



Teknologi fermentasi dengan bakteri II

Nur Hidayat
Lab Bioindustri TIP FTP UB

1

CPL – CPMK
– SUB
CPMK

CPL: Mampu merancang komponen sistem, sistem, proses, dan/atau produk untuk memenuhi kebutuhan dalam kendala yang realistis dengan menerapkan metode, ketrampilan, dan alat keteknikan moderen dalam praktek teknik agroindustri cerdas yang berkelanjutan berbasis kearifan lokal dan berwawasan global

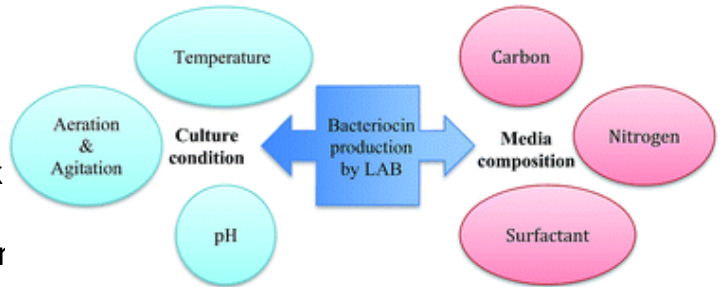
CPMK: Mampu menganalisis bioproses yang melibatkan enzim dan/atau mikrobia

SUB CPMK: Ketepatan dalam mendeterminasi parameter2 kinetika dalam proses

2

Faktor-faktor pendukung keberhasilan fermentasi

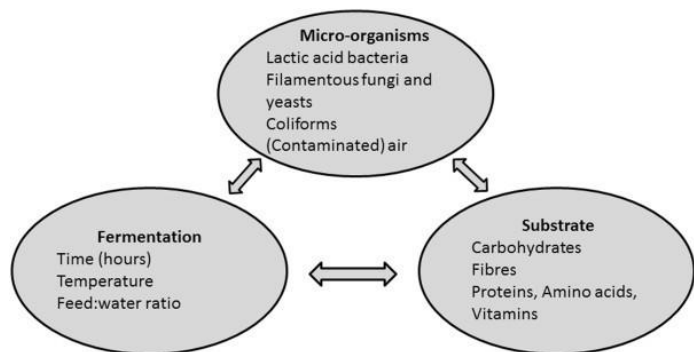
- Setiap bakteri yang digunakan dalam fermentasi harus dapat tumbuh dengan baik
- Pertumbuhan yang baik sangat tergantung ketersediaan nutrisi dan kondisi lingkungan.



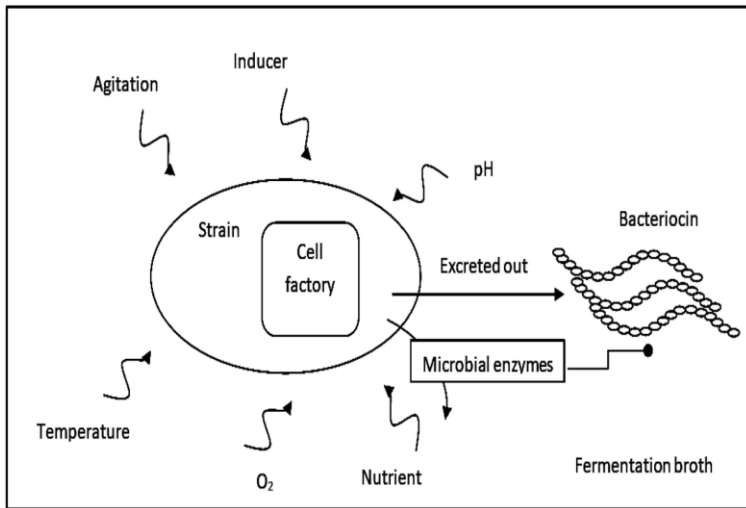
3

Pengaruh Komposisi Medium

- Complex medium
- Limbah
- Ketersediaan sumber karbon
- Ketersediaan sumber nitrogen
- Surfaktan



4



Kondisi kultur

- Suhu
- pH
- Aerasi dan agitasi
- dsb

5

Medium Kompleks

- Medium basal kompleks biasanya digunakan untuk penumbuhan kultur bukan untuk produksi
- Beberapa contoh medium basal kompleks untuk BAL adalah Man Rogosa and Sharpe (MRS), Brain Heart Infusion (BHI), NaLa (sodium lactate), M17 and trypticase soy broth yeast extract (TSBYE). Medium ini banyak tersedia di toko bahan kimia
- Beberapa media sering di desain untuk mikroba tertentu, missal M17 untuk *Lactococci*, MRS untuk *Lactobacilli*.

6

Culture media	Producing strain		
Diluted whey, concentrated whey, MRS	<i>P. acidilactici</i> NRRL B-5627 and <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CECT539		
MRS, TGE, BHI, Elliker, TSB, APT, tomato juice broth, M17 + lactose, M17 + glucose	<i>L. actococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> A164	BHI, M17, soy milk, molasses, MRS supplemented with (tryptone, saccharose or vitamin C)	<i>E. faecium</i> ST311LD
APT broth, Elliker broth, M17 broth, MRS broth, M-MRS broth, M-MRS + 2% Glu broth	<i>E. faecium</i> NKR-5-3	MRS broth, BHI broth, M17 broth, soy milk, molasses	<i>L. plantarum</i> (ST23LD and ST341LD)
MRS broth and LAPtg (peptone + tryptone + glucose + yeast extract + Tween 80)	<i>L. salivarius</i> CRL 1328	M17 and MRS	<i>P. acidilactici</i> KKU 197
Feather meal, industrial fibrous soybean, dried cheese whey powder, grape bagasse BHI	<i>B. licheniformis</i> P40	MRS broth, BHI broth, M17 broth, soy milk, skim milk and molasses	<i>L. plantarum</i> (JW3BZ and JW6BZ) <i>L. fermentum</i> (JW11BZ and JW15BZ)
MRS, M17 and BHI	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ST34BR	TGE and MRS	<i>P. acidilactici</i> H
		MRS and TGE	<i>P. acidilactici</i> H
		Improving MRS (trypton, yeast extract, glucose, Tween, pH = 6), normal MRS	<i>E. durans</i> E204

7

Medium fermentasi

- Optimalisasi formulasi media pertumbuhan adalah salah satu faktor kunci yang perlu dipertimbangkan dalam peningkatan setiap proses fermentasi
- Formulasi medium untuk fermentasi skala industri harus memenuhi sejumlah kriteria: harus hemat biaya, hasil produk tinggi, waktu fermentasi pendek dan kemudahan proses pemurnian hilir.
- Formulasi media tidak hanya ditujukan pada peningkatan produksi tetapi juga untuk menstabilkan produksinya.
- Gula, vitamin dan sumber nitrogen dapat ditambahkan ke media kultur sebagai suplemen untuk memaksimalkan produksi
- Medium yang kaya yeast extract dan hydrolysate protein diperlukan untuk pertumbuhan LAB dan produksi bakteriosin yang baik



8

Agriculture, food and industrial wastes

Tingginya biaya sumber protein selalu menimbulkan masalah besar sehubungan dengan penerapan teknologi spesifik untuk aplikasi komersial. Pada saat yang sama produk limbah dari industri makanan dapat menjadi masalah lingkungan karena kandungan BOD yang tinggi.

Penggunaan fraksi protein murah akan menghasilkan pengurangan biaya dalam proses produksi skala besar.

Sejumlah kriteria harus dipertimbangkan ketika memilih menggunakan limbah industri dalam formulasi media fermentasi. Ini termasuk kandungan karbon atau nitrogen, harga, ketersediaan dan tingkat kemurnian.

9

Types and concentrations of carbon source

- Glukosa adalah sumber karbon utama untuk semua mikroorganisme yang dengan cepat digunakan untuk konversi energi
- Pada *L. Lactis*, glukosa mendukung tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi, konsumsi substrat yang lebih cepat dan pembentukan produk yang lebih besar dibandingkan dengan sumber karbon lainnya.
- Sebagian besar bakteri mampu memfermentasi mono dan di-sakarida dan hanya sebagian yang memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat kompleks seperti pati.
- Beberapa bakteri tidak dapat memfermentasi sumber karbon yang kompleks, karenanya perlu langkah pre-treatment di mana gula dihidrolisis menjadi gula yang dapat difermentasi.

10

Types and concentrations of nitrogen source

- Tanggapan mikroorganisme terhadap konsentrasi nitrogen yang berbeda sangat tergantung pada jenis sumber nitrogen. Beberapa mikroorganisme tidak mampu mensintesis senyawa nitrogen organik dari nutrisi yang tersedia di media.
- Sumber nitrogen organik seperti pepton, ekstrak sapi, dan ekstrak khamir biasanya digunakan untuk mendukung pertumbuhan BAL yang baik.
- Ekstrak khamir adalah komponen larut air dari sel-sel khamir terutama terdiri dari asam amino, peptida, karbohidrat dan garam.
- Penggunaan ekstrak ragi yang kaya akan vitamin, mineral, asam amino dan sumber nitrogen yang mudah dikonsumsi lainnya, tidak ekonomis dalam proses fermentasi skala besar karena biaya yang relatif tinggi dari sumber nitrogen ini.

11

Types and concentrations of nitrogen source

- Pertumbuhan dan produksi amilase oleh *Bacillus* sp. WN11 dipengaruhi oleh jenis sumber nitrogen yang digunakan dalam medium. Persyaratan nutrisi pada *Bacillus* spp. termofil adalah kompleks.
- Beberapa asam amino diyakini mutlak diperlukan untuk pertumbuhan banyak strain *Bacillus* termofilik. Ini mungkin alasan mengapa WN11 tumbuh lebih baik dan menghasilkan amilase lebih tinggi di media yang mengandung proteose pepton dan tryptone.
- Namun, produksi amilase oleh WN11 lebih rendah ketika ekstrak khamir digunakan sebagai sumber nitrogen. Pengamatan serupa juga dilaporkan untuk *B. Stearothermophilus* yang ditumbuhkan menggunakan ekstrak khamir sebagai sumber nitrogen.

12

Surfactants

- Dalam beberapa kasus, penambahan surfaktan meningkatkan konsentrasi bakteriosin yang dihasilkan sebagai konsekuensi dari akselerasi pertumbuhan sel.
- Tween 80 sebagai surfaktan adalah komponen medium paling penting untuk peningkatan produksi bakteriosin oleh beberapa strain BAL
- Tween 80 adalah deterjen non-ionik dan ester asam oleat yang larut dalam air di mana pertumbuhan mikroorganisme ditingkatkan dengan kehadiran mereka.
- Asam oleat telah dikenal sebagai faktor pertumbuhan yang penting untuk beberapa mikroorganisme sementara deterjen non-ionik yang mengandung asam oleat, asam oleat bebas dapat digunakan untuk menggantikan persyaratan biotin bagi Lactobacilli.

13



Effect of cultivation condition

14

Suhu

- Suhu memiliki peran penting dalam produksi metabolit
- Suhu pertumbuhan seringkali berbeda dengan suhu produksi metabolit
- Laju pertumbuhan yang rendah pada suhu rendah, pada gilirannya akan meningkatkan ketersediaan metabolit esensial (termasuk ATP) untuk produksi bakteriosin. Sebaliknya pada suhu yang tinggi terjadi degradasi bakteriosin.

15

Table 6 Effect of temperature and pH on growth of various LAB strains and production of bacteriocin^a

Producer LAB strain/bacteriocin	Class	Optimum temp. for: (°C)	
		Growth	Production
Lactococci			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> A164/Nisin-like bacteriocin	NM	37	30
<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> 1(NN-MD1-7)/bacteriocin	NM	35	35
<i>L. lactis</i> /bacteriocin	NM	30	30
Lactobacilli			
<i>L. salivarius</i> CRL 1328/bacteriocin CRL 1328	NM	37	37
<i>L. curvatus</i> LTH 1174/curvacin A	II	34.5	20–27
<i>L. acidophilus</i> AA11/acidocin AA11	II	37	30
<i>L. spp.</i> (<i>L. acidophilus</i> M2, <i>L. acidophilus</i> CH1, <i>L. fermentum</i> M1 and <i>L. pentosus</i> CH2)/bacteriocin	NM	34	34
Pediococci			
<i>P. acidilactici</i> ITV 26/pediocin	II	40	35
<i>P. acidilactici</i> PA003/pediocin	II	35	35
Enterococci			
<i>E. faecium</i> CWBI-B1430 and <i>E. mundtii</i> CWBI-B1431/enterocin-like bacteriocin	NM	37	37
<i>E. faecium</i> . B3L3/bacteriocin B3L3	NM	37	37
Leuconostocs			
<i>L. mesenteroides</i> L124/bacteriocins L124	NM	30	25

^a NM: not mentioned.

16

Suhu

- Produksi amilase oleh *Bacillus* sp. WN11 maksimum pada 55 ° C sedangkan pertumbuhan tertinggi dicatat pada 65 ° C. Pola serupa dilaporkan untuk *B. licheniformis* dan *B. Stearothermophilus*. Saito dan Yamamoto (1975) menyatakan bahwa perbedaan optima adalah karena efek suhu pada tingkat sintesis amilase.

17

pH

- Aktivitas metabolisme BAL sangat dipengaruhi oleh pH medium dan kultur.
- BAL umumnya sukar tumbuh pada media buatan tetapi mereka tumbuh dengan mudah di sebagian besar substrat makanan, menghasilkan asam dan mengurangi pH kultur dengan cepat ke titik di mana mikroorganisme yang bersaing lainnya tidak lagi dapat tumbuh. Namun pembentukan asam organik tergantung pada jenis fermentasi, durasi, suhu, substrat dan strain BAL.
- BAL lebih toleran asam dibandingkan dengan jenis bakteri lain dan lebih toleran terhadap kisaran pH yang lebih rendah dan lebih luas

18

pH

- pH pertumbuhan seringkali berbeda dengan pH produksi metabolit
- Produksi beberapa bakteriosin ditingkatkan pada pH rendah (5.0). Karena sintesis bakteriosin ditingkatkan pada tingkat pertumbuhan yang relatif rendah, produksi bakteriosin oleh beberapa lab ditingkatkan pada kondisi pertumbuhan yang tidak optimal
- Pada suhu atau pH tinggi, produksi bakteriosin lebih rendah karena kebutuhan energi untuk keperluan pemeliharaan sel lebih tinggi ketika suhu atau pH meningkat.

19

Aerasi dan agitasi

- Ketersediaan oksigen memiliki pengaruh besar pada pertumbuhan mikroba.
- Mikroorganisme bervariasi sehubungan dengan persyaratan dan toleransi mereka terhadap oksigen molekuler.
- Oksigen mempengaruhi produksi metabolit
- Pertumbuhan *P. acidilactici* KP10 meningkat dengan meningkatnya kecepatan agitasi dari 100 menjadi 800 rpm tetapi produksi bakteriosin hanya meningkat hingga 400 rpm dan secara signifikan berkurang pada agitasi di atas 500 rpm

20