



Fermentasi

Marselinus Laga Nur





Fermentasi

- ❖ Proses pembebasan energi tanpa adanya oksigen, nama lainnya adalah **respirasi anaerob** (respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal).
- ❖ Adalah proses enzimatik dimana enzim yang bekerja mungkin sudah dalam keadaan terisolasi
 - Yaitu : terpisah dari selnya atau masih dalam keadaan terikat didalam sel
- ❖ Pada beberapa proses fermentasi yang menggunakan sel mikroba, reaksi enzim mungkin sepenuhnya dalam sel mikroba, karena enzim yang bekerja bersifat intra seluler.



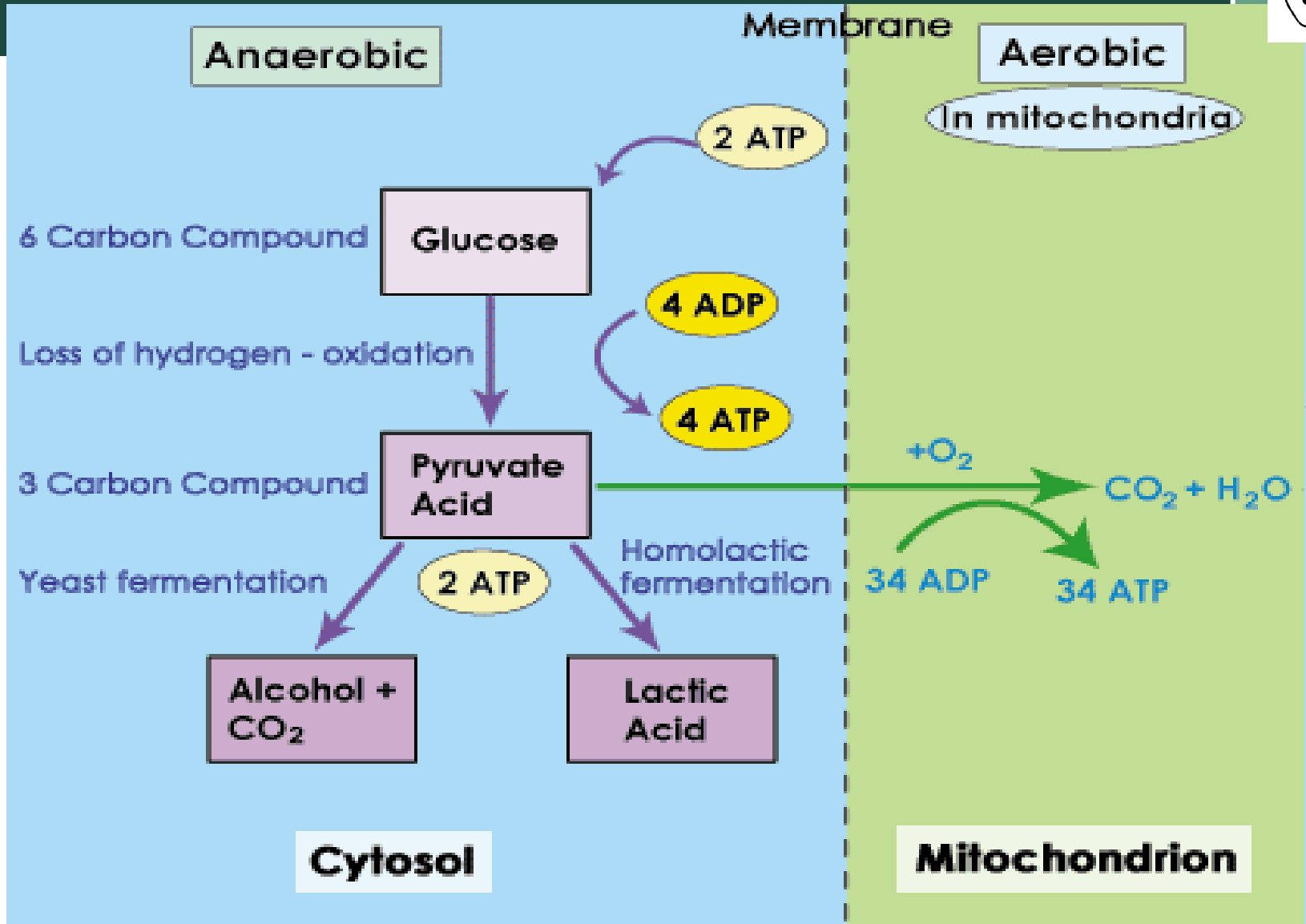
Sumber mikroba

- ❖ Bakteri
- ❖ Fungi
 - Kapang
 - khamir

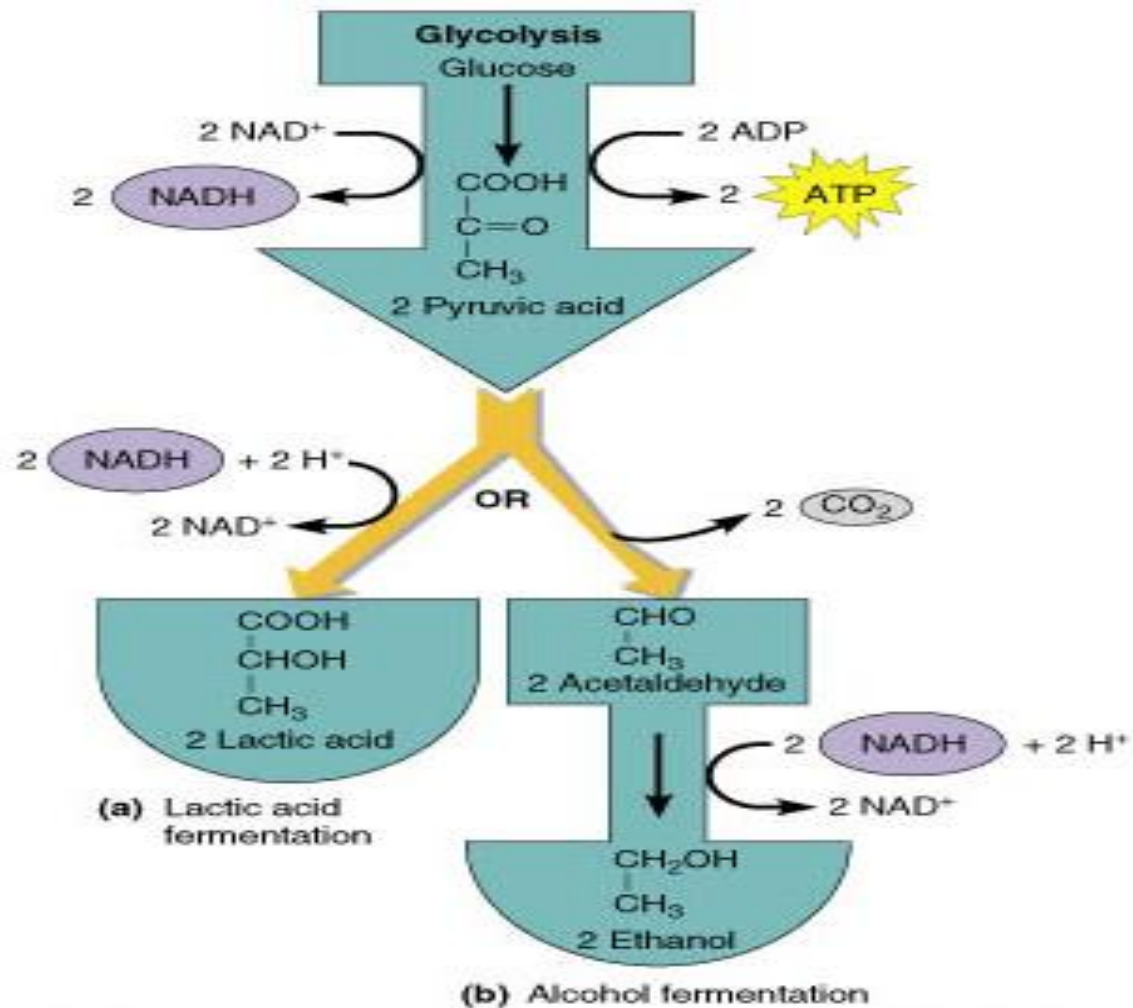
Manfaat mikroba untuk fermentasi



- ❖ 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



FERMENTATION



Menurut Pasteur



- ❖ Keberadaan oksigen akan menghambat jalur fermentasi di dalam sel khamir sehingga sumber karbon yang ada akan digunakan melalui jalur respirasi.
- ❖ Fenomena ini sering disebut sebagai *Pasteur effect* (Walker 1998). Pada sel-sel prokariota dan eukariota, Pasteur effect banyak dijumpai,
 - salah satu contoh adalah fermentasi asam laktat oleh sel otot manusia ketika kekurangan oksigen.



- Berdasarkan fenomena ini, seharusnya produksi ethanol oleh khamir terjadi pada kondisi anaerob. Namun ternyata terjadi dalam proses aerob,
- Pasteur effect pada sel khamir diamati pada sel yang telah memasuki fase stasioner (resting),



- sedangkan produksi alkohol terjadi ketika sel berada pada fase pertumbuhan (fase log) (Alexander & Jeffries 1990).
- Hal inilah yang membuat Pasteur effect diduga bukan fenomena yang terjadi saat produksi ethanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*.



- ❖ Telah lama digunakan dalam industri alkohol dan minuman beralkohol sebab memiliki kemampuan dalam memfermentasi glukosa menjadi ethanol. Hal yang menarik adalah proses fermentasi ethanol pada khamir tersebut berlangsung pada kondisi aerob



❖ Penemuan Herbert Crabtree(1929)

Crabtree menemukan suatu fenomena lain yang terjadi pada sel tumor dimana pada sel tersebut jalur fermentasi dominan terjadi walaupun dalam kondisi aerob (Alexander & Jeffries 1990).

Pada tahun 1948, Swanson dan Clifton pertama kali menunjukkan bahwa fenomena tersebut terjadi pada sel *Saccharomyces cerevisiae* yang sedang tumbuh dan menghasilkan ethanol sebagai produk fermentasi selama terdapat glukosa dalam jumlah tertentu di dalam medium pertumbuhannya (Alexander & Jeffries 1990).



- ❖ Fenomena tersebut awalnya disebut *contre-effect Pasteur* kemudian (de Dekken 1966) menggunakan istilah *Crabtree effect*
- ❖ Walker 1998 menyatakan *Crabtree effect* pada khamir dapat diamati ketika medium pertumbuhan mengandung glukosa dalam konsentrasi yang tinggi (diatas 5 mM)



de Dekken (1966)

- ❖ *Crabtree effect* tidak terjadi pada semua khamir, namun hanya pada beberapa species saja, antara lain : *Saccharomyces cerevisiae*, *S. chevalieri*, *S. italicus*, *S. oviformis*, *S. pasteurianus*, *S. turbidans*, *S. calenbergensis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Debaryomyces globosus*, *Bretanomyces lambicus*, *Torulopsis dattila*, *T. glabrata*, dan *T. colliculosa*.



❖ Terdapat tiga mekanisme yang menjelaskan *Crabtree effect*:

- 1. Represi katabolit;
- 2. Inaktivasi katabolit; dan
- 3. Kapasitas respirasi yang terbatas.



- ❖ Represi katabolit terjadi ketika glukosa (produk awal metabolisme) menekan sintesis berbagai enzim respirasi (Fletcher et al. 1981).
- ❖ Ide awal represi katabolit dicetuskan oleh von Meyenberg pada tahun 1969 (Alexander & Jeffries 1990) yang menumbuhkan *S. cerevisiae* dalam medium yang mengandung glukosa dengan metode continues culture.



Dari metode continues culture diperoleh:

- Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa saat konsentrasi sel rendah, jalur metabolisme yang digunakan adalah respirasi,
- Sedangkan ketika konsentrasi sel telah mencapai suatu angka kritis, terjadi fermentasi ethanol



- ❖ Pada konsentrasi sel yang rendah, enzim-enzim respirasi masih mencukupi untuk melakukan jalur respirasi, namun saat konsentrasi sel bertambah, konsentrasi enzim tidak bertambah (ditekan sintesisnya oleh glukosa), sehingga jalur respirasi terhenti dan digantikan oleh fermentasi.
- ❖ Konsentrasi gula yang tinggi juga akan mengganggu struktur mitokondria khamir,



- ❖ Perubahan struktur tersebut akan menghambat siklus Krebs dan fosforilasi oksidatif yang berlangsung di mitokondria.
- ❖ Namun struktur tersebut akan kembali normal saat jalur respirasi menggantikan fermentasi ethanol (Walker 1998).



Bardford & Hall (1979).

- Kedua peneliti tersebut melakukan penelitian namun tidak dapat membuktikan adanya represi katabolit oleh glukosa.
- Mereka berpendapat bahwa khamir-khamir yang mampu melakukan fermentasi aerob memiliki keterbatasan kapasitas respirasi.



- Ketika glukosa terdapat dalam konsentrasi tinggi, glikolisis akan berjalan dengan cepat sehingga menghasilkan pyruvat dalam jumlah yang tinggi.
- Namun keterbatasan khamir tersebut untuk menggunakan pyruvat dalam jalur respirasi selanjutnya



- Siklus Krebs dan fosforilasi oksidatif menyebabkan pyruvat yang tersisa dirubah secara fermentatif menjadi ethanol.
- Kebalikannya, khamir yang tidak melakukan fermentasi aerob dianggap memiliki kapasitas respirasi yang tidak terbatas sehingga mampu menggunakan seluruh pyruvat yang dihasilkan dari glikolisis walaupun jumlah glukosa di medium tinggi (Alexander & Jeffries 1990).



Contoh produk fermentasi

MAKANAN

Fermentasi Tempe

- ❖ Tempe merupakan hasil fermentasi dari kedelai
- ❖ Menggunakan jamur *Rhizopus oryzae*.
- ❖ Tempe selain dibuat dari kedelai dapat juga dibuat dari berbagai bahan nabati berprotein .
- ❖ Jamur selain berfungsi mengikat/menyatukan biji kedelai sehingga menjadi satu kesatuan produk yang kompak juga menghasilkan berbagai enzim yang dapat meningkatkan nilai cerna tempe saat dikonsumsi.



Fermentasi Tape

- ❖ Tape dibuat dari ubi kayu ataupun beras ketan dan merupakan makanan yang populer di Indonesia dan Malaysia. Dalam pembuatan tape melibatkan tiga kelompok mikroorganisme yaitu
 - *Endomycopsis fibuliger*
 - Mikrobial perombak pati menjadi gula yang menjadikan tape pada awal fermentasi berasa manis.
 - Mikrobial yang banyak dianggap penting dalam proses ini adalah.
 - *Saccharomyces* dan *Candida* :
 - Akan menyebabkan mikrobial yang menggunakan gula sebagai sumber karbon, gula mampu tumbuh dan menghasilkan alkohol. Yang masuk dalam kelompok ini adalah yang menyebabkan tape berubah menjadi alkoholik.
 - *Acetobacter aceti*
 - alkohol juga memacu tumbuhnya bakteri pengoksidasi alkohol yaitu yang mengubah alkohol menjadi asam asetat dan menyebabkan rasa masam pada tape yang dihasilkan.

Fermentasi Keju



- ❖ Keju merupakan hasil fermentasi susu, tetapi dalam proses produksi yang lebih kompleks.
- ❖ Perbedaan bakteri yang berperan menyebabkan waktu fermentasi yang lebih lama dari yogurt.
- ❖ Keju sangat beragam, terdapat lebih dari 20 klas dan ratusan vaietas, namun awal proses nya adalah sama.

Fermentasi Nata deCoco



- ❖ Nata de coco sebenarnya adalah selulosa murni
- ❖ Merupakan produk hasil kegiatan mikroba *Acetobacter xylinum*.
- ❖ Mikroba ini dapat merubah gula menjadi selulosa.
- ❖ Jalinan 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



MINUMAN

Produk beralkohol sangatlah beragam mulai dari pangan hingga energi. produk pangan yang paling lama dikenal adalah wine dan atau 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.yang saja, misal : Pisang maka disebut wine pisang dan sebagainya 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,



- ❖ Pati atau beras ini harus dipecah terlebih dahulu misal menggunakan ragi tape dijadikan tape atau dihidrolisis dengan asam maupun enzim.
- ❖ Bila gula pada buah tadi kurang maka sering ditambahkan gula.
- ❖ Contoh produk yang berasal dari beras ketan (fermentasi) adalah brem bali, sedang yang melalui hidrolisis adalah bio-etanol.

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 – 93⁰C selama 30 – 60 menit (Hal ini akan menyebabkan beberapa protein mengalami pemecahan dan mikrobia kontaminan akan terbunuh).
- ❖ Setelah itu didinginkan pada suhu 45⁰C dan ditambahkan campuran *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dalam perbandingan 1:1.



- ❖ Buah yang baik adalah bila mengandung asam-asam seperti asam tartart, malat dan sitrat.
- ❖ Asam tartart adalah antioksidan dan menghasilkan rasa asam.
- ❖ Asam malat juga dikenal sebagai asam buah terutama pada apel.
- ❖ Asam sitrat adalah pengawet alami dan juga memberi rasa asam.

Khamir



- ❖ Adalah 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 ini diperlukan pula nutrien yang mendukung pertumbuhan khamir, jika tidak tersedia pada bahan baku. Maka bahan yang umum ditambahkan adalah amonium fosfat sebagai sumber nitrogen.



ASAM

Fermentasi Asam Laktat

- ❖ Fermentasi asam laktat banyak terjadi pada susu. Jasada yang paling berperan dalam fermentasi ini adalah *Lacobacillus* sp. Laktosa diubah menjadi asam laktat. Kini asam laktat juga digunakan untuk produksi plastik dalam bentuk PLA

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 perubahan 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.



VITAMIN

Fermentasi Vitamin

- ❖ Vitamin selain dapat diperoleh dari berbagai tumbuhan juga dapat dihasilkan secara fermentasi. Terutama vitamin B.
- ❖ Mikroorganisme yang terlibat dalam produksi vitamin ini adalah kapang
 - askomisetes *Eremothecium ashbyii* dan *Ashbya gossypii*.
 - Kapang (*Candida flaei*, *C. famata*, dsb)
 - Bakteri dapat juga digunakan untuk produksi. Hasil yang dicapai dapat lebih dari 20 g riboflavin per liter kultur cair yang dilakukan secara steril dan kondisi aerob dengan medium yang mengandung **molase** atau **minyak tumbuhan** sebagai sumber **karbon utama**.



ENZIM

AMILASE

- ❖ Amilase (alfa, beta dan glukoamilase) merupakan enzim yang penting dalam bidang pangan dan bioteknologi.
- ❖ Amilase dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti tanaman, binatang dan mikroorganisme.
- ❖ Saat ini sejumlah enzim amilase telah diproduksi secara komersial.
- ❖ Penggunaan mikroba dianggap lebih prospektif karena mudah tumbuh, cepat menghasilkan dan kondisi lingkungan dapat dikendalikan



Trichoderma dari anggota genus Aspergillus dan Rhizopus

- ❖ Produksi enzim amilase dapat menggunakan berbagai sumber karbon. Sumber karbon yang murah adalah sekam, molase, tepung jagung, jagung, limbah tapioka dan sebagainya.
- ❖ Jika digunakan limbah sebagai substrat, maka limbah tadi dapat diperkaya nutrisinya untuk mengoptimalkan produksi enzim.



- ❖ Sumber karbon yang dapat digunakan sebagai suplemen antara lain : pati, sukrosa, laktosa, maltosa, dekstrosa, fruktosa, dan glukosa.
- ❖ Sumber nitrogen sebagai suplemen antara lain: pepton, tripton, ekstrak daging, ekstrak khamir, amonium sulfat, tepung kedelai, urea dan natrium nitrat.
- ❖ Sumber enzim kasar dapat diukur aktivitas enzimnya dengan cara campur enzim dengan larutan soluble starch 1% dalam bufer sodium asetat 0,1 M (pH 6,0) pada suhu 50°C selama 5 menit.
- ❖ Ukur glukosa yang dihasilkan.



Contoh Produk Alkohol

ALKOHOL

Fermentasi Alkohol

- ❖ Mikroorganismen yang terlibat adalah : Khamir dari genus *Saccharomyces* sp.
- ❖ *Saccharomyces* yang paling banyak digunakan adalah *S. cerevisiae* dan *S. carlbergensis*.
- ❖ 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.



LOVASTATIN

- ❖ Lovastatin adalah suatu 'pro-drug', yang memiliki arti penting secara medis sebagai zat penurun kadar kolesterol darah dan diindikasikan berguna untuk mengurangi resiko arteriosklerosis.
- ❖ Biosintesis lovastatin dapat dilakukan melalui fermentasi cair terhadap jamur *Aspergillus terreus* dengan tersedianya sumber karbon yang cukup dan kondisi proses yang terjaga pada agitasi 150 rpm dan suhu 28 °C.
- ❖ Produk dipanen setelah 6 hari fermentasi dan selanjutnya diekstraksi untuk memperoleh lovastatin murni.



- ❖ Mikroorganismen yang digunakan adalah Jamur *Aspergillus terreus* ATCC 20542.
- ❖ Profil pertumbuhan sel *Aspergillus terreus* selama waktu fermentasi dapat dinyatakan sebagai
- ❖ Media fermentasi cair steril terdiri dari Laktosa 9 g; pepton 0.6 g; corn steep liquor 1 g; gliserol 3 g; susu skim 0.42 g; tepung jagung (dalam beberapa konsentrasi) dan aquades. pH media diatur sebesar 6.8 dengan penambahan NaOH 1.125 N atau HCl 25 %, lalu media disterilisasipada 121 °C selama 15 menit.



- ❖ Produksi metabolit sekunder dari *Aspergillus terreus* dilakukan melalui metode fermentasi kultur curah atau media cair dengan melakukan peragaman konsentrasi tepung jagung yaitu : 2.5, 5 , 7.5, 10, dan 12.5 %.
- ❖ Inokulum 10 % dengan usia 30 jam diinokulasikan ke dalam tabung Erlenmeyer 500 mL yang berisi 100 mL media fermentasi cair steril
- ❖ Biakan dikocok dengan pengocok orbital kecepatan 150 rpm, suhu 28 °C selama 144 jam (atau 6 hari).