

# PENGGANDAAN SKALA KULTIVASI CURAH PADA PRODUKSI ENZIM $\alpha$ -AMILASE DARI *Aspergillus niger*

Rini Purnawati

Email: purnawati.rini@gmail.com

## Abstract

*Laboratory-scale translation to the pilot or industrial scale in bioindustry requires a precise based on of calculations. The objective of this research is to study the scaling up of  $\alpha$ -amylase enzyme production from *Aspergillus niger*, with high activity using tapioca media as a carbon source. Scaling up from laboratory to pilot plant scale was done using two methods, constant agitation power per unit volume ( $Pg/V$ ) and constant oxygen transfer coefficient ( $k_{LA}$ ). The results showed that the enzyme activity produced of  $k_{LA}$  based product with the value of 205.52 units was higher than enzyme activity of  $Pg/V$  based product with the value of 152,11 units. Decreasing starch as a substrate in method  $k_{LA}$  based (56,37%) was higher than method  $Pg/V$  based (1,79%). Constant  $k_{LA}$  method was suggested as a based on the scaling up of  $\alpha$ -amylase enzymes on industrial scale.*

**Keywords :**  $\alpha$ -amilase, *Aspergillus niger*,  $k_{LA}$ ,  $Pg/V$ , scale-up

## 1 Pendahuluan

Enzim  $\alpha$ -amilase secara luas dimanfaatkan dalam industri makanan dan minuman, industri kertas, industri tekstil, industri detergen, bioetanol, pengolahan limbah cair. Kebutuhan enzim  $\alpha$ -amilase sangat besar, tetapi selama ini masih impor. Penelitian tentang enzim  $\alpha$ -amilase telah banyak dilakukan di Indonesia, tetapi pada umumnya masih pada skala laboratorium. Sehingga belum bisa dimanfaatkan untuk dikomersialkan. Hasil penelitian di laboratorium akan menjadi lebih bermanfaat bila dilakukan pengembangan menjadi skala pilot lalu dilanjutkan lagi menjadi industri. Hal ini akan memberi manfaat secara finansial, karna hasil penelitian dilaboratorium dapat dijadikan produk yang dapat dikomersialkan. Oleh sebab itu perlu dikaji teknik penggandaan skala yang tepat. Pada produksi enzim  $\alpha$ -amilase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger*, untuk meningkatkan skalanya perlu memperhatikan beberapa faktor yang berhubungan dengan kesesuaian untuk hidup dan berproduksi pada *Aspergillus niger*.

Pada penggandaan skala, harus diusahakan kondisi lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan mikroba dalam memproduksi enzim  $\alpha$ -amilase. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan adalah dengan menggunakan parameter-parameter optimal yang

diperoleh dari penelitian skala laboratorium, yang meliputi rasio C/N, pH awal kultur, suhu proses, kecepatan agitasi dan aerasi. Umumnya penggandaan skala akan menyebabkan berubahnya faktor-faktor lingkungan fisik. Oleh karena itu harus dipilih patokan penggandaan skala yang sesuai. Patokan penggandaan skala yang dapat dipilih diantaranya adalah, masukan tenaga per unit volume ( $Pg/V$ ), tetapan perpindahan oksigen ( $k_{La}$ ), kecepatan ujung impeler ( $\pi ND$ ), waktu pencampuran seimbang, bilangan Reynold, faktor-faktor momentum dan pengendalian umpan balik (Wang *et al.* 1978).

Beberapa patokan penggandaan skala yang paling banyak digunakan oleh industri diantaranya adalah masukan tenaga per unit volume ( $Pg/V$ ) dan tetapan perpindahan oksigen ( $k_{La}$ ). Diasumsikan bahwa dengan efisiensi aerasi yang sama akan diperoleh rendemen produk yang sama baik pada skala kecil maupun skala besar. Masalah utama yang dijumpai pada penggandaan skala adalah berubahnya faktor-faktor lingkungan fisik, seperti perpindahan massa, kemampuan pencampuran, penyebaran tenaga dan laju geser. Oleh karena itu perlu dipilih patokan penggandaan skala yang sesuai, agar kondisi optimum kultivasi pada skala yang lebih besar dapat terpenuhi.

Penelitian ini bertujuan mencari metoda yang paling cocok untuk teknik penggandaan skala produksi enzim  $\alpha$ -amilase dengan mendapatkan basis penggandaan dari bioreaktor skala 2 liter ke 40 liter pada kultivasi secara curah enzim  $\alpha$ -amilase dari *Aspergillus niger* dengan menggunakan substrat tapioka.

## **2 Bahan dan Metode**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat lokal *Aspergillus niger*. Media inokulum *A. niger* menggunakan *Potato dextrose agar*. Media pertumbuhan terdiri dari 0,2 %  $K_2HPO_4$ , 0,1 %  $MgSO_4$ , 0,05% KCl, 0,003 %  $FeSO_4$ , 0,08 %  $(NH_4)_2SO_4$ , 0,01 %  $CaCl_2$ , 0,5 % pepton, 0,5 % pati dan akuades. Bahan untuk analisis terdiri dari Iodium 0,2%, Amilum 0,1%, glukosa dan larutan DNS. Peralatan yang digunakan Bioreaktor 2 liter, dan bioreaktor 40 liter, neraca analitik, autoklaf, inkubator shaker, *waterbath*, pH meter, *vortex*, *magnetic stirrer*, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, jarum ose dan alat-alat gelas lain seperti tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, batang pegaduk, serta pemanas bunsen

## **2.1 Uji Sifat Amilolitik *Aspergillus niger***

Kapang amilolitik merupakan mikroorganisme yang mampu memecah pati menjadi menjadi senyawa yang lebih sederhana, terutama dalam bentuk glukosa. Isolat *Aspergillus niger* diuji kemampuan untuk menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase. Pengujian pembentukan zona bening dari isolat digunakan iodium sebagai pengikat pati pada media sehingga jelas dapat dibedakan antara zona bening yang terbentuk dengan area yang masih tersisa patinya. Isolat kapang diinokulasikan ke dalam media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Kultur lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Visualisasi zona bening dilakukan dengan larutan iodium dan ditunggu 15 menit untuk pengamatan zona bening (Fossi et al. 1995)

## **2.2 Persiapan Medium Fermentasi**

Media Inokulum dan fermentasi yang digunakan terdiri dari 0,2 %  $K_2HPO_4$ , 0,1 %  $MgSO_4$ , 0,05 % KCl, 0,003 %  $FeSO_4$ , 0,08 %  $(NH_4)_2SO_4$ , 0,01 %  $CaCl_2$ , 0,5 % pepton, 0,5 % pati. Medium tersebut dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7. Biakan *A. niger* dari media PDA diambil dengan menggunakan kawat ose lalu dicelupkan beberapa saat pada media cair hingga tampak keruh. Media cair ditutup dengan sumbat dan diinkubasi pada suhu ruang  $\pm 30^\circ C$  selama 24 jam. Pekerjaan ini dilakukan di ruang aseptik.

Produksi enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan memindahkan secara aseptis 150 mL (10% dari total volume media fermentasi) ke dalam media pertumbuhan yang komposisinya sama dengan media inokulum. Selanjutnya media fermentasi yang telah berisi 10% medium inokulum diinkubasi pada suhu ruang menggunakan bioreaktor 2 L dengan kecepatan 250 rpm selama 48 Jam.

## **2.3 Penggandaan Skala Produksi $\alpha$ -amilase**

Ketersediaan oksigen sangat berpengaruh pada pertumbuhan *A. niger*. Parameter penting yang berpengaruh pada ketersediaan oksigen di dalam media adalah koefisien perpindahan volumetric ( $k_{La}$ ) dan kebutuhan tenaga perunit volume ( $P_g/V$ ) (Demand an Davies 1999). Perhitungan penggandaan skala memerlukan data ciri reologi cairan fermentasi dan spesifikasi fermentor yang digunakan. Spesifikasi bioreaktor yang digunakan yakni tipe pengaduk, jumlah pengaduk (N), diameter pengaduk (DJ), jumlah

baji (blade = Nb), tinggi fermentor (Ht), diameter tangki (Dt), dan volume tangki fermentor (Vt). Dari perhitungan ini dapat diperoleh nilai aerasi dan agitasi sesuai patokan penggandaan skala.

**Menentukan Ciri Reologi Cairan Fermentasi (Stanburry dan Whitaker 1984)**

Densitas cairan kultivasi ditentukan dengan piknometer dan viskositas cairan kultivasi diukur menggunakan alat *Brookfield viscosimeter* pada laju putar 6, 12, 30, dan 60 rpm menggunakan spindel no. 2.

**2.3.1 Kebutuhan Tenaga per unit Volume (Pg/V)**

Nilai tenaga per skala produksi, diasumsikan bahwa dengan efisiensi aerasi yang sama akan diperoleh rendemen produk yang sama baik pada skala kecil maupun skala besar. (Banks dalam Wiseman 1979) Konsumsi tenaga per satuan volume cairan fermentasi di dalam tangki fermentor (Pg/V) adalah:

$$Pg/V = N^3 D^2 \dots\dots\dots(1)$$

Pg = Konsumsi tenaga, V = Volume cairan fermentasi, N = Laju sirkulasi cairan fermentasi, D = Diameter pengaduk.

Penentuan kebutuhan tenaga untuk pengadukan cairan fermentasi dalam bioreaktor tanki teraduk dapat diketahui terlebih dahulu menghitung bilangan Reynolds dan tenaga (Np). Nilai Np dapat diketahui dari hubungan antara bilangan Reynolds pada berbagai jenis pengaduk dengan Np. Bilangan Reynolds ditentukan menggunakan persamaan untuk non-Newtonian (Wang et al., 1979; Yang et al., 2016). Bilangan Reynolds (NRe) ditentukan dengan persamaan berikut:

$$N_{Re} = (N_1 D_1^2 \rho) / \mu_a \dots\dots\dots(2)$$

N1 = kecepatan stirer, D1 = diameter impeller, ρ =densitas, dan μa = viskositas.

Menurut Chhabra et al. (2001) jika hasil perhitungan bilangan Reynolds:

- Nilai NRe > 103 menunjukkan aliran turbulen.
- Nilai 102 < NRe > 103 menunjukkan aliran transition.
- Nilai < 102 menunjukkan aliran laminer.

Bilangan power ( $N_p$ ) ditentukan dengan cara memplotkan  $N_{Re}$  pada kurva fungsi power versus  $N_{re}$  untuk *six bladed turbin impeller*. Konsumsi tenaga yang dibutuhkan ditentukan dengan persamaan:

$$P = (\rho N^3 D_I^5 N_P) / g_c \dots\dots\dots(3)$$

di mana: P = tenaga yang dibutuhkan,  $N_p$  = Bilangan power,  $g_c$  = grafitasi = 981 cm/ det<sup>2</sup>

Menggunakan six bladed disc turbin impeller menurut Wang et al. (1979) diperoleh persamaan:

$$(D_i/D_t)^* = 3 \text{ dan } (H_i/D_i)^* = 3 \dots\dots\dots(4)$$

$$\text{Faktor koreksi} = [ \{ (D_i/D_t) \times (H_i/D_i) \} / \{ (D_i/D_t)^* \times (H_i/D_i)^* \} ]^{0,5} \dots\dots\dots(5)$$

$$\text{Dengan demikian tenaga terkoreksi} = P \times FK \dots\dots\dots(6)$$

Koreksi terhadap penurunan tenaga pengadukan karena adanya aerasi menggunakan bilangan aerasi ( $N_a$ ), yaitu kecepatan aliran udara (F) pada tanki bioreaktor kemudian dibagi dengan kecepatan ujung pengaduk.

$$N_a = (F/D_i) / (N D_i) = F/ N D_i^3 \dots\dots\dots(7)$$

Dari hubungan antara perbandingan tenaga pengadukan pada sistem beraerasi dan tanpa aerasi ( $P_g/P$ ) dengan bilangan Aerasi ( $N_a$ ) pada berbagai impeller diperoleh nilai  $P_g/P^*$ . Tenaga untuk sistem beraerasi adalah  $P_g$ , sehingga diperoleh nilai  $P_g/V$ , yaitu tenaga per unit volume.

**Penentuan Tenaga Eksternal Agitator (P) Bioreaktor**

$$P = (\rho N^3 D_I^5 N_P) / g_c \dots\dots\dots(8)$$

Tenaga terkoreksi dengan standar impeler ( $P^*$ )

$$(P^*) = P \times FK \dots\dots\dots(9)$$

$$P_g/P^* = \{ (P_g/V) \times V \} / P \dots\dots\dots(10)$$

Dari kurva hubungan antara perbandingan tenaga pengadukan pada sistem beraerasi dan tanpa aerasi ( $P_g/P$ ) dengan bilangan aerasi ( $N_a$ ) pada berbagai tipe pengaduk akan diperoleh nilai  $N_a$ .

Penentuan laju aerasi (F):

$$N_a = F / N (D)^3 \dots\dots\dots(11)$$

$$F = (N_a) (N) (D)^3 \dots\dots\dots(12)$$

### 2.3.2 Penentuan Nilai Koefisien Transfer Oksigen ( $k_{La}$ )

Pengukuran nilai  $k_{La}$  dilakukan pada kultivasi produksi  $\alpha$ -amilase menggunakan bioreactor 2 liter. Pengukuran oksigen terlarut dilakukan menggunakan electrode oksigen. Metode ini didasarkan pada neraca oksigen dinamis (Scragg 1991) dalam biakan curah, yaitu mula-mula aerasi dihentikan yang akan menyebabkan tegangan oksigen terlarut atau DOT (Dissolved Oxygen Tension) menurun oleh adanya respirasi sel. Selanjutnya aerasi dijalankan kembali sebelum mencapai DOT kritis, sehingga DOT akan meningkat. Nilai  $k_{La}$  ditentukan dengan menggunakan rumus (1)

$$C_L = C^* - \frac{1}{k_{La}} \left( Q_{O_2} X + \frac{dC_L}{dt} \right) \dots\dots\dots(13)$$

$k_{La}$  = Koefisien pindah massa didasarkan pada fase cair ( $\text{jam}^{-1}$ ),  $Q_{O_2}$  = Konsumsi oksigen per unit massa sel ( $\text{mM O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ),  $X$  = Massa sel (g),  $C_L$  = Konsentrasi oksigen terlarut aktual pada pbase cair ( $\text{mM L}^{-1}$ ),  $C^*$  = Konsentrasi oksigen terlarut pada fase gas dalam kesetimbangan dengan tekanan partial oksigen ( $\text{mM L}^{-1}$ ),  $t$  = Waktu (jam).

### 2.3.3 Aktivitas Enzim $\alpha$ -amilase (Metode Mandels)

Metode ini didasarkan atas glukosa yang terbentuk. Sebanyak 0,5 mL enzim, 0,5 mL larutan pati 0,1% dicampur lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 60°C, kemudian ditambahkan 2 mL pereaksi DNS (dinitrosalisilic acid) dan dididihkan selama 5 menit pada penangas air dan selanjutnya didinginkan. Diukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis pada  $\lambda$  510 nm. Kadar glukosa yang terbentuk ditentukan dengan menggunakan kurva standar glukosa.

### **2.3.4 Kadar Pati Sisa**

Jumlah substrat sisa yang dihitung dalam analisis ini adalah jumlah pati yang tersisa dalam cairan kultivasi. Metoda yang digunakan untuk penetapan pati sisa adalah metoda Iod.

#### **Kurva standard**

Kurva standar dibuat larutan yang mengandung 0,01 - 0,03 persen pati, dipanaskan pada suhu 80 °C sampai larut dan diambil 1 ml, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,1 ml larutan Iod 0,2 persen dan 3 ml akuades. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan *spectrofotometer* dengan panjang gelombang 660nm. Kurva standar dibuat dengan memplot data absorbansi terhadap konsentrasi pati.

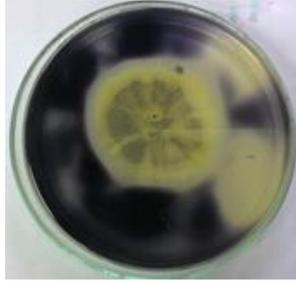
#### **Penetapan contoh**

Sebanyak 1 ml contoh dimasukkan ke dalam labu 50 ml lalu ditambahkan akuades, kemudian dipanaskan pada suhu 80 °C setelah pati larut, dinginkan larutan selanjutnya ditera dengan akuades kemudian diambil 1 ml dan ditambahkan 0,1 ml larutan Iod 0,2 persen dan 3 ml akuades kemudian dilakukan pengocokan terhadap larutan tersebut. Setelah dingin dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan *spectrofotometer* dengan panjang gelombang 660 nm. Konsentrasi pati dalam contoh dihitung dengan bantuan persamaan regresi dari kurva standar.

## **3 Hasil dan Pembahasan**

### **3.1 Sifat Amilolitik *Aspergillus niger***

Kemampuan untuk menghidrolisis amilum menjadi glukosa, maltosa, dan dekstrin karena mempunyai enzim amylase. Hasil pengujian isolat *Aspergillus niger* yang digunakan mampu membentuk zona bening di sekitar koloni (Gambar 1).



Gambar 1. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni *A. niger*

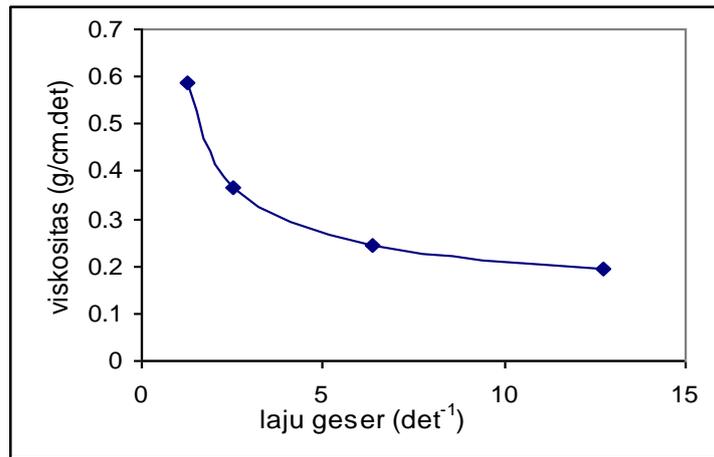
Zona bening menunjukkan hidrolisis pati oleh enzim amilase ekstraseluler yang dihasilkan kapang. Pati yang tidak terhidrolisis tampak berwarna biru setelah bereaksi dengan larutan Lugol. Hal ini menunjukkan *A. niger* yang akan digunakan mempunyai sifat amilolitik, sehingga dapat digunakan untuk produksi enzim  $\alpha$ -amilase

### **3.2 Pengandaan Skala Produksi $\alpha$ -amilase**

Berdasarkan hasil penelitian tahap sebelumnya, yaitu hasil yang optimum pada proses kultivasi enzim  $\alpha$ -amilase dirancang suatu prosedur/metode untuk skala pilot. Rancangan tersebut bertujuan memberikan kondisi kultivasi yang optimum, sehingga selanjutnya dapat digunakan untuk rancang bangun alat dan proses produksi skala industri. Perhitungan pengandaan skala memerlukan data ciri reologi cairan kultivasi dan spesifikasi fermentor yang digunakan

#### **Reologi Cairan kultivasi**

Pada cairan Newtonian, viskositas tidak berubah pada laju geser yang bervariasi, juga viskositas tidak berubah jika suhu tetap. Hasil pengamatan menunjukkan viskositas cairan fermentasi menurun dengan bertambahnya laju geser (*shear rate*), ditunjukkan pada Gambar 2. Hal ini memperlihatkan gejala yang berbeda dengan cairan Newtonian, maka cairan kultivasi tersebut bersifat non-Newtonian.



Gambar 2. Hubungan laju geser dengan viskositas

### Spesifikasi Fermentor

Spesifikasi Fermentor skala laboratorium dan skala pilot yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Spesifikasi Fermentor volume 2 liter dan 40 liter

No.	Rincian	Fermentor 2 L	Fermentor 40 L
1.	Tipe impeller	Turbin pipih	Turbin pipih
2.	Jumlah impeller ( $N_i$ )	1	1
3.	Jumlah baji ( $N_b$ )	1	2
4.	Tinggi fermentor ( $H_t$ )	0,185 m	0,600 m
5.	Tinggi cairan ( $H_L$ )	0,130 m	0,450 m
6.	Diameter impeller ( $D_i$ )	0,070 m	0,100 m
7.	Diameter tanki ( $D_t$ )	0,130 m	0,300 m
8.	Volume media ( $V$ )	1,5 L	30 L
9.	Densitas media ( $\rho$ )	1,0067 gr/ml	1,0067 gr/ml
10.	Kecepatan aerasi ( $V_s$ )	2 vvm	
11.	Kecepatan agitasi ( $N$ )	250 rpm = 4,17 rps	

#### 3.2.1 Kebutuhan Tenaga per unit Volume (Pg/V)

##### Fermentor 2 liter

Persamaan bilangan Reynold untuk cairan non-Newtonian menurut Humby *et al.* (1992) adalah:

$$N_{Re} = (N_i D_i^2 \rho) / \mu_s$$

$$= (1 \times 0,07^2 \times 1006,7) / 2 = 34,98$$

Dari grafik hubungan  $N_{Re}$  dengan  $N_p$  diperoleh nilai  $N_p = 4$

$$P = (\rho N^3 D_i^5 N_p) / g_c$$

Dari hasil perhitungan tersebut maka konsumsi tenaga yang dibutuhkan fermentor untuk menggerakkan impeller adalah  $0,05 \text{ kg.m/det} = 6,67 \times 10^{-4} \text{ HP}$ .

Tenaga terkoreksi menggunakan *six bladed disc turbin impeller* (Wang et al., 1979) adalah:

$$(D_i/D_t)^* = 3 \text{ dan } (H_i/D_i)^* = 3$$

Faktor koreksi ( $f_k$ ) adalah:

$$[\{(D_i/D_t) \times (H_i/D_i)\} / \{(D_i/D_t)^* \times (H_i/D_i)^*\}]^{0,5}$$

Dari data fermentor diperoleh faktor koreksi ( $f_k$ ) = 0,33, maka tenaga terkoreksi adalah:

$$P \times f_k = 6,67 \times 10^{-4} \times 0,33 = 2,2 \times 10^{-4} \text{ HP}$$

Koreksi terhadap penurunan tenaga pengadukan karena adanya aerasi menggunakan bilangan aerasi ( $N_a$ ), yaitu kecepatan aliran udara ( $F$ ) pada tanki fermentor dan dibagi dengan kecepatan ujung pengaduk:

$$N_a = (F/D_i) / (N D_i) = F / N D_i^3 = 2,3 \times 10^2$$

Dari grafik hubungan antara perbandingan tenaga pengadukan pada sistem beraerasi dan tanpa aerasi ( $P_g/P$ ) dengan bilangan aerasi ( $N_a$ ) pada berbagai impeller maka diperoleh nilai  $P_g/P^* = 0,82$ . Tenaga untuk sistem beraerasi adalah  $P_g$ , sehingga diperoleh nilai  $P_g/V$ , yaitu tenaga per unit volume. Tenaga untuk sistem beraerasi ( $P_g$ ):

$$= 0,82 \times P \text{ terkoreksi}$$

$$= 0,82 \times 2,2 \times 10^{-4} \text{ HP} = 1,8 \times 10^{-4} \text{ HP}$$

Tenaga per unit volume ( $P_g/V$ ):

$$= 1,8 \times 10^{-4} \text{ HP} / 1,5 \times 10^{-3} \text{ m}^3 = 0,12 \text{ HP/ m}^3$$

### **Penggandaan Skala ke Fermentor 40 liter**

Penentuan Agitasi

$$(N_1)^3 (D_{i1})^2 = (N_2)^3 (D_{i2})^2$$

$$(250)^3 (0,07)^2 = (N_2)^3 (0,1)^2$$

$$N_2 = 197 \text{ rpm}$$

Dengan demikian kecepatan agitasi adalah  $197 \text{ rpm} = 3,28 \text{ rps}$

Penentuan Tenaga Eksternal Agitator ( $P$ ) fermentor

Dengan asumsi power number tetap 4 maka:

$$P = (\rho N^3 D_1^5 N_p) / g_c$$

$$= (1006,7) (3,28)^3 (0,1)^5 4 / 9,81 = 0,145 \text{ kg.m/det} = 1,94 \times 10^{-3} \text{ HP}$$

Faktor koreksi (fk) adalah:

$$[\{(D_i/D_t) \times (H_L/D_i)\} / \{(D_i/D_t)^* \times (H_i/D_i)^*\}]^{0,5}$$

$$[\{(0,1/0,3) \times (0,45/0,1)\} / \{3 \times 3\}]^{0,5} = 0,41$$

Tenaga terkoreksi dengan standar impeler (P\*)

$$(P^*) = P \times f_k$$

$$= 1,94 \times 10^{-3} \times 0,41 = 7,92 \times 10^{-4} \text{ HP}$$

$$P_g/P^* = \{(P_g/V) \times V\} / P$$

$$= (0,12) (0,03) / 7,92 \times 10^{-4} = 0,45$$

Dari grafik hubungan  $P_g/P$  dengan  $Na$  diperoleh  $Na$  adalah  $12 \times 10^{-2}$

Penentuan laju aerasi F

$$Na = F/N \times D_i^3$$

$$F = Na \times N \times D_i^3 = 12 \times 10^{-2} \times 197 \times 0,1^3 = 2,36 \times 10^{-2}$$

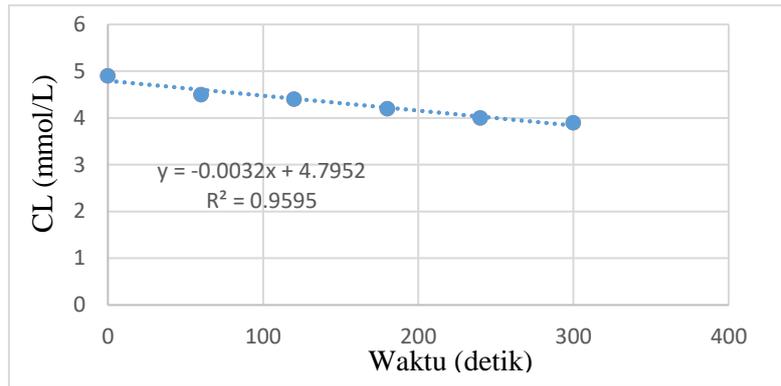
$$\text{Laju aerasi} = F/V = 2,36 \times 10^{-2} / 0,03 = 0,8 \text{ vvm}$$

Dari perhitungan tersebut pada fermentor 40 liter, diketahui tenaga per unit volume ( $P_g/V$ ) = 0,12 HP/m<sup>3</sup>. Penggandaan skala berdasarkan  $P_g/V$  tetap menghasilkan laju aerasi 0,8 vvm dan kecepatan agitasi 197 rpm.

### 3.2.2 Nilai Koefisien Transfer Oksigen ( $k_{LA}$ )

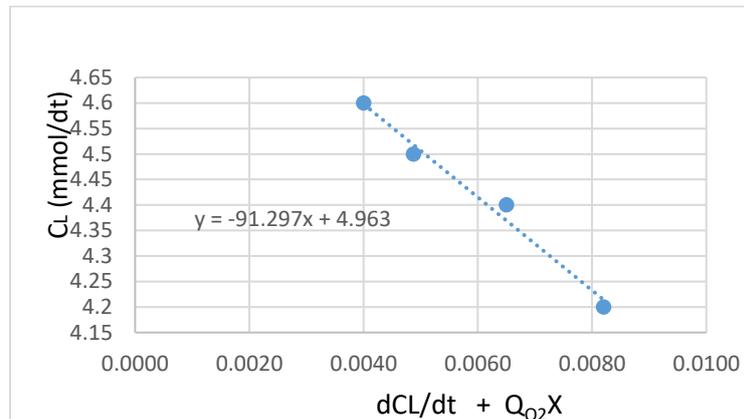
Koefisien transfer oksigen ( $k_{LA}$ ) menggambarkan laju perpindahan gas oksigen melewati luas antar permukaan gas ke cairan dan antara cairan ke sel mikroorganisme dalam kondisi tunak, per unit volume kultur.

Pengaluran persamaan  $dC_L/dt = - Q_{O_2}X$  disajikan pada Gambar 4.



Gambar 3. Kurva hubungan antara oksigen terlarut ( $C_L$ ) dengan waktu

Kemiringan kurva merupakan nilai  $(-Q_{O_2}X)$ , sehingga diperoleh nilai  $-Q_{O_2}X = 0,0032$ . Berdasarkan persamaan :  $dC_L/dt = k_{LA}(C^* - C) - Q_{O_2}X$  diperoleh kurva seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva hubungan oksigen terlarut ( $C_L$ ) dengan  $dC_L/dt + Q_{O_2}X$

kemiringan kurva merupakan nilai  $(-1/k_{LA})$ , sehingga diperoleh nilai  $k_{LA}$  sebesar  $91,297 \text{ detik}^{-1}$ .

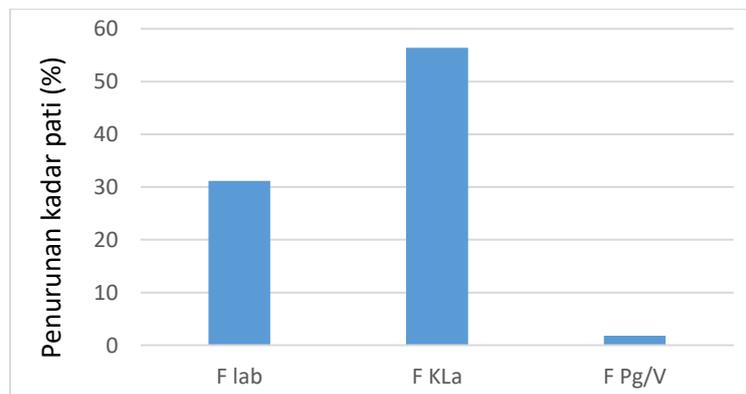
### 3.3 Verifikasi Produksi Enzim $\alpha$ -amilase

Produksi  $\alpha$ -amilase dilakukan di dalam bioreaktor berkapasitas 2 liter dengan volume kerja 1,5 liter, menggunakan substrat 0,5 % pati tapioka dan penambahan mineral 0,2 %  $K_2HPO_4$ , 0,1 %  $MgSO_4$ , 0,05%  $KCl$ , 0,003 %  $FeSO_4$ , 0,08 %  $(NH_4)_2SO_4$ , 0,01 %  $CaCl_2$ , 0,5 % pepton, Kondisi kultivasi adalah nilai pH awal medium sebesar 7, suhu proses  $30-32^\circ C$ , jumlah inokulum 10 persen (v/v), kecepatan agitasi 250 rpm, laju aerasi 2,0 vvm dan kultivasi dilakukan selama 48 jam.

### 3.3.1 Total Pati Sisa

Selama fermentasi berlangsung, sel akan mengkonversi substrat sumber karbon menjadi biomassa dan produk. Menurut Omemu (2005). menyatakan bahwa galur *A. niger* memiliki enzim amilase. Enzim tersebut digunakan untuk memecah pati menjadi gula sederhana. Hal ini menyebabkan pati terhidrolisis menjadi gula-gula sederhana yang menyusunnya. Gula sederhana yang dihasilkan digunakan untuk pertumbuhan dan pembentukan produk.

Menurut Somaatmadja (1981), Pati sebagai sumber karbon utama akan dikonsumsi oleh mikroba sebagai sumber energi untuk proses metabolisme pertumbuhannya. Hal ini ditandai dengan berkurangnya konsentrasi substrat sumber karbon selama kultivasi berlangsung. Dalam penelitian ini, tapioka yang berfungsi sebagai media sumber karbon mengalami penurunan kadar pati akibat adanya konversi pati menjadi biomassa dan enzim. Berkurangnya konsentrasi pati sebagai substrat pertumbuhan *A. niger* diperlihatkan oleh Gambar 5. Pada gambar tersebut menunjukkan penurunan kadar pati. Penggandaan skala menggunakan basis  $K_{La}$  tetap memperlihatkan penurunan kadar pati lebih tinggi dari basis Pg/V tetap. Menunjukkan dengan  $K_{La}$  tetap *A. niger* menguraikan pati lebih baik, berarti aktivitas enzim bekerja lebih baik pada kondisi tersebut.

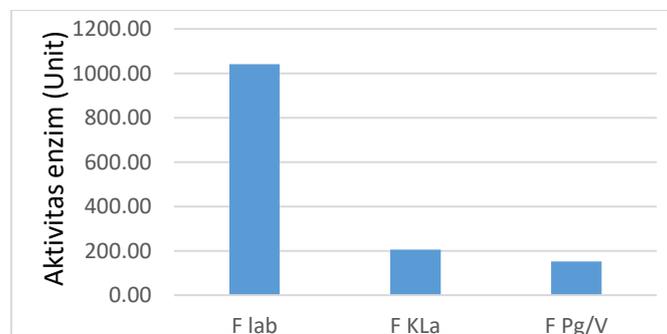


Gambar 5. Persentase penurunan kadar pati pada kultivasi skala Lab., skala pilot basis  $K_{La}$  dan Pg/V

### 3.3.2 Aktivitas Enzim $\alpha$ -amilase

Amilase adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis dari alpha-1,4-glikosidik polisakarida untuk menghasilkan dekstrin, oligosakarida, maltosa, dan D-glukosa. (Wang, 2009).

Mekanisme kerja enzim  $\alpha$ -amilase terdiri dari dua tahap, yaitu : tahap pertama degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat. Tahap kedua terjadi pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir dan tidak acak. Keduanya merupakan kerja enzim  $\alpha$ -amilase pada molekul amilosa. Pada molekul amilopektin kerja  $\alpha$ -amilase akan menghasilkan glukosa, maltosa dan satu seri  $\alpha$ -limit dekstrin, serta oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih glukosa yang mengandung ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosidik (Winarno, 2010). Kemampuan mengurai pati menjadi gula-gula sederhana menunjukkan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi. Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang dihasilkan diperlihatkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Aktivitas enzim hasil kultivasi skala Lab. Skala pilot basis  $K_{La}$  dan  $Pg/V$

#### 4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil percobaan dengan skala 2 liter (laboratorium) diperoleh nilai koefisien laju transfer oksigen volumetrik ( $k_{La}$ ) sebesar  $91,297 \text{ detik}^{-1}$ . Sedangkan berdasarkan perhitungan diperoleh tenaga per satuan volume ( $Pg/V$ ) yang dibutuhkan sebesar  $0,12 \text{ HP/m}^3$ . Penurunan kadar pati basis  $K_{La}$  lebih tinggi dari basis  $Pg/V$  dan aktivitas enzim yang dihasilkan pada basis  $K_{La}$  lebih tinggi dari basis  $Pg/V$ . Hasil percobaan penggandaan skala dari skala 2 L menjadi 40 L menunjukkan penggandaan skala dengan basis  $k_{La}$  hasilnya lebih baik dari basis  $Pg/V$ , maka  $k_{La}$  dipilih sebagai basis metode penggandaan skala untuk produksi enzim  $\alpha$ -amilase skala industri.

## 5 Daftar Pustaka

- [1] Ariandi. 2016. Pengenalan enzim amylase (Alpha-Amylase) dan reaksi enzimatisnya menghidrolisis amilosa pati menjadi glukosa., *J. Dinamika*. 07(1): 74-82.
- [2] Banks GT. 1979. Scale-Up of Fermentation Processes. Di dalam Wiseman, A. *Topics in Enzyme Technology* vol. 3. New York: John Wiley and Sons.
- [3] Chhabra, R.P., J. Comiti and I. Machac. 2001. *Flow of non-Newtonian fluids in fixed and fluidised beds*. *Chemical Engineering Science* 56 (1) : 1-27.
- [4] Darwis AA dan Sukara E. 1990. *Teknologi Mikrobial*. Bogor: Lembaga Sumberdaya Informasi. Institut Pertanian Bogor.
- [5] Demain AL, Davies JE. 1999. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Edisi ke-2. Washington DC: ASM Pr. him 236-239.
- [6] Felix Garcia-Ochoa, Emilio Gomez..2008. Bioreactor Scale-up and Oxygen Transfer Rate in Microbial Process: An Overview. *Biotechnology Advances* , pp. 155-157.
- [7] Fossi, BT., Tavea, F., dan Ndjouenkeu R, 1995. *Production and Partial Characterization of a Tehermostable Amylase from Ascomycetes Yeast Strain Isolated from Starchy Soils African J. of Biotechnology* Vol 4 (1):14-18.
- [8] Hicks, P. 2010, Jun. Importance of Mixing in Scale-up Comparing Lab and Large Scale. Retrieved August 1, (2010), from Chemical Research, Development and Scale-up: <http://blog.autochem.mt.com/> Scragg AH. 1991. *Bioreactor in Biotechnology A Practical Approach*. New York: Ellis Horword.
- [9] Omemu, A. M. ,Akpan, I, Bankole, M. O. and Teniola, O. D. 2005. *Hydrolysis of raw tuber starches by amylase of Aspergillus niger AM07 isolated from the soil*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (1), pp.19-25.
- [10] Stanburry P.F., Whitaker A. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. New York: Pergamon Pr.

- [11] Wang DIC, Cooney CL, Demain AL, Dunnill P, Humprey AE dan Lilly MD. 1978. Fermentation and Enzyme Technology. New York: John Wiley and Sons.
- [12] Wang, Nam Sun. 2009. *Experiment no. 5: Starch Hydrolysis by Amylase*. Department of Chemical & Biomolecular Engineering. University of Maryland.
- [13] Winarno, F. G. 2010. *Enzim Pangan*. Bogor: M-Brio Press.
- [14] Tatterson, G. B. (2002). *Process Scaleup and Design*. Gary Tatterson