proses produksi PHB. Oleh karena itu, proses ini disebut sebagai proses simultan antara sakarifikasi dengan fermentasi (SSF). Proses SSF tersebut dimodelkan dalam sebuah mekanisme pemanfaatan tapioka oleh bakteri amilolitik dan dikembangkan menjadi model matematika.

Model pemanfaatan tapioka oleh bakteri amilolitik diusulkan mengikuti mekanisme pada Gambar 1. Model tersebut berlaku pada fase pertumbuhan bakteri dan fase stasioner.



Gambar 1. Usulan model mekanisme pemanfaatan tapioka oleh bakteri amilolitik

Model matematika disusun berdasarkan beberapa asumsi proses sebagai berikut.

1. Substrat sumber karbon yang dapat dikonsumsi oleh bakteri adalah glukosa.
2. Sel (X) tersusun dari 2 komponen, yaitu komponen aktif (R) dan produk PHB (P).  
 $X = R + P$  (1)
3. Pengaruh nutrisi pembatas berupa sumber nitrogen (ion amonium) dan sumber karbon (glukosa) dan bentuk penghambatannya mengikuti persamaan yang diajukan oleh Khanna dan Srivastava (2005). Berdasarkan asumsi

tersebut maka kecepatan pertumbuhan sel aktif (R) dituliskan sebagai berikut.

$$\mu_R = \mu_{obs} \left( \frac{S_g^a}{K_{Sg} + S_g^a} \right) \left( \frac{S_n^b}{K_{Sn} + S_n^b} \right) \left( 1 - \frac{S_n}{S_{nm}} \right)^n \quad (2)$$

$$\frac{dR}{dt} = \mu_{obs} \left( \frac{S_g^a}{K_{Sg} + S_g^a} \right) \left( \frac{S_n^b}{K_{Sn} + S_n^b} \right) \left( 1 - \frac{S_n}{S_{nm}} \right)^n R \quad (3)$$

4. Hubungan kecepatan pembentukan produk (P) pada fase pertumbuhan mengikuti model *growth associated product* dan *non growth associated product* sebagai berikut.

$$\frac{dP}{dt} = k_1 \frac{dR}{dt} + k_2 R \quad (4)$$

Kecepatan reaksi sakarifikasi dianggap mengikuti kinetika *alosteric enzyme* sebagai berikut

$$v = v_m \frac{S_s^d}{K_m + S_s^d} \quad (5)$$

Jika kecepatan reaksi pembentukan glukosa dianggap sebanding dengan jumlah bakteri maka neraca massa tapioka (*starch*) dalam medium adalah sebagai berikut

$$\frac{dS_s}{dt} = -vR = -v_m \frac{S_s^d}{K_m + S_s^d} R \quad (6)$$

Glukosa selalu terbentuk menurut reaksi (6) serta dikonsumsi oleh bakteri untuk pertumbuhan sel (R), pembentukan produk (P), dan *maintenance*, sehingga neraca massa glukosa dapat dituliskan dalam persamaan berikut.

$$\frac{dS_g}{dt} = v_m \frac{S_s^d}{K_m + S_s^d} R - \frac{1}{Y_{RSg}} \frac{dR}{dt} - \frac{1}{Y_{PSg}} \frac{dP}{dt} - m_1 R \quad (7)$$

Ion amonium dalam medium fermentasi dimanfaatkan oleh bakteri untuk pertumbuhan sel (R) dan *maintenance*. Neraca massa amonium (Sn) dalam medium adalah sebagai berikut.

$$-\frac{dS_n}{dt} = \frac{1}{Y_{RSn}} \frac{dR}{dt} + m_2 R \quad (8)$$

## METODE PENELITIAN

### Bakteri dan Medium Fermentasi

Bakteri *Bacillus cereus* IFO 13690 diperoleh dari *Food and Nutritional Culture Collection (FNCC)*, Universitas Gadjah Mada. Komposisi medium fermentasi merujuk pada medium yang digunakan oleh Ramsay dkk. (1990) dengan sedikit modifikasi. Komposisi medium terdiri dari (1/L): tapioka, 20 g ; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 5 g ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,5 g ; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, sesuai percobaan; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,2 g ; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,01 g ; FeSO<sub>4</sub>, 28,5 mg ; KCl, 3 g ; dan *trace element*, 1 mL. Komposisi *trace element* (1/L) : H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,3 g ; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0,2 g ; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,1 g ; NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 30 mg ; NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 20 mg ; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 10 mg ; dan MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 10 mg.

### Pengembangan Inokulum

Inokulum disiapkan dalam 2 tahap yaitu inokulum 1 dan inokulum 2. Inokulum 1 dibuat

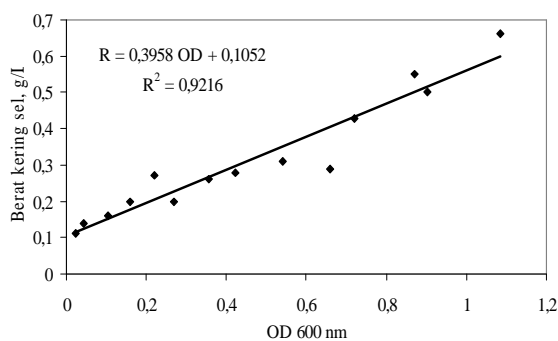
dengan menginokulasikan 2 ose bakteri yang diambil dari kultur agar miring ke dalam 20 mL medium yang mengandung *nutrient broth* 8 g/L and glukosa 5 g/L. Kemudian medium diinkubasi dalam *incubator shaker* pada suhu lingkungan (30°C) dan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Inokulum 2 adalah 180 mL medium fermentasi yang diinokulasi 20 mL inokulum 1 kemudian diinkubasi dalam *incubator shaker* pada suhu lingkungan (30°C) dan kecepatan 150 rpm selama 48 jam.

### Fermentasi

Teknik fermentasi merujuk pada percobaan yang dilakukan oleh Valappil dkk. (2007). Fermentasi dilakukan dalam fermentor 5 L dengan volume kerja 2 L. Fermentor yang telah diisi dengan 1,8 L medium fermentasi disterilisasi pada 121°C selama 20 menit. pH medium awal fermentasi diset pada 6,8 menggunakan larutan NaOH 3 N. Oksigen terlarut pada awal fermentasi diatur pada 70% udara jenuh. Inokulum 2 sebanyak 0,2 L diinokulasikan ke dalam medium fermentasi secara aseptik dan fermentasi dijalankan pada suhu 30°C dengan kecepatan pengaduk 500 rpm. Pada awal fermentasi, suplai oksigen, kontrol pH dan oksigen dimatikan sehingga dengan adanya pertumbuhan bakteri maka pH dan oksigen terlarut akan turun. Jika pH turun mencapai 5,6 maka kontrol pH diaktifkan dan pH dijaga pada 5,6 menggunakan larutan NaOH 3 N dan HCl 1 N. Kontrol oksigen terlarut diaktifkan saat oksigen terlarut mencapai 5% udara jenuh. Fermentasi dihentikan setelah pertumbuhan bakteri mengalami penurunan. Secara periodik diambil cuplikan sebanyak 15 mL dan dilakukan analisis konsentrasi sel, pati, PHB, glukosa, dan amonium.

### Analisis Kimia

Konsentrasi berat kering sel diukur dalam *optical density* (OD) menggunakan *UV-Vis spectrophotometer* pada panjang gelombang 600 nm. Grafik standar hubungan antara konsentrasi berat kering sel dengan nilai OD ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik standar konsentrasi berat kering sel untuk berbagai nilai OD pada panjang gelombang 600 nm (R = konsentrasi berat kering sel)

Konsentrasi PHB dianalisis menggunakan metode yang digunakan oleh Senior dkk. (1972). Konsentrasi pati diukur dalam konsentrasi gula total menggunakan metode Dubois (1956). Konsentrasi glukosa diukur menggunakan kit Glucose GOD 10' FS (produk Diasys, Jerman). Konsentrasi amonium dianalisis menggunakan *phenate method* (APHA, AWWA, dan WPCF, 1976).

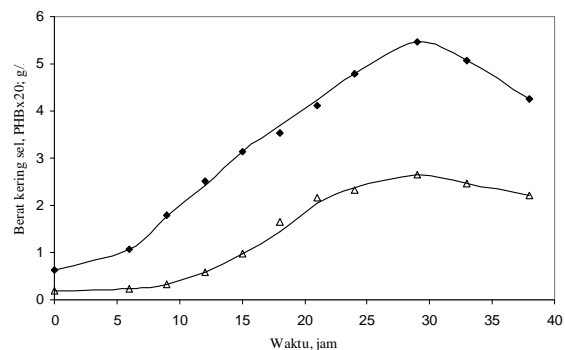
### Perhitungan Tetapan Model Matematika

Model matematika terdiri dari 5 persamaan differensial ordiner (persamaan (3), (4), (6), (7), dan (8)) dan 19 tetapan. Sembilan belas tetapan dalam persamaan ditentukan dengan metode global optimasi algoritma genetik dengan bantuan program MATLAB. Algoritma perhitungan ditunjukkan pada Gambar 3. Fungsi tujuan *Sums Square of Error* (SSE) dinyatakan sebagai berikut.

$$SSE = (Rdata - Rhitung)^2 + (Pdata - Phitung)^2 + (Ssdata - Sshitung)^2 + (Sgdata - Sghitung)^2 + (Sndata - Snhitung)^2 \quad (9)$$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Model matematika sebagaimana tersebut dalam persamaan (3), (4), (6), (7), dan (8) berlaku untuk fase pertumbuhan dan fase stasioner. Hasil fermentasi yang dijalankan pada konsentrasi amonium awal 1,203 g/L menunjukkan bahwa pola produksi PHB pada *Bacillus cereus* IFO 13690 mengikuti pola pertumbuhan berasosiasi dengan produk (*growth associated product*), yaitu produksi PHB terjadi pada saat fase pertumbuhan sel. Pola tersebut ditunjukkan pada Gambar 4. Pertumbuhan dan produksi PHB berlangsung bersamaan, yaitu mulai terjadi pada jam ke-6 setelah inokulasi dan berakhir pada jam ke-29 setelah inokulasi.



Gambar 4. Pola pertumbuhan berasosiasi dengan produk (Konsentrasi amonium awal 1.203 g/L). (♦): berat kering sel, (Δ) : PHBx20

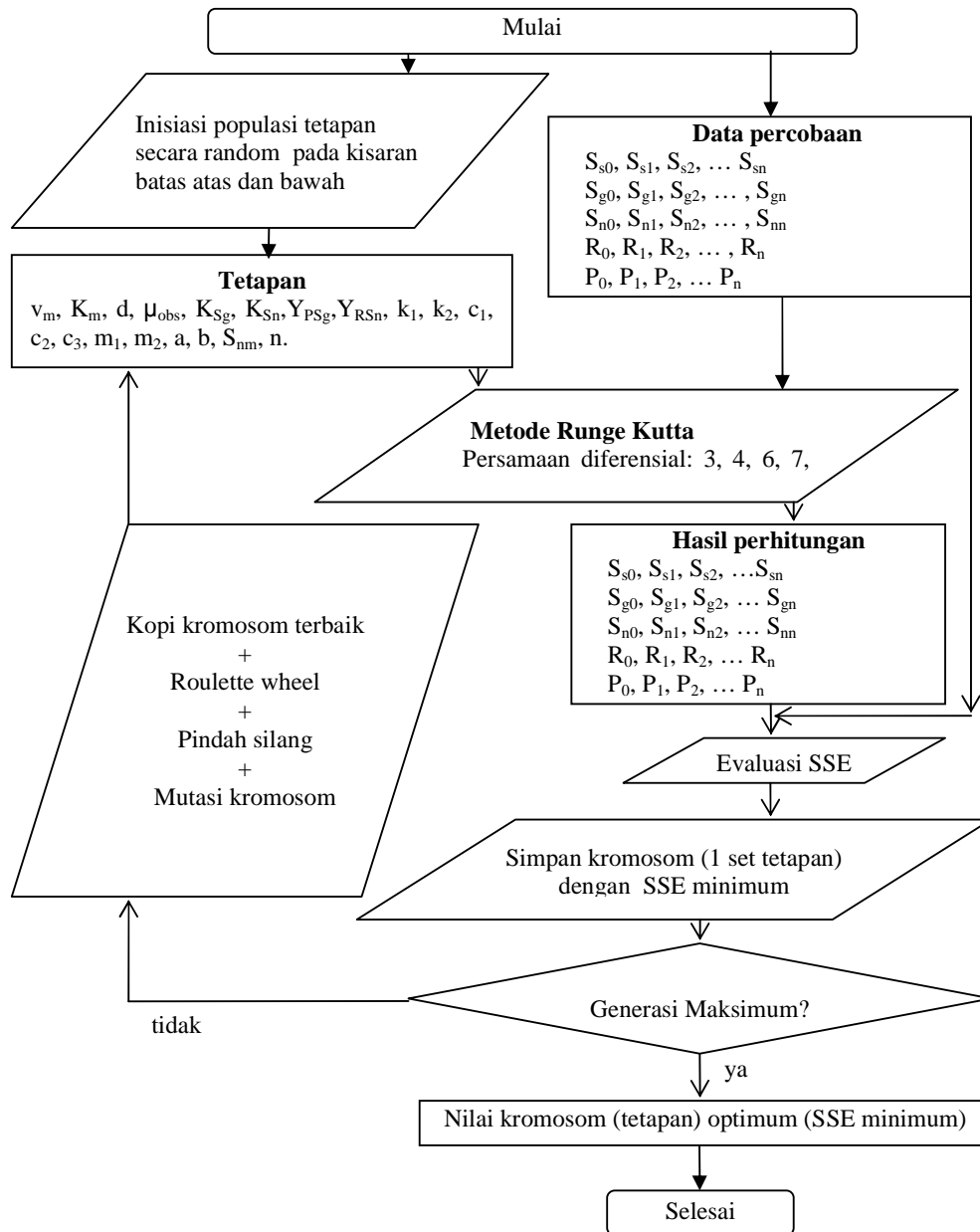
Pola pertumbuhan berasosiasi dengan produk juga ditunjukkan oleh hasil evaluasi tetapan kinetika sebagaimana akan ditunjukkan pada pembahasan nanti. *Bacillus mycoides* RLJ B-017 (Thakur dkk., 2001) dan *Bacillus. sp.* JMa5 (Wu dkk., 2001) menunjukkan pola yang sama, yaitu pola pertumbuhan berasosiasi dengan produk. Oleh karena itu, evaluasi tetapan kinetika pada persamaan (3), (4), (6), (7), dan

(8) dilakukan pada pada fase pertumbuhan, yaitu waktu fermentasi jam ke 6 sampai ke 29 dari data pada Gambar 3.

Tiga buah percobaan yang berbeda konsentrasi amonium awal dilakukan untuk evaluasi model matematika tersebut. Tetapan kinetika fermentasi hasil evaluasi berdasarkan percobaan dengan konsentrasi amonium awal 0,286, 0,566, dan 1,203 g/L ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai  $a = 0$  (nol), sehingga persamaan kecepatan pertumbuhan sel

(persamaan (3)) berorder 0 terhadap konsentrasi glukosa ( $S_g$ ). Jadi kecepatan pertumbuhan sel tidak dipengaruhi oleh besar kecilnya konsentrasi glukosa. Hal ini dapat dipahami karena dalam proses ini glukosa merupakan bahan antara (*intermediate*) yang selalu terakumulasi dalam jumlah sedikit ( $S_g < 0,8$  g/L). Konsentrasi glukosa tersebut jauh lebih kecil dibandingkan nilai  $K_{S_g}$  (konstanta kejenuhan glukosa) yang bernilai sebesar 5,6-5,9 g/L. Oleh karena itu, fluktuasi nilai  $S_g$  pada penelitian ini tidak berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan sel.



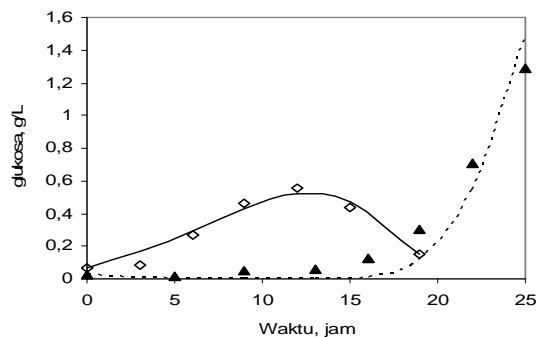
Gambar 4. Algoritma perhitungan tetapan model matematika

Tabel 1. Tetapan kinetika fermentasi batch (pH 5,6 dan doT 5% udara jenuh)

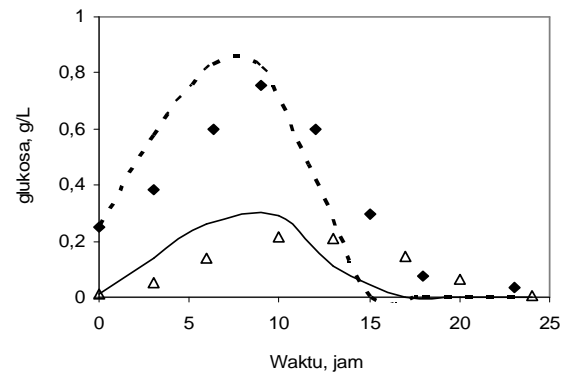
No.	Tetapan	Amonium awal (g/L)		
		0,286	0,566	1,203
1	$\mu_{obs}$	1,0775	0,9967	1,0430
2	$K_{Sg}$	5,7013	5,8727	5,5575
3	$K_{Sn}$	0,2834	0,2877	0,2899
4	$k_1$	0,0110	0,0171	0,0261
5	$k_2$	0,0001	0,0001	0,0001
6	$Y_{RSg}$	0,5770	0,9124	0,7342
7	$Y_{PSg}$	0,0082	0,0130	0,0194
8	$Y_{RSn}$	7,4139	8,8576	4,8260
9	$m_1$	0,0420	0,0570	0,0582
10	$m_2$	0,0005	0,0004	0,0003
11	$a$	0,0007	0,0000	0,0000
12	$b$	0,6678	0,7838	3,5702
13	$S_{nm}$	46,5318	47,3291	42,9769
14	$n$	0,1859	0,2338	0,0050
15	$v_m$	0,4246	0,3716	0,6072
16	$K_m$	54,6726	50,2121	50,0023
17	$d$	1,7434	1,9854	1,7127

Jika nilai tetapan dalam Tabel 1 digunakan untuk melakukan simulasi maka tampak kekurangsesuaian antara data hasil simulasi dengan percobaan. Pembentukan glukosa selama fermentasi tidak sama antara hasil percobaan dengan hasil simulasi.

Gambar 5a dan 5b menunjukkan pola pembentukan glukosa selama fermentasi berdasarkan hasil percobaan dan hasil simulasi menggunakan tetapan pada Tabel 1. Gambar 5.b memberikan gambaran lebih jelas terhadap kekurangsesuaian model matematika dengan data percobaan (data variabel lain tidak ditampilkan pada makalah ini.). Oleh karena itu perlu ada koreksi untuk mendapatkan kesesuaian yang lebih baik antara pola Sg hasil simulasi dengan percobaan.



a. (◇) : data, amonium awal 0,566 g/L ; (-): hitung, amonium awal 0,566 g/L ; (▲): data, amonium awal 0,286 g/L ; (----) : hitung, amonium awal 0,286 g/L



b. (◇) : data, doT 1% udr jenuh ; (---) : hitung, doT 1% udr jenuh ; (Δ) : data, doT 10% udr jenuh ; (-) : hitung, doT 10% udr jenuh

Gambar 5. Pembentukan glukosa dalam medium

Koreksi model matematika terkait dengan pola pembentukan glukosa selama fermentasi dilakukan dengan memperbaiki asumsi  $Y_{RSg}$  dan  $Y_{PSg}$ . Asumsi sebelumnya adalah bahwa  $Y_{RSg}$  dan  $Y_{PSg}$  selama fermentasi bernilai tetap. Asumsi ini dikoreksi dengan menganggap bahwa  $Y_{RSg}$  dan  $Y_{PSg}$  memiliki kisaran nilai tertentu selama fermentasi. Namun demikian, untuk menyederhanakan model matematika yang disusun maka dalam hal ini hanya dipilih koreksi pada konstanta  $Y_{RSg}$  yang nilainya lebih besar, yang pengaruhnya terhadap neraca massa glukosa lebih dominan.

Asumsi bahwa  $Y_{RSg}$  mempunyai nilai pada kisaran tertentu berdasarkan kenyataan bahwa reaksi biokimia yang terjadi di dalam sel merupakan reaksi kompleks, baik reaksi yang berlangsung secara seri maupun paralel. Dalam reaksi kompleks, konversi reaktan menjadi produk tertentu tergantung dari koefisien distribusi yang mungkin bisa berubah nilai karena jumlah produk dan reaktan yang tersedia berubah maupun adanya perubahan kondisi lingkungan. Pertimbangan lain perubahan besarnya nilai yield sel-glukosa berdasarkan tahapan pertumbuhan sel yang terjadi. Tahapan pertumbuhan sel meliputi fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian (Moat, 1988). Fase-fase pertumbuhan tersebut diperkirakan berdampak pada adanya perubahan *yield* sel-glukosa selama proses fermentasi dan pola perubahan *yield* sel-glukosa berubah dari kecil (peralihan dari fase lag ke eksponensial) menjadi maksimum (fase eksponensial) dan selanjutnya turun lagi (peralihan fase eksponensial menuju fase stasioner). Pola perubahan nilai *yield* sel-glukosa tersebut diasumsi merupakan fungsi dari rasio glukosa terhadap sel dan dinyatakan dalam sebuah persamaan sebagai berikut

$$Y_{RSg} = C_1 - C_2 \left( \frac{S_g}{R} \right)^2 - C_3 \left( \frac{S_g}{R} \right) \quad (10)$$

Tetapan model matematika dievaluasi ulang dengan berdasarkan  $Y_{RSg}$  merupakan suatu fungsi seperti ditulis dalam persamaan (10), sedangkan tetapan lain bernilai tetap sebagaimana dalam Tabel 1. Tetapan model matematika hasil evaluasi ulang ditunjukkan pada Tabel 2. Lebih jauh, perbandingan data hasil percobaan dengan simulasi menggunakan tetapan pada Tabel 2 ditunjukkan pada Gambar 6, 7, 8, 9, dan 10.

Tabel 2. Tetapan kinetika fermentasi batch,  $Y_{RSg}$  sesuai persamaan (10) (pH 5,6 dan doT 5% udara jenuh)

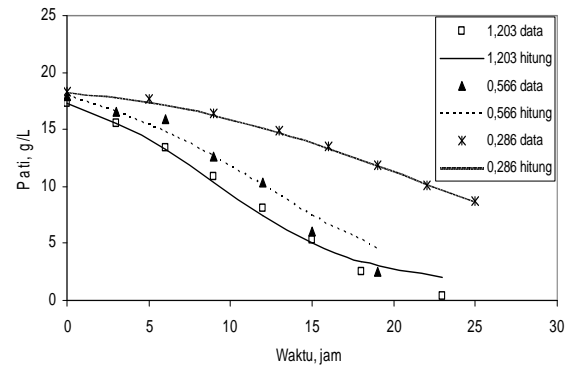
No.	Tetapan	Amonium awal (g/L)		
		0,286	0,566	1,203
1	$\mu_{obs}$	1,0775	0,9967	1,0430
2	$K_{Sg}$	5,7013	5,8727	5,5575
3	$K_{Sn}$	0,2834	0,2877	0,2899
4	$k_1$	0,0110	0,0171	0,0261
5	$k_2$	0,0001	0,0001	0,0001
6	$C_1$	0,8359	0,9136	0,9006
7	$C_2$	1,6266	0,0185	1,6723
8	$C_3$	2,4398	0,0065	1,5221
9	$Y_{PSg}$	0,0082	0,0130	0,0194
10	$Y_{RSn}$	7,4139	8,8576	4,8260
11	$m_1$	0,0420	0,0570	0,0582
12	$m_2$	0,0005	0,0004	0,0003
13	$a$	0,0007	0,0000	0,0000
14	$b$	0,6678	0,7838	3,5702
15	$S_{nm}$	46,5318	47,3291	42,9769
16	$n$	0,1859	0,2338	0,0050
17	$v_m$	0,4246	0,3716	0,6072
18	$K_m$	54,6726	50,2121	50,0023
19	$d$	1,7434	1,9854	1,7127

Tabel 3 menunjukkan nilai tetapan kinetika beberapa bakteri yang dikulturkan dalam medium glukosa. Berdasarkan beberapa nilai tetapan tersebut maka dapat disimpulkan bahwa nilai yang diperoleh dari prediksi dalam penelitian ini berada pada nilai yang wajar. Artinya, model matematika dan cara optimasi multivariabel yang digunakan dalam penelitian ini cukup reliabel.

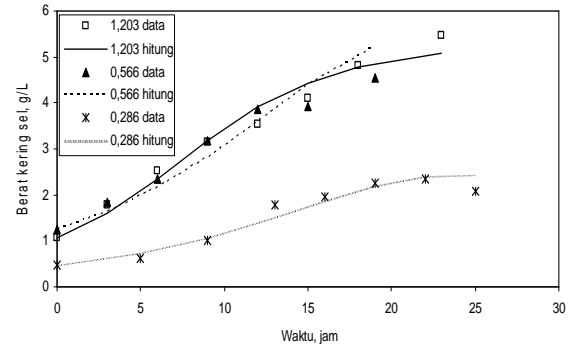
Tabel 3. Perbandingan nilai tetapan kinetika pada medium glukosa

Tetapan	<i>A. eutrophus</i> <sup>1</sup>	<i>B. mycoides</i> <sup>2</sup>	<i>R. eutropha</i> <sup>3</sup>	<i>R. eutropha</i> <sup>4</sup>	<i>B. cereus</i> IFO 13690 <sup>5</sup>
$\mu_{obs}$ (1/jam)	0,892	0,41	0,29	0,303	1,039
$K_{Sg}$ (g/L)	5,8	-	1,8	22,836	5,711
$K_{Sn}$ (g/L)	1,31	-	-	0,234	0,287
$Y_{PSg}$ (g/g)	0,47	0,1	0,47	-	0,014
$Y_{RSn}$ (g/g)	6,62	-	-	-	7,033

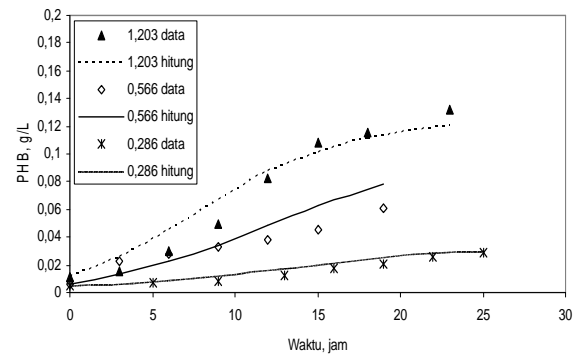
Keterangan: 1. Lee dkk. (1997a); 2. Thakur dkk. (2001); 3. Shang dkk. (2007); 4. Khanna dan Srivastava (2006); 5. Nilai rata-rata (Tabel 2).



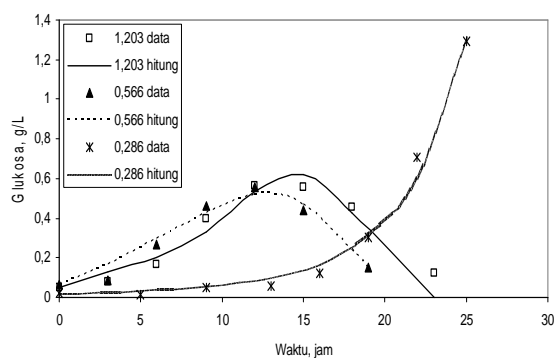
Gambar 6. Konsentrasi pati hasil percobaan dan simulasi. Konsentrasi amonium awal : 1,203 , 0,566 , dan 0,286 g/L



Gambar 7. Konsentrasi berat kering sel hasil percobaan dan simulasi. Konsentrasi amonium awal : 1,203 , 0,566 , dan 0,286 g/L

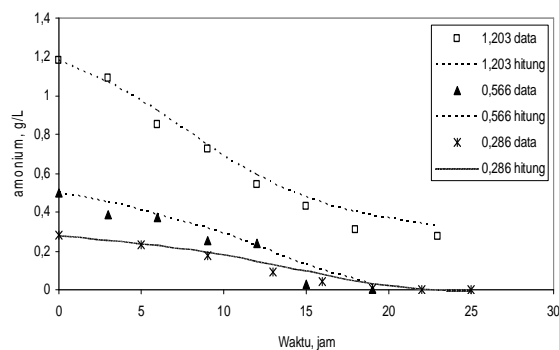


Gambar 8. Konsentrasi PHB hasil percobaan dan simulasi. Konsentrasi amonium awal : 1,203 , 0,566 , dan 0,286 g/L



Gambar 9. Konsentrasi glukosa hasil percobaan dan simulasi. Konsentrasi amonium awal: 1,203, 0,566, dan 0,286 g/L

Akumulasi glukosa sebagaimana ditunjukkan oleh Gambar 9 dan Gambar 5 menunjukkan fenomena bahwa pati dalam medium mengalami proses sakarifikasi membentuk glukosa. Akumulasi glukosa (gradien grafik bernilai positif) menunjukkan bahwa proses sakarifikasi berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan konsumsi glukosa oleh bakteri dan hal ini terjadi pada konsentrasi pati yang cukup besar. Pengurangan glukosa (gradien grafik bernilai negatif) menunjukkan konsumsi glukosa lebih tinggi dibandingkan kecepatan sakarifikasi dan hal ini terjadi ketika konsentrasi pati sudah cukup rendah. Konsentrasi amonium awal 0,286 g/L memberikan pola akumulasi glukosa yang berbeda dengan percobaan lainnya (Gambar 9). Akumulasi glukosa pada percobaan ini berlangsung landai (lambat) tetapi pada kondisi akhir fermentasi konsentrasi glukosa naik tajam. Fenomena ini terjadi karena menjelang akhir fermentasi pati masih tersedia sehingga proses sakarifikasi masih berlangsung sedangkan konsumsi glukosa sudah sangat sedikit karena tidak ada pertumbuhan sel yang disebabkan ion amonium telah habis (Gambar 10).



Gambar 10. Konsentrasi amonium hasil percobaan dan simulasi. Konsentrasi amonium awal: 1,203, 0,566, dan 0,286 g/L

Ada 2 kemungkinan sebab yang mengakibatkan proses sakarifikasi tetap berlangsung,

yaitu masih terdapat enzim amilase dalam medium sehingga terjadi reaksi sakarifikasi enzimatik dan suasana asam (pH 5,6) dalam medium mengakibatkan reaksi sakarifikasi kimiawi. Namun demikian, karena suhu medium 30°C maka kemungkinan yang lebih tepat adalah kemungkinan pertama karena reaksi sakarifikasi kimiawi memerlukan suhu medium yang lebih tinggi dan pH yang lebih rendah.

Nilai  $k_2$  sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2 mendekati nol. Hal ini sejalan dengan kesimpulan bahwa pola hubungan pertumbuhan sel dan produksi PHB mengikuti pola *growth associated product*. Lebih jauh, perlu uji reliabilitas terhadap nilai tetapan kinetika yang ditunjukkan pada Tabel 2. Uji reliabilitas tetapan dapat dilakukan melalui uji sensitivitas terhadap masing-masing tetapan tersebut, yaitu dengan cara melihat pengaruh perubahan nilai tetapan tersebut terhadap produksi PHB. Jika produksi PHB mengalami perubahan yang nyata ketika nilai tetapan berubah (produksi PHB sensitif terhadap nilai tetapan) maka tetapan tersebut dikatakan reliabel (spesifik). Sebaliknya, jika produksi PHB tidak sensitif terhadap perubahan nilai tetapan maka tetapan tersebut tidak reliabel. Tidak reliabel berarti bahwa nilai tetapan sepanjang kisaran tersebut merupakan nilai yang benar secara matematis sehingga nilai tetapan yang sebenarnya tidak dapat ditentukan secara pasti. Tabel 4 menunjukkan contoh hasil uji sensitivitas produksi PHB terhadap perubahan nilai tetapan, yaitu sensitivitas produksi PHB terhadap nilai  $S_{nm}$  dan  $\mu_{obs}$  (hasil uji sensitivitas tetapan lain tidak ditampilkan dalam makalah ini mengingat ruangan yang terbatas). Berdasarkan hasil uji sensitivitas yang telah dilakukan, tetapan kinetika sakarifikasi ( $v_m$ ,  $K_m$ , dan  $d$ ) dan sebagian tetapan kinetika fermentasi ( $a$ ,  $Y_{RSg}$ ,  $Y_{PSg}$ ,  $m_1$ ,  $S_{nm}$ , dan  $n$ ) bersifat tidak reliabel, sedangkan tetapan kinetika fermentasi lainnya ( $\mu_{obs}$ ,  $K_{Sg}$ ,  $K_{Sn}$ ,  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $b$ ,  $Y_{RSn}$  dan  $m_2$ ) bersifat reliabel.

Proses sintesis PHB terdiri dari 2 langkah proses seri, yaitu sakarifikasi dilanjutkan fermentasi. Dua buah proses yang berlangsung secara seri maka perlu diuji yang manakah proses yang merupakan penentu kecepatan proses *overall (controlling rate)*. Manfaat lain dari uji sensitivitas sebagaimana telah dibahas sebelumnya adalah dapat digunakan untuk menguji proses yang merupakan *controlling rate*. Jika proses produksi PHB tidak sensitif terhadap suatu parameter proses (sakarifikasi atau fermentasi) maka proses tersebut bukan merupakan *controlling rate*, sebaliknya jika produksi PHB sensitif dengan parameter proses tertentu (sakarifikasi atau fermentasi) maka proses tersebut merupakan *controlling rate*.

Kecepatan proses sakarifikasi direpresentasikan oleh nilai-nilai tetapan  $v_m$ ,  $K_m$ , dan  $d$ . Uji sensitivitas terhadap tetapan tersebut menunjukkan bahwa produksi PHB tidak sensitif terhadap perubahan nilai 3 tetapan tersebut. Sebaliknya, proses produksi PHB cukup sensitif terhadap tetapan-tetapan yang merupakan representasi proses fermentasi ( $\mu_{obs}$ ,  $K_{Sg}$ ,  $K_{Sn}$ ,  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $b$ ,  $Y_{RSn}$  dan  $m_2$ ).

Tabel 4. Hasil uji sensitivitas produksi PHB terhadap nilai  $S_{nm}$  dan  $n$

No.	$S_{nm}$ , g/L	PHB, g/L			$\mu_{obs}$ , 1/jam	PHB, g/L		
		$[NH_4^+]$ awal 0,286 g/L	$[NH_4^+]$ awal 0,566 g/L	$[NH_4^+]$ awal 1,203 g/L		$[NH_4^+]$ awal 0,286 g/L	$[NH_4^+]$ awal 0,566 g/L	$[NH_4^+]$ awal 1,203 g/L
1	25,98	0,030	0,078	0,121	0,543	0,0179	0,0413	0,0880
2	30,98	0,030	0,078	0,121	0,643	0,0212	0,0501	0,0985
3	35,98	0,030	0,078	0,121	0,743	0,0246	0,0591	0,1064
4	37,98	0,030	0,078	0,121	0,843	0,0275	0,0678	0,1124
5	42,98	0,030	0,078	0,121	0,943	0,0295	0,0750	0,1170
6	45,98	0,030	0,078	0,121	1,043	0,0301	0,0797	0,1206
7	50,98	0,030	0,078	0,121	1,143	0,0304	0,0812	0,1236
8	55,98	0,030	0,078	0,121	1,243	0,0306	0,0820	0,1258
9	60,98	0,030	0,078	0,121	1,343	0,0308	0,0819	0,1275
10	65,98	0,030	0,078	0,121	1,443	0,0308	0,0824	0,1287

Dengan demikian, proses fermentasi merupakan *controlling rate* pada proses produksi PHB dari tapioka menggunakan isolat bakteri amilolitik *B. cereus* IFO 13690. Uji sensitivitas juga menunjukkan bahwa produksi PHB cukup sensitif terhadap nilai  $K_{Sn}$  dan  $Y_{RSn}$ . Hal ini berarti bahwa jumlah nitrogen dalam medium cukup berpengaruh terhadap produksi PHB dan hal ini sejalan dengan hasil penelitian lain (Kato dkk., 1999; Lee dkk., 1997b; Tohyama dkk., 2000; Beaulieu dkk., 1995; Gostomski and Bungay, 1996; dan Seo dkk., 1998). Oleh karena itu, berdasarkan evaluasi terhadap pemodelan matematika sebagaimana telah dibahas sebelumnya maka upaya untuk melakukan optimasi produksi PHB dari tapioka menggunakan *B. Cereus* IFO 13690 dapat dilakukan dengan mengoptimalkan proses fermentasi yang merupakan *controlling rate*, antara lain dengan cara menentukan jumlah optimum tapioka dan amonium dalam medium.

**KESIMPULAN**

Produksi PHB oleh *B. Cereus* IFO 13690 mengikuti pola pertumbuhan berasosiasi dengan produk (*growth associated product*). Model mekanisme pemanfaatan tapioka oleh *B. cereus* IFO 13690 yang diusulkan pada Gambar 1 sesuai dengan fenomena proses yang terjadi dalam percobaan. Tetapan kinetika sakarifikasi ( $v_m$ ,  $K_m$ , dan  $d$ ) dan sebagian tetapan kinetika fermentasi ( $a$ ,  $Y_{RSg}$ ,  $Y_{PSg}$ ,  $m_1$ ,  $S_{nm}$ , dan  $n$ ) bersifat tidak reliabel, sedangkan tetapan kinetika fermentasi lainnya ( $\mu_{obs}$ ,  $K_{Sg}$ ,  $K_{Sn}$ ,  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $b$ ,  $Y_{RSn}$  dan  $m_2$ ) bersifat reliabel. Proses fermentasi merupakan *controlling rate* proses sintesis PHB secara keseluruhan.

**DAFTAR LAMBANG**

- a, b, d, n,  $m_1$ ,  $m_2$  : tetapan
- $K_m$  : tetapan kejenuhan reaksi sakarifikasi, g/L.
- $K_{Sg}$  : tetapan kejenuhan substrat glukosa, g/L.
- $K_{Sn}$  : tetapan kejenuhan substrat amonium, g/L.
- P : konsentrasi PHB, g/L.
- R : konsentrasi sel aktif, g/L.
- Ss : konsentrasi tapioka/pati, g/L.
- $S_g$  : konsentrasi glukosa, g/L.
- $S_n$  : konsentrasi amonium, g/L.

- $S_{nm}$  : konsentrasi amonium maksimum dimana sel dapat tumbuh, g/L.
- t : waktu fermentasi, jam.
- v : kecepatan reaksi spesifik sakarifikasi, 1/jam.
- $v_m$  : kecepatan reaksi spesifik maksimum sakarifikasi, 1/jam.
- X : konsentrasi sel total, g/L.
- $Y_{PSg}$ : yield PHB terhadap glukosa, g PHB/g glukosa.
- $Y_{RSg}$ : yield sel aktif terhadap glukosa, g sel/g glukosa.
- $Y_{RSn}$ : yield sel aktif terhadap amonium, g sel/g amonium.
- $\mu_R$  : kecepatan pertumbuhan spesifik sel aktif, 1/jam.
- $\mu_{obs}$  : kecepatan pertumbuhan spesifik sel aktif maksimum teramati, 1/jam.

**DAFTAR PUSTAKA**

Ahn, W.S., Park, S.J., and Lee, S.Y., (2000), Production of Poly(3-Hydroxybutyrate) by Fed-Batch Culture of Recombinant *Escherichia coli* with a Highly Concentrated Whey Solution, *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(8), pp. 3624-3627.

Ahn, W.S., Park, S.J., and Lee, S.Y., (2001), Production of Poly(3-Hydroxybutyrate) from Whey by Cell Recycle Fed-Batch Culture of Recombinant *Escherichia coli*, *Biotechnology Letters*, 23, pp. 235-240.

Anderson, A.J. and Dawes, E.A., (1990), Occurrence, Metabolism, Metabolic Role, and Industrial Uses of Bacterial Polyhydroxyalkanoates, *Microbiol. Rev.*, 54(4), pp. 450-472.

APHA, AWWA, and WPCF, (1976), *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*, edisi 14, APHA, Washington, pp. 416-417.

Beaulieu, M., Beaulieu, Y., Melinard, J., Pandian, S., and Goulet, J., (1995), Influence of Ammonium Salts and Cane Molasses on Growth of *Alcaligenes eutrophus* and Production of Polyhydroxybutyrate, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(1), pp. 165-169.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F., (1956), Colorimetric Method for



- Determination of Sugars and Related Substances, *Anal. Chem.*, 28, pp. 350-356.
- Gostomski, P.A. and Bungay, H.R., (1996), Effect of Glucose and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> Levels on Poly( $\beta$ -hydroxybutyrate) Production and Growth in a Continuous Culture of *Alcaligenes eutrophus*, *Biotechnol. Prog.*, 12 (2), pp. 234-239.
- Grothe, E. and Chisti, Y., (2000), Poly( $\beta$ -hydroxybutyric acid) Thermoplastic Production by *Alcaligenes latus*: Behaviour of Fed-batch Cultures, *Bioprocess Engineering*, 22, pp. 441-449.
- Katoh, T, Yuguchi, D., Yoshii, H., Shi, H., and Shimizu, K., (1999), Dynamics and Modeling on fermentative Production of Poly( $\beta$ -hydroxybutyric acid) from Sugars via Lactate by A Mixed Culture of *Lactobacillus delbrueckii* and *Alcaligenes eutrophus*, *J. Biotechnol.*, 67, pp. 113-134.
- Khanna, S. and Srivastava, A.K., (2005), A Simple Structured Mathematical Model for Biopolymer (PHB) Production, *Biotechnol. Prog.*, 21(3), pp. 830-838.
- Khanna, S and Srivastava, A.K., (2006), Computer simulated fed-batch cultivation for over production of PHB: A comparison of simultaneous and alternate feeding of carbon and nitrogen, *Biochemical Engineering Journal*, 27, pp. 197-203.
- Lee, J.H., Hong, J., and Lim, H.C., (1997a), Experimental Optimization of Fed-Batch Culture for Poly- $\beta$ -Hydroxybutyric Acid Production, *Biotechnol. Bioeng.*, 56 (6), pp. 697-705.
- Lee, S.Y., Meddelberg, A.P.J., and Lee, Y.K., (1997b), Poly(3-Hydroxybutyrate) Production from Whey Using Recombinant *Escherichia coli*, *Biotechnology Letters*, 19(10), pp. 1033-1035.
- Moat, A.G. dan Foster, J.W., (1988), *Microbial Physiology*, 2<sup>nd</sup> ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Park, S.J., Park, J.P., and Lee, S.Y., (2002), Production of Poly(3-hydroxybutyrate) from Whey by Fed-batch Culture of Recombinant *Escherichia coli* in A Pilot-Scale Fermenter, *Biotechnology Letters*, 24, pp. 185-189.
- Ramsay, B.A., Lomaliza, K., Chavarie, C., Dube, B., Bataille, and Ramsay, J.A., (1990), Production of Poly( $\beta$ -Hydroxybutyric-Co-  $\beta$ -Hydroxyvaleric) Acids, *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(7), pp. 2093-2098.
- Senior, P.J., Beech, G.A., Ritchie, G.A.F., and Dawes, E.A., (1972), The Role of Oxygen Limitation in The Formation of Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate during batch and Continuous Culture of *Azotobacter beijerinckii*, *Biochem. J.*, 128, pp. 1193-1201.
- Seo, J.K., Yoon, J.Y., Oh, J.T., and Kim, W.S., (1998), Optimum Growth Conditions dan pH Control Solution for PHB Biosynthesis in *A. eutrophus*, *J. Ind. Eng. Chem.*, 4 (3), pp. 215-220.
- Shang, L.S., Fan, D.D., Kim, M.I., Choi, J., and Chang, H.N., (2007), Modeling of Poly(3-hydroxybutyrate) Production by High Cell Density Fed-batch Culture of *Ralstonia eutropha*, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 12, pp. 417-423.
- Solaiman, D.K.Y. and Ashby, R.D., (2005), Rapid Genetic Characterization of Poly(hydroxyalkanoate) Synthase and Its Applications, *Biomacromolecules*, 6, pp. 532-537.
- Thakur, P.S., Borah, B., Baruah, S.D., and Nigam, J.N., (2001), Growth-Associated Production of Poly-3-hydroxybutyrate by *Bacillus mycoides*, *Folia Microbiol.*, 46(6), pp. 488-494.
- Tohyama, M., Patarinska, T., Qiang, Z., and Shimizu, K., (2002), Modeling of the Mixed Culture and Periodic Control for PHB Production, *Biochem. Eng. J.*, 10, pp. 157-173.
- Valappil, S.P., Misra, S.K., Boccaccini, A.R., Keshavarz, T., Bucke, C., and Roy, I., (2007), Large Scale production and Efficient Recovery of PHB with Desirable Material Properties, from The Newly Characterised *Bacillus cereus* SPV, *J. Biotechnol.*, doi: 10.1016/j.jbiotec.2007.03.013.
- Wang, F. and Lee, S.Y., (1997), Poly(3-Hydroxybutyrate) Production with High Productivity and High Polymer Content by a Fed-Batch Culture of *Alcaligenes latus* under Nitrogen Limitation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(9), pp. 3703-3706.
- Wu, Q., Huang, H., Hu, G., Chen, J., Ho, K.P., and Chen, G.Q., (2001), Production of poly-3-hydroxybutyrate by *Bacillus sp.JMa5* cultivated in molasses media, *Antonie van Leeuwenhoek*, 80, pp. 111-118.