



Aplikasi mikrobiologi (bioteknologi)

Lili sugiyarto

Lili_sugiyarto@uny.ac.id

- Industrial Application
- Environmental Application
- Medical Application
- etc

4 kelompok mikroorganisme yang berperan dalam industri

- BAKTERI : susu asam, yogurt
- YEAST (khamir) : *wine*, bir
- MOLD (kapang) : keju
- ACTINOMYCETES (filamentous bacteria) : sumber antibiotika

Fermentasi

KEUNTUNGAN FERMENTASI

- Meningkatkan nilai nutrisi
- Meningkatkan nilai cerna
- Menghasilkan flavor atau rasa yang lebih baik
- Mengawetkan

Produk komersial mikroorganisme

- Sel mikroba itu sendiri
- Enzim (*large molecules* : 10.000- jutaan Dalton)
- Produk metabolit primer
(esensial untuk pertumbuhan)
molecules low
- Produk metabolit sekunder
(non esensial pertumbuhan,
pertahanan) < 1.500 Dalton

Beberapa Produk komersial (fermentasi)

- Metabolit primer : asam amino, vitamin, asam organik , ex: riboflavin/B2 (*Ashbya gossypti*), cobalamin/B12 (*Propionibacterium shermanii* dan *Pseudomonas denitrificans*)
- Metabolit sekunder : antibiotik, alkaloid, etc.

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi

- Substrat
- Stater/inokulum
- Suhu
- pH
- Aerasi oksigen
- Kelembaban
- Lama proses fermentasi

Inokulum Fermentasi

- Dalam kondisi yang sehat
- Tersedia cukup sehingga dapat menghasilkan inokulum dalam takaran yang optimal
- Bebas kontaminasi
- Berada dalam bentuk morfologi yang sesuai

CIRI-CIRI MIKROBA YANG COCOK UNTUK FERMENTASI

Tumbuhnya cepat

2. Waktu berbiaknya pendek
3. Massa selnya menjadi 2 x lipat dalam waktu 30 menit – 3 jam
4. Dapat tumbuh pada berbagai bahan mentah
5. Dapat menggunakan berbagai sumber N
6. Tidak menghasilkan racun

PEMELIHARAAN KULTUR

1. Mencegah terjadinya perubahan genetik
2. Mencegah kontaminasi
3. Mempertahankan viabilitas sel

Penyimpanan pada suhu rendah :

1. Penyimpanan pada media agar
2. Penyimpanan spora dalam air

Sumber mikroba

- Bakteri
- Fungi
 - Kapang
 - khamir

Manfaat mikroba untuk fermentasi

- Produksi massa sel
- Produksi enzim, antigen, pigmen, lipid,
- Produksi metabolit primer
- Produksimetabolit sekunder
- Aplikasi aktivitas metabolisme : pengawetan keju, pengolahan pembuatan roti, pengolahan limbah,
- Modifikasi struktur kimia / biotransformasi
- Merangsang fixasi nitrogen

Fermentasi

- Faktor-faktor yg perlu diperhatikan: ketersediaan sumber karbon dan nitrogen, pH, kelembapan, suhu, tahap pertumbuhan dan ada tidaknya kompetitor.
- Batch culture
- Continuous culture
- Tipe fermentasi: fermentasi substrat padat dan fermentasi substrat cair.

- Fermentasi batch : keju, yoghurt, bir, antibiotika
- Fermentasi continous : SSP (single cell protein) 80% berat massa sel berupa protein

Fermentor



Fermentasi Sederhana



Tipe-tipe Fermentasi

- Fermentasi asam laktat
- Fermentasi ikan dan daging
- Fermentasi sayuran
- Fermentasi sereal dan kacang-kacangan
- Fermentasi susu
- Fermentasi alkohol
- Fermentasi asam
- Fermentasi antibiotika

Contoh produk fermentasi

MINUMAN

Produk beralkohol sangatl beragam dari pangan hingga energi. produk pangan yang paling lama dikenal adalah wine / bir

WINE

- Bahan yang utama diperlukan adalah buah (jika buahnya anggur disebut wine . Tetapi bila menggunakan buah bukan anggur maka diberi nama sesuai nama buahnya. misal : Pisang maka disebut wine pisang dll, tergantung nama buah).
- Selain buah diperlukan juga peralatan (fermentor) dan mikro organisme yaitu khamir, dan nutrisi tambahan.
- Hampir semua buah dapat dibuat wine terutama yang mengandung gula.
- Dapat pula dari bahan yang kaya pati misalnya beras ketan,

Fermentasi Nata deCoco

- Nata de coco sebenarnya adalah selulosa murni
- Merupakan produk hasil kegiatan mikroba *Acetobacter xylinum*.
- Mikroba ini dapat merubah gula menjadi selulosa.
- Jaringan selulosa inilah yang membuat nata terlihat putih.
- Sebagai makanan berserat, nata de coco memiliki kandungan selulosa $\pm 2,5 \%$ dan air lebih dari 95%
- Nata de coco memiliki kandungan serat kasar $2,75 \%$, protein $1,5 - 2,8 \%$, lemak $0,35 \%$ dan sisanya air

Fermentasi Yogurt

- Produksi yogurt dimulai dengan kondisi susu. Kandungan air pada susu diturunkan hingga 25% dengan evaporasi vacuum dan ditambah 5% susu bubuk.
- Tahap akhir kondisioning, panaskan susu pada suhu 86 – 93°C selama 30 – 60 menit (Hal ini akan menyebabkan beberapa protein mengalami pemecahan dan mikrobia kontaminan akan terbunuh).
- Setelah itu didinginkan pada suhu 45°C dan ditambahkan campuran *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dalam perbandingan 1:1.

Khamir

- mikroorganisme yang melakukan fermentasi pada juice buah untuk menjadi wine.
- Khamir yang umum digunakan adalah : *Saccharomyces* sp.
- Khamir ini akan mengubah gula menjadi alkohol dan CO₂.
- Dalam perombakan diperlukan nutrien yang mendukung pertumbuhan khamir, jika tidak tersedia pada bahan baku. Maka bahan yang umum ditambah adalah amonium fosfat sebagai sumber nitrogen.

Contoh produk fermentasi

ASAM

Fermentasi Asam Laktat

- Fermentasi asam laktat banyak digunakan pada susu. Jasad yang paling berperan dalam fermentasi ini adalah *Lactobacillus* sp. Laktosa diubah menjadi asam laktat.

Fermentasi Asam Sitrat

- Asam sitrat dihasilkan melalui fermentasi
- Menggunakan jamur *Aspergillus niger*. Meskipun beberapa bakteri mampu melakukan, namun yang paling umum digunakan adalah jamur ini.
- Pada kondisi aerob jamur ini mengubah gula atau pati menjadi asam sitrat melalui pengubahan pada TCA

Fermentasi Asam Glutamat

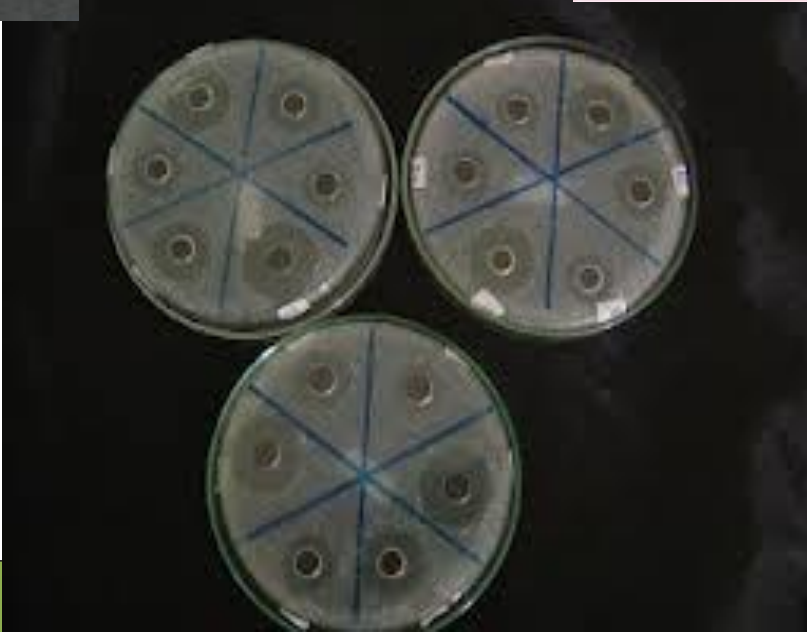
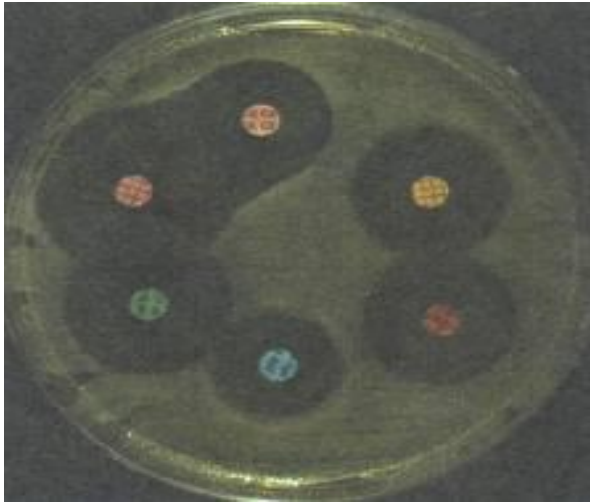
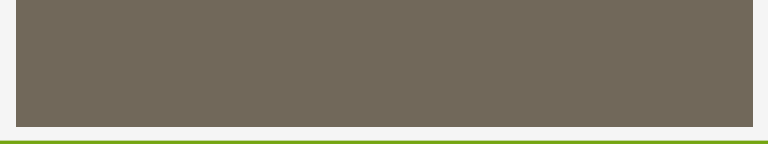
- Asam glutamat digunakan untuk penyedap makanan sebagai penegas rasa.
- Organisme yang kini banyak digunakan adalah mutan dari *Corynebacterium glutamicum*.
- Pertama kali dikembangkan di negara Jepang.

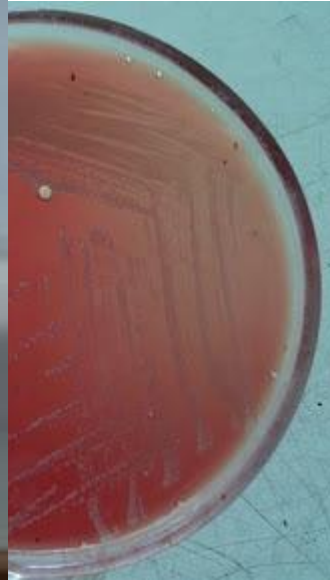
Contoh Produk Alkohol

ALKOHOL

Fermentasi Alkohol

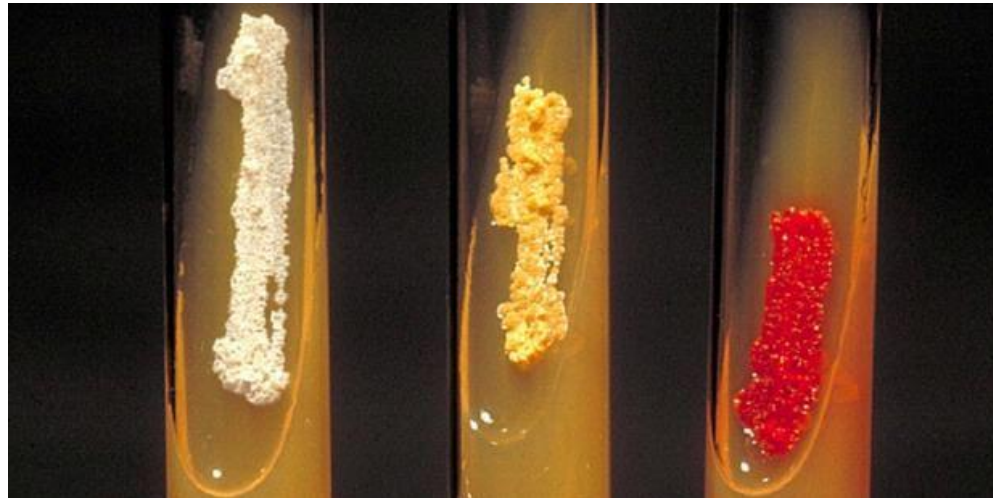
- Mikroorganismen yang terlibat adalah : Khamir dari genus paling banyak digunakan adalah *S. cerevisiae* dan *S. cSaccharomyces* sp.
- *Saccharomyces* yang *arlbergensis*.
- Khamir ini akan mengubah gula pada substrat menjadi alkohol pada kondisi aerob. Jika khamir ini ditumbuhkan pada suasana aerob, maka akan dihasilkan sel lebih banyak daripada metabolitnya.
- Produk ini dimanfaatkan dalam memproduksi ragi roti.





Kultur Actinomycetes koleksi LIPI

- Culture collection center



MICROBIAL ENZYMES

- Penggunaan enzim mikroba untuk produksi sirup, detergen, keju dan tekstil
- Mengidentifikasi strain bakteri yang dapat menghasilkan enzim melalui mekanisme katalitik maupun fisik
- Seleksi dan mengembangkan strain
- Organisme tersebut termasuk dalam GRAS (generally recognized as safe) list untuk produksi makanan

Tahap seleksi

- Mesophilic microorganism
- Thermophilic microorganism.....lbh stabil???
- Extracellular enzymes
- Intracellular enzymes
- Alkaline environments (alkalophilic)

Pemanfaatan subtilisin pada detergen laundry

- Stabil pada suhu di atas 70 derajat
- Tahan terhadap detergen nonionic
- Aktivitas tinggi pada range pH alkaline (pH 8-11)
- Tdk ada ion logam utk aktivitas katalitiknya
- Tahan terhadap agen pengoksidasi (ex: hypochlorite , perborate) yg digunakan utk bleaching/pemutih

- Subtilisin termasuk enzim proteolitik yg dihasilkan oleh Bacillus
- Merupakan kelompok “serine protease”
- Terdapat 3 residu yg terlibat dalam proses katalisisnya : Ser-221, Asp-32, His-64

Kelemahan subtilisin

- Aktivitas enzimatis menurun oleh adanya perborate pada suhu 60 derajat
- Oksidasi Met-222 (berdekatan sisi aktif dari Ser-221) menjadi sulfoksida hingga menurunkan aktivitasnya hg 90%
- Sangat sensitif dengan hidrogen peroksida

Rekayasa genetik

- Untuk menghindari masalah kerusakan akibat oksidasi dg modifikasi specific site struktur subtilisin
- Met-222 tdk scr langsung terlibat dalam proses katalisis, shg dp dilakukan penggantian residu asam amino tanpa merusak aktivitas enzim
- Ala-222 dapat menahan 53% aktivitas katalitik wild-type enzyme dan tahan dg 1M H₂O₂ selama 1 jam

Rekayasa genetik berkaitan dengan alkaline pH

- Subtilisin BPN' dari *B. amyloliquifaciens* scr normal aktivitasnya menurun pada range pH 9,5-11
- penurunan aktivitas terjadi adanya proses ionisasi oleh 1 atau 2 residu tirosin (Tyr-104 dan Tyr-217) yang merupakan daerah binding substat dengan subtilisin BPN'
- Modifikasi dg mengganti Tyr -104 dengan phenylalanine mell site-specific mutagenesis, scr signifikan meningkatkan aktivitas enzim pada pH tinggi

Polysaccharides and Polyester

- Polisakarida merupakan komponen karbon yg ada di alam
- Poliester (biodegradable polyester, plastik)