

12

BULETIN TEKNOLOGI & INDUSTRI PANGAN



Volume XI Nomor 2 Tahun 2000

ISSN 0216-2318
Terakreditasi
Nomor: III/DIKTI/Kep/1998



Volume XI No.2
2000
Library Collection

PUBLIKASI RESMI
PERHIMPUNAN AHLI TEKNOLOGI PANGAN INDONESIA (PATPI)
bekerjasama dengan
JURUSAN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Penanggung Jawab

Ketua Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi,
Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
(Dr. Ir. Purwiyatno Hariyadi, MSc.)

Ketua Dewan Redaksi

Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, M. Agr.

Anggota Dewan Redaksi

Prof. Dr. Ir. Maggy T. Suhartono
Dr. Ir. Made Astawan., MS.
Dr. Ir. Ratih Dewanti-Hariyadi, MSc.
Dr. Ir. Adil Basuki Ahza, MSc.
Dr. Ir. Fransisca Zakaria, MSc.
Dr. Ir. Dahrul Syah, MSc.
Dr. Ir. Nurheni S. Palupi, MS

Produksi dan Lay-out

Ir. Sutrisno Koswara, MSi
Ina Herlina

Distribusi, Promosi dan Iklan

Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, M. Agr.
Eko Hari Purnomo, S.T.P

Keuangan

Ir. Hanifah Nuryani. Lioe

Nara Sumber

Prof. Dr. Ir. Betty S. L. Jernie, MS

Buletin Teknologi dan Industri Pangan

adalah Buletin resmi Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) yang diterbitkan bekerjasama dengan Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Kotak Pos 220, ((0251) 620069-626725 Fax. (0251) 626725 Bogor 16002. Korespondensi, termasuk pengiriman artikel, promosi dan iklan, dapat menghubungi alamat tersebut. Pada penerbitan berikutnya Buletin ini akan berubah namanya menjadi Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan

Buletin Teknologi dan Industri Pangan

terbit 2 kali setahun, mempublikasikan hasil-hasil penelitian dalam bidang ilmu dan teknologi pangan, meliputi penelitian di bidang penanganan pasca panen hasil pertanian, serta pangan dan gizi. Juga menginformasikan berbagai paket industri, ulasan ilmiah, komunikasi singkat dan informasi lain dalam perkembangan teknologi dan industri pangan.

Buletin Teknologi dan Industri Pangan

menerima tulisan, artikel & ulasan ilmiah dari anggota PATPI, promosi dan iklan. Iklan dapat berupa produk baru, rancangan proses dan peralatan, serta pelayanan dan jasa yang akan menarik minat para peneliti di lembaga-lembaga pemerintah maupun para pakar teknologi pangan di industri. Copy promosi dan iklan harus diterima paling lambat 5 minggu sebelum penerbitan. Informasi mengenai biaya dan pemasangan promosi iklan dapat diperoleh langsung dari sekretariat Buletin Teknologi dan Industri Pangan, Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Kampus IPB Darmaga Po Box 220, Telp.(0251) 620069-626725 Fax. (0251) 626725
e-mail : Que-ftsp@indo.net.id. Bogor 16002

J.B.1.a.2.b.2

Artikel-artikel yang dipublikasikan dalam Buletin edisi ini telah ditelaah oleh tim Reviewer :

Dr. Ir. Dondin Sayuthi, *Jurusan Kimia*, FMIPA-IPB

Prof. Dr. Ir. Soewarno, T. Soekarto, *Pengolahan Pangan*, TPG-FATETA-IPB

Dr. Ir. Sri Budiarti, *Jurusan Biologi*, FMIPA-IPB

Dr. Ir. Purwiyatno Hariyadi, *Pengolahan Pangan*, TPG-FATETA-IPB

Dr. Ir. Sri Widowati, *Balitbio*

Dr. Ir. Budiatman Satiawihardja, *Mikrobiologi Pangan*, TPG-FATETA-IPB

Dr. Ir. Suminar Achmadi, *Jurusan Kimia*, FMIPA-IPB

Dr. Ir. Sugiyono, *Industri Pangan*, TPG-FATETA-IPB

Ir. Rudy R. Nitibaskara, *Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan*, FAPRIKAN-IPB

ISI

Hasil Penelitian

- 1 **Pengaruh Penambahan Antibiotika Pada Biosintesis L-Lisin oleh *Brevibacterium Lactofermentum* BL-1M76 di Dalam Medium Molase** (The Effect of Antibiotic Addition to L-Lysine Biosynthesis by *Brevibacterium Lactofermentum* BL-1M76 in Molasses Medium)
Budiatman Satiawihardja
- 10 **Pengaruh Jenis Kapang dan Lama Fermentasi Terhadap Mutu Ikan Kayu (*Katsuobushi*) Cakalang** (Effect of Fungi and Fermentation Periode on The Quality of Dried Fish Stick (*Katsuobushi*))
Giyatmi, Jamal Basal, C. Hanny Wijaya, dan Srikandi Fardiaz
- 21 **Intervensi Sayur Buah Pembawa Vitamin C dan Vitamin E Untuk Meningkatkan Sistim Imun Populasi Buruh Pabrik di Bogor** (Intervention with Local Vegetables and Fruits Containing Vitamin C and E Improves the Immune System of Industry Workes in Bogor)
Fransiska R. Zakaria, Bus Irawan, Siti M. Pramudya, dan Sanjaya
- 28 **Hubungan Antara Sifat Fisik Dan Gelombang Ultrasonik Durian Utuh dengan Sifat Fisiko Kimia Daging Durian** (Relationship Between Ultrasonic Wave of Durian With Physico Chemical Properties of Durian's Pulp)
Bambang Haryanto, I Wayan Budiastra, dan Amoranto Trisnobudi
- 33 **Penentuan Umur Simpan Produk Ekstrusi dari Hasil Samping Penggilingan Padi (Menir dan Bekatul) dengan Menggunakan Metode Konvensional, Kinetika Arrhenius dan Sorpsi Isothermis** (Shelf-Life Determination of Extruded Snack Food of Rice Milling by Products Using Conventional Arrhenius Kinetics and Sorpsi Isothermis Methods)
Joko Hermanianto, Muhammad Arpah, dan Wijaya Kusuma Jati,
- 42 **Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak** (Antimicrobial Activity of Industrial Traditional Seasonings on the Pathogenic and Food Spoilage Bacteria)
Winiati Pudji Rahayu
- 49 **Studi Stabilitas Minyak Kapang *Mucor inaequisporus* M05 II/4 Kaya Asam Gamma Linolenat Selama Penyimpanan** (Storage Stability of Oil of *Mucor inaequisporus* M05 II/4 Rich in Gamma Linolenic Acid)
Slamet Budijanto, Lilis Nuraida, dan Andries Susanto

Komunikasi Singkat

- 55 **Informasi Seminar dan Pameran**
- 57 **Penjelasan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 69 Tahun 1999 Tentang Label dan Iklan Pangan**

PENGARUH PENAMBAHAN ANTIBIOTIKA PADA BIOSINTESIS L-LISIN OLEH *BREVIBACTERIUM LACTOFERMENTUM* BL-1M76 DI DALAM MEDIUM MOLASE

(THE EFFECT OF ANTIBIOTIC ADDITION TO L-LYSINE BIOSYNTHESIS BY
BREVIBACTERIUM LACTOFERMENTUM BL-1M 76 IN MOLASSES MEDIUM)

Budiatman Satiawihardja¹

¹Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB
Kotak Pos 220 Kampus IPB Darmaga, Bogor 16002

ABSTRACT

Two kinds of antibiotics, penicillin G and polymixin B sulphate, were used to affect the biosynthesis of L-Lysine by *Brevibacterium lactofermentum* BL-1M76 in molasses medium. Selection of appropriate antibiotic concentrations was carried out in two basal media (glucose and molasses media) in 250 ml Erlenmeyer flasks containing 25 ml medium. The antibiotic concentrations examined ranged from 100-6000 units/l. The most suitable antibiotic (penicillin G) and the most appropriate concentration (100 units/l) was applied to the scaled up process in 21 capacity fermentor (Eylea M-100 fermentor) which resulted in L-lysine production of 35.18 g/l.

PENDAHULUAN

Berbagai penelitian mengenai lisin dan cara produksinya telah banyak dikembangkan begitu pula dengan galur mikroba penghasil lisin. Dari hasil penelitian diketahui *Brevibacterium lactofermentum* BL-1M76 dapat menghasilkan lisin dengan baik menggunakan medium bersumber karbon glukosa (Satiawihardja et al., 1993). Penelitian terus berlanjut untuk mencari alternatif sumber karbon lain seperti molase yang diharapkan dapat menurunkan biaya produksi disamping memanfaatkan limbah yang ada.

Menurut Atlas (1962) kesulitan dalam memproduksi asam amino seperti asam glutamat dan juga asam-asam amino lain melalui fermentasi langsung adalah memperoleh pengeluaran asam amino yang cukup untuk produksi secara komersial. Salah satu pendekatan adalah membuat kebocoran membran sel. Ada beberapa metoda untuk dapat mengakibatkan kebocoran membran sel yang menyebabkan ekskresi produk. Pendekatan pertama adalah pengaturan konsentrasi biotin pada tingkat pertumbuhan suboptimal. Cara lain adalah menambahkan antibiotik penghambat sintesis dinding sel seperti penisilin pada medium sewaktu fase log. Kedua cara ini telah biasa dikerjakan pada fermentasi asam glutamat sehingga produksinya meningkat.

Beberapa pustaka menyebutkan tentang pemakaian antibiotik yang bertujuan untuk meningkatkan produksi asam amino dan protein; diantaranya Rahman (1989) yang menyatakan inhibitor sintesis dinding sel seperti basitrasin dan beta laktam sangat efektif meningkatkan produksi protein. konsentrasi dan saat penambahan antibiotik tersebut merupakan faktor penting.

Kurihara et al. (1972) mengembangkan mutan *Corynebacterium glutamicum* dan *Brevibacterium flavum* yang resisten terhadap penisilin, basitrasin, sikloserin, gramisidin, polimiksin dan nistatin. Mutan-mutan tersebut ternyata menghasilkan lisin dengan konsentrasi 33-52 g per liter.

Beberapa antibiotika dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri yang berakibat mengganggu integritas membran sel sehingga lisin dikeluarkan dari sel. Penambahan berbagai jenis antibiotik seperti penisilin, khloramfenikol, streptomisin, tetrasiklin dan erithromisin telah dipelajari oleh Zaki et al. (1982). Antibiotik-antibiotik itu (pada konsentrasi yang setengah menghambat pertumbuhan sel), ditambahkan saat-saat tertentu selama pertumbuhan mikroba penghasil lisin *Micrococcus glutamicus* B 331. Alternatif saat-saat pertumbuhan itu adalah: pada saat awal pertumbuhan, pada awal fase log dan pada akhir fase log. Yang memberikan hasil terbaik adalah penambahan tetrasiklin yang menghasilkan L-lisin 24 g/l dengan rendemen 0.39 g lisin/g substrat.

Siratsuchi et al. (1995) mengembangkan metode untuk menghasilkan L-lisin dan asam glutamat secara bersama-sama. Mereka menggunakan galur *B. lactofermentum* AJ 12937 dan menambahkan penisilin 6000 unit/liter pada fase log saat fermentasi berlangsung atau ketika OD mencapai 0,7-0,8. Mutan tersebut ternyata menghasilkan L-lisin 75 g/l dan asam glutamat 57 g/l secara bersama-sama. Menurut Marzuki (1997) fase log untuk *B. lactofermentum* BL-1M76 dimulai pada sekitar jam ke-6.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Galur mikroba yang digunakan adalah *Brevibacterium lactofermentum* BL-1M76 (AEC, Ser. FP) berasal dari Culture Collection School of Microbiology, The University of New South Wales, Australia.

Media yang digunakan adalah Nutrien Agar (NA), Nutrien Broth (NB), Medium Kaya (MK), Medium Basal Glukosa, dan Medium Basal Molase.

Antibiotik yang dipakai yaitu Penisilin G dan Polimiksin didapatkan dari SIGMA-Chemical, USA.

Alat utama adalah Fermentor Eyela M-100, buatan Tokyo Rikakikai Co., Ltd. Dengan kapasitas volume 2 liter yang dilengkapi dengan system kontrol pH dan suhu serta pengukur dan pembaca oksigen terlarut.

Pembuatan Medium

Komposisi Medium Kaya terdiri dari glukosa 10 g/l, pepton 10 g/l, ekstrak khamir 10 g/l, dan NaCl 0,25 g/l (Satiawihardja, 1990). Medium Kaya ini dalam penggunaannya ditempatkan dalam Erlenmeyer 250 ml.

Tabel 1. Komposisi medium basal glukosa dan medium basal molase

Bahan	Komposisi Medium Basal (g/l)	
	Glukosa ¹⁾	Molase ²⁾
Glukosa	100	-
Molase(%)	-	20
CaCl ₂ .2H ₂ O	1	1
(NH ₄) ₂ SO ₄	20	20
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,4	-
NaCl	0,05	-
MnSO ₄ .4H ₂ O	0,01	-
FeSO ₄ .4H ₂ O	0,01	-
L-Serin	0,1	0,1
Biotin (µg/l)	500	-
Thiamin.HCl (µg/l)	200	200
Ekstrak kamir	1	1
Pepton	1	1
K ₂ HPO ₄	0,75	0,75
KH ₂ PO ₄	0,75	0,75

¹⁾ Sumber: Satiawihardja (1990)

²⁾ Sumber: Marzuqi (1997)

Medium untuk fermentasi dengan menggunakan labu Erlenmeyer 500 ml, yaitu medium basal glukosa dan basal molase serta inokulum untuk fermentasi dalam fermentor yang dalam hal ini digunakan medium basal glukosa sebelum disterilisasi dilakukan penambahan CaCO₃ sebanyak 1%. Penambahan CaCO₃ bertujuan untuk menjaga kestabilan pH, dengan kata lain CaCO₃ berfungsi sebagai buffer pH. Komposisi dari medium basal glukosa dan basal molase dapat dilihat pada Tabel 1.

Persiapan Inokulum

Percobaan dengan Labu Erlenmeyer

Sebanyak 10 ml MK yang telah ditepatkan pada pH 7 ditempatkan pada Erlenmeyer 250 ml, kemudian diinokulasi dengan koloni bakteri yang berasal dari agar miring NA sebanyak dua ose. Inokulum ini diinkubasi selama 24 jam pada inkubator goyang dengan kecepatan agitasi 150 rpm pada suhu 30°C.

Percobaan dengan Fermentor EYELA M-100

Medium Kaya sebanyak 10 ml yang telah ditepatkan pada pH 7 ditempatkan dalam labu Erlenmeyer 250 ml kemudian diinokulasi dengan koloni bakteri yang berasal dari agar miring sebanyak dua ose. Inokulum ini diinkubasi selama 24 jam pada inkubator goyang dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 30°C. Setelah 24 jam, sejumlah 10 ml inokulum diinokulasikan kedalam Erlenmeyer 500 ml yang berisi medium basal glukosa sebanyak 100 ml. Medium pada inokulum kedua ini sebelumnya telah ditepatkan pHnya pada pH 7 dan ditambahkan CaCO₃ sebanyak 1% dari medium. Inokulum kedua diinkubasi selama 48 jam pada inkubator goyang dengan kecepatan agitasi 150 rpm pada suhu 30°C. Setelah 48 jam maka inokulum siap digunakan untuk fermentasi menggunakan fermentor.

Proses Fermentasi

Fermentasi dalam Labu Erlenmeyer

Sebanyak 5 ml inokulum dari MK diinokulasikan ke dalam medium basal glukosa atau basal molase. Medium basal telah ditepatkan ber pH 7 dan telah diberikan CaCO₃ sebanyak 1% dari volume medium. Kemudian medium yang telah diinokulasi tersebut diinkubasi pada inkubator goyang selama 72 jam dengan kecepatan agitasi 150 rpm pada suhu 30°C. Penambahan antibiotik dengan konsentrasi yang berbeda dilakukan pada jam ke 6 setelah inokulasi dilakukan, sesuai dengan hasil penelitian dari Marzuqi (1997) bahwa jam tersebut merupakan saat dimulainya fase pertumbuhan (fase log) dari bakteri *Brevibacterium lactofermentum* BL-1M76. Penambahan Penisilin G dilakukan pada medium basal glukosa dengan konsentrasi 6000, 1000, 500, 250, 100 dan 50 unit/l, sedangkan pada medium basal molase diberikan konsentrasi 6000, 1000 dan 100 unit/l. Penambahan Polimiksin dilakukan hanya pada medium molase dengan konsentrasi 3000, 100 dan 50 unit/l.

Pengambilan sampel sebanyak 4 ml dilakukan setiap 24 jam sekali yaitu pada jam ke 0, 24, 48, dan 72. Penentuan pengambilan sampel hingga jam ke 72 dikarenakan fermentasi pada skala labu merupakan uji pendahuluan, sehingga dalam waktu 3 hari pun (72 jam) sudah cukup terlihat pengaruh yang ditimbulkan pada hasil lisin yang diperoleh. Pada setiap sampling dilakukan pemeriksaan dan pengaturan terhadap pH agar pertumbuhan bakteri

tetap optimum. Bila pH kurang dari 7 maka dilakukan penambahan NH_4OH 10%.

Fermentasi dalam Fermentor EYELAM-100

Sebanyak 100 ml inokulum diinokulasikan ke dalam fermentor yang berisi medium sebanyak 1,2 liter dan telah diatur kondisi optimumnya yaitu pada pH 7 dan suhu 30°C . Kecepatan agitasi pada 6 jam pertama adalah 300 rpm kemudian ditingkatkan kecepatan agitasinya sampai mencapai 600 rpm secara teratur. Fermentasi dilakukan selama 96 jam. Penentuan pengambilan sampel hingga jam ke 96 pada skala fermentor didasarkan pada perkiraan bahwa dengan jumlah gula awal yang ada pada medium kurang dari 100 g/l, maka setelah 96 jam kemudian glukosa yang ada pada medium sudah sedikit sekali sehingga jika waktu fermentasi diperpanjang, diperkirakan tidak ada peningkatan hasil lisin yang berarti, selain itu dalam segi komersial tidak efisien. Aerasi dilakukan dengan memasukkan udara ke dalam medium melalui penyaring udara dengan diameter 0,2 (m dengan laju 0,5 vvm (volume udara per volume medium per menit). Pengambilan sampel dilakukan 24 jam sekali.

Analisis

Biomassa dengan Metode Oven (AOAC, 1984)

Sebanyak 4 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang telah ditimbang beratnya. Sampel disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang terbentuk digunakan untuk analisis glukosa dan analisis L-lisin. Endapan yang terbentuk dicuci dengan menggunakan HCl 1 N sebanyak 4 ml, untuk melarutkan endapan kimia yang terbentuk. Endapan di dalam HCl 1 N ini divorteks sampai endapan larut/tercuci, kemudian disentrifus kembali pada 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan endapan biomassa tersebut dicuci dengan akuades sebanyak 4 ml dan disentrifus kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama. Endapan akhir yang terbentuk dikeringkan di oven dengan suhu 105°C selama 24 jam, lalu didinginkan di dalam desikator selama 1 jam. Setelah itu biomassa yang terbentuk ditimbang.

Analisis Glukosa dengan Metode DNS (Miller, 1959)

Sebanyak 1 ml sampel diencerkan 100 kali dengan akuades. Diambil 1 ml sampel yang telah diencerkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup. Lalu ditambahkan pada sampel 3 ml pereaksi DNS dan divorteks, kemudian dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100°C . Setelah itu didinginkan. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 640 nm.

Standar glukosa yang dibuat berkisar antara 0,2-1g/l. Blanko dengan menggunakan akuades. Pereaksi DNS dibuat dengan cara mencampurkan asam 3,5-dinitrosalisilat 5 g, fenol 1 ml, natrium sulfat

0,25 g, kalium-natrium tartrat 100 g dan kristal NaOH 5 g, kemudian bahan-bahan dilarutkan dalam labu takar 500 ml dengan akuades.

Analisis L-lisin dengan Metode Ninhydrin Termodifikasi (Chinard, 1952 dan Work, 1957)

Sebanyak 1 ml sampel diencerkan 100 kali dengan akuades. Sebanyak 0,5 ml sampel tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi bertutup. Selanjutnya ditambahkan secara berurutan 0,5 ml asam asetat glasial dan 0,5 ml pereaksi ninhidrin lalu divorteks. Tabung reaksi kemudian dipanaskan di dalam penangas air pada suhu 100°C selama 1 jam lalu didinginkan. Berikutnya ditambahkan 2 ml asam asetat glasial ke dalam tabung dan diaduk dengan vorteks. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 400 nm. Konsentrasi L-lisin dinyatakan sebagai L-lisin.HCl.

Standar L-lisin yang digunakan berkisar antara 20-200mg/l. Blanko dibuat dengan akuades menggantikan sampel lalu diperlakukan sama seperti diatas. Bahan yang digunakan untuk membuat pereaksi ninhidrin adalah 1 g ninhidrin, 24 ml asam asetat glasial, 6 ml asam fosfat 85% (pekat) dan 10 ml akuades.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Konsentrasi Antibiotik

Seleksi Konsentrasi Penisilin G

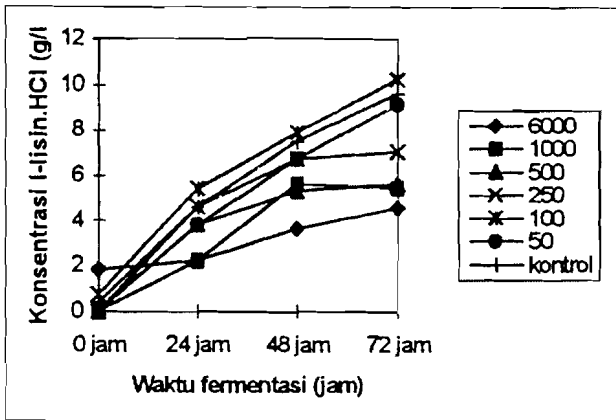
Bakteri *Brevibacterium lactofermentum* BL-1 M76 yang digunakan mempunyai sifat AEC resistan (AEC^r), Serin auksotrof (Ser^r), dan Fluoropiruvat sensitif (FP^s). Ketahanan terhadap penisilin G dan polimiksin belum diketahui pada galur ini, oleh karena itu pada penelitian ini dicari ketahanannya dan sampai pada konsentrasi berapa bakteri tersebut tahan dan sekaligus bekerja pada daerah sub-inhibitor.

Seleksi pada Medium Glukosa Skala Labu

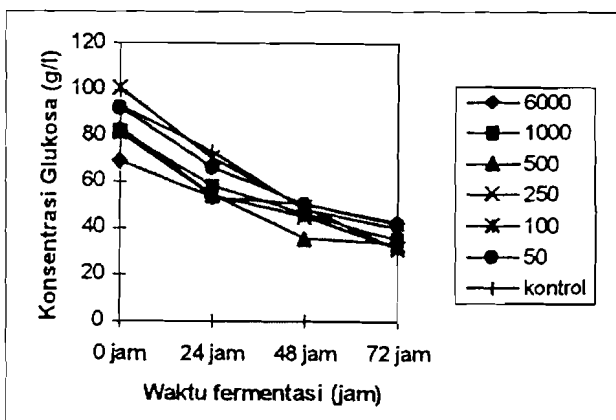
Pada awal penelitian ini, ditambahkan penisilin dengan konsentrasi 6000 u/l. Hasilnya menunjukkan bahwa pada kondisi tersebut dihasilkan L-lisin jauh lebih sedikit dari pada fermentasi tanpa penambahan penisilin, oleh karena itu kemudian digunakan konsentrasi antibiotik yang kurang dari 6000 u/l. Konsentrasi penisilin dan pengaruhnya terhadap produksi l-lisin dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Konsentrasi Penisilin G yang ditambahkan dan l-lisin yang diproduksi oleh galur BL-1M 76 pada fermentasi skala labu di dalam medium basal glukosa selama 72 jam.

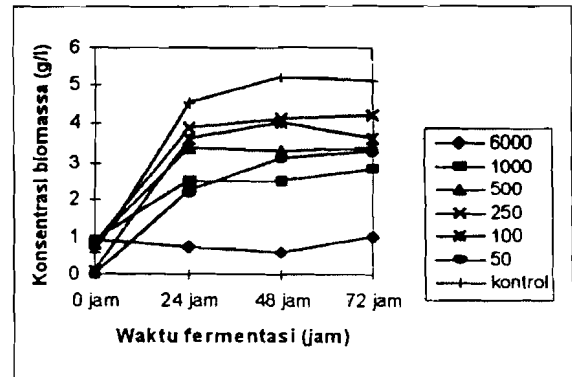
Perlakuan penisilin G (unit/l)	Konsentrasi L-lisin.HCl (g/l)	Konsentrasi Glukosa terkonsumsi (g/l)	Konsentrasi Biomasa (g/l)
6000	4,54	25,46	1,00
1000	5,41	46,86	2,80
500	5,58	49,53	3,40
250	7,04	49,61	4,23
100	10,15	69,18	3,60
50	9,02	50,57	3,30
kontrol	9,55	52,96	5,06



(a)



(b)



(c)

Gambar 1. Frementasi dengan galur BL-1M76 pada medium glukosa dan penambahan penisilin G pada skala Labu; (a) Produksi L-lisin. HCl; (b) Konsumsi Glukosa; (c) Perubahan Biomassa

Pada Tabel 2. Terlihat bahwa penurunan konsentrasi penisilin G yang ditambahkan mulai dari 6000 unit/l sampai pada konsentrasi 100 unit/l produksi lisin cenderung meningkat yaitu 4,54 g/l untuk penambahan penisilin 6000 unit/l dan 10,15 g/l untuk penambahan penisilin 100 u/l, dengan kata lain semakin besar konsentrasi penisilin yang ditambahkan maka produksi lisin semakin menurun. Tetapi untuk penambahan penisilin 50 unit/l dihasilkan produksi lisin dibawah kontrol yaitu 9,02, hal ini menunjukkan kepada konsentrasi tersebut penisilin tidak berpengaruh positif pada produksi lisin.

Pada tabel tersebut juga terlihat bahwa konsentrasi glukosa yang dikonsumsi pada saat fermentasi meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi penisilin G yang ditambahkan. Seperti halnya glukosa dan l-lisin, konsentrasi biomassa pun umumnya memiliki pola produksi yang sama, yaitu semakin besar konsentrasi penisilin G yang ditambahkan maka semakin sedikit biomassa yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena sebagian dari bakteri BL-1M 76 mengalami lisis akibat bereaksi dengan penisilin. Menurut Stanier et al. (1984) pengaruh mematikan penisilin pada pertumbuhan populasi sel prokariota yang mengandung peptidoglikan adalah akibat antibiotik yang mencegah langkah akhir sintesis peptidoglikan: jalinan-silang rantai peptida. Hasilnya adalah menjadi lemahnya tenunan peptidoglikan dalam sel yang sedang tumbuh dan akan mengakibatkan lisis osmotik. Ini berarti bahwa pada konsentrasi penisilin G di atas 100 unit/l, sebagian bakteri mulai mengalami lisis. Pengaruh penisilin pada konsentrasi diatas 100 unit/l tidak hanya pada dinding sel saja tapi juga sudah mempengaruhi metabolisme sel secara keseluruhan. Pada konsentrasi yang tinggi kerusakan dinding sel akan semakin parah dan bakteri akan mati karena tidak adanya pelindung isi sel.

Pada Gambar 1 disajikan gambar perubahan produksi lisin secara bertahap setiap selang waktu 24 jam dari jam ke 0 sampai pada jam ke 72. Pada Gambar (a), secara umum terlihat semua perlakuan menunjukkan peningkatan dan pada konsentrasi 100 unit/l peningkatan terlihat paling baik dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Gambar (b) menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa pada semua perlakuan mengalami penurunan, dan penurunan yang paling banyak ada pada perlakuan dengan penambahan penisilin G 100 unit/l. Sedangkan untuk Gambar (c), terlihat dengan jelas bahwa biomassa terbesar dihasilkan oleh fermentasi tanpa penambahan penisilin G diketahui bahwa BL-1 M76 masih mampu bertahan (resisten) sampai kurang lebih pada konsentrasi 6000 unit/l. Pada konsentrasi 100 unit/l diketahui penisilin berpengaruh positif pada bakteri tersebut sehingga dapat dihasilkan lisin yang lebih besar dari kontrol, meskipun Secara umum dari hasil tersebut dapat perbedaannya tidak terlalu banyak.

Peningkatan ekskresi asam amino akibat penisilin juga dikemukakan oleh Hirose dan Hiroshi (1979), yang menyebutkan keberadaan penisilin pada medium menyebabkan sel yang tumbuh menunjukkan peningkatan permeabilitas terhadap asam amino (asam glutamat). Penisilin tersebut mempunyai efek terhadap bakteri yaitu menghambat sintesis dinding sel yang kemudian membuat membran sel tidak terlindung sehingga rintangan permeabilitas dapat dihilangkan yang menyebabkan terjadinya kerusakan fisik membran sel.

Seperti telah disebutkan diatas konsentrasi penisilin yang ditambahkan berpengaruh pula terhadap jumlah glukosa yang dikonsumsi. Penghambatan yang ditimbulkan penisilin dengan konsentrasi tertentu terhadap sintesis dinding sel menyebabkan sel kurang bisa tumbuh secara normal, ini terlihat dengan adanya penurunan glukosa yang dikonsumsi. Khusus pada konsentrasi 100 unit/l, glukosa yang dikonsumsi relatif lebih besar dari pada kontrol dan demikian juga sintesis lisin. Hal ini dapat dimungkinkan karena kebutuhan glukosa untuk metabolisme bakteri meningkat khususnya dalam sintesis lisin akibat adanya kebocoran dinding sel, tanpa banyak mengganggu metabolisme sel. Kebocoran pada dinding sel juga akan berpengaruh terhadap biomassa yang dihasilkan, karena sintesis peptidoglikan yang mempunyai massa 90% dari massa dinding sel bakteri Gram positif dihambat. Akan tetapi pada konsentrasi penisilin G yang lebih besar dari 100 unit/l, tingkat kebocoran yang terjadi sudah mengganggu pertumbuhan dan metabolisme sel, sehingga menurunkan tingkat konsumsi gula, produksi biomassa dan sintesis lisin.

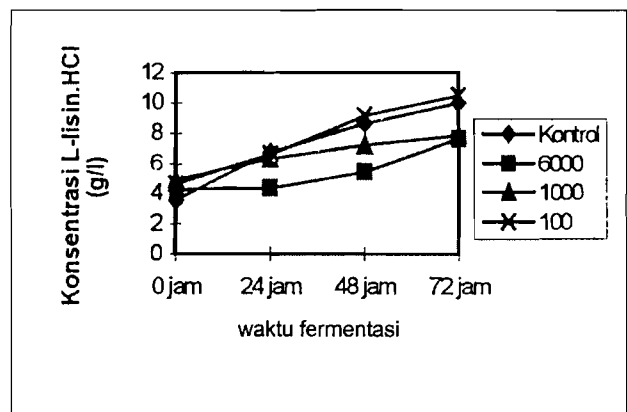
Seleksi pada Medium Molase Skala Labu

Pada penelitian menggunakan medium molase ini dilakukan pula penambahan penisilin G dengan konsentrasi berdasarkan pada hasil percobaan yang dilakukan pada medium glukosa. Konsentrasi yang dipakai yaitu 6000, 1000 dan 100 unit/l, untuk mem-

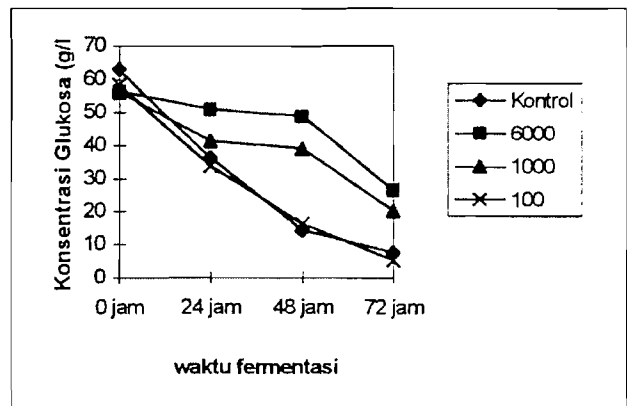
bandingkan secara langsung produksi l-lisin yang dihasilkan oleh masing-masing penisilin yang ditambahkan. Hasil fermentasinya dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Tabel 3. Konsentrasi penisilin G yang ditambahkan dan l-lisin yang diproduksi oleh BL-1M 76 pada fermentasi labu di dalam medium basal molase selama 72 jam.

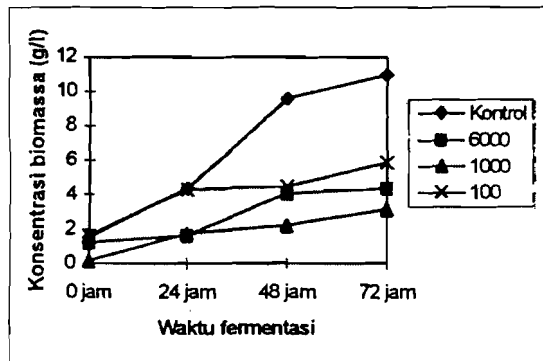
Konsentrasi Penisilin G (unit/l)	Konsentrasi l-Lisin.HCl (g/l)	Konsentrasi Glukosa terkonsumsi (g/l)	Konsentrasi Biomassa (g/l)
kontrol	9,92	55,20	10,90
6000	7,61	29,90	4,26
1000	7,78	35,93	3,78
100	10,43	52,87	5,78



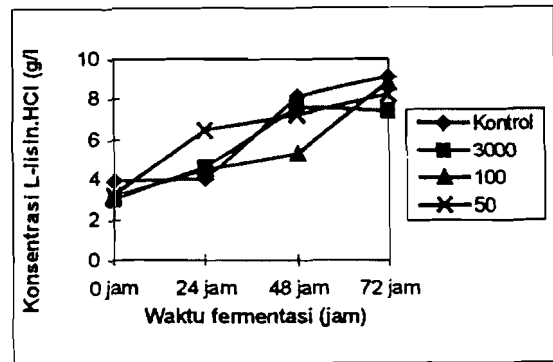
(a)



(b)



(c)



(a)

Gambar 2. Fermentasi dengan galur BL-1M76 pada medium molase dan penambahan penisilin G pada skala labu: (a) produksi L-lisin.HCl; (b) Konsentrasi Glukosa; (c) Perubahan Biomassa

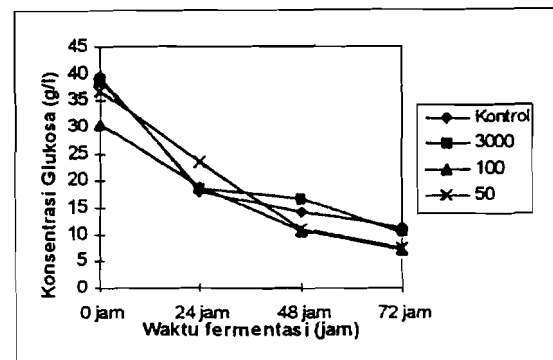
Pada Tabel 3 dan Gambar 2, terlihat bahwa penambahan antibiotik penisilin 100 unit/l menghasilkan l-lisin 10,43 g/l, hasil ini sedikit lebih besar dibandingkan kontrol. Secara umum hasil yang diperoleh pada seleksi konsentrasi penisilin pada medium glukosa tidak berbeda dibandingkan dengan medium molase. Keduanya menunjukkan bahwa penambahan 100 unit/l penisilin menghasilkan l-lisin yang lebih besar dibandingkan kontrol. Oleh karena itu untuk selanjutnya pada skala yang lebih besar digunakan konsentrasi 100 u/l.

Seleksi Konsentrasi Polimiksin B Sulfat

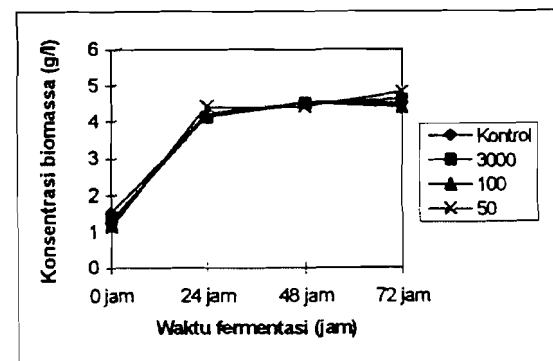
Pada penelitian ini dilakukan juga perlakuan menggunakan antibiotik Polimiksin B sulfat dalam medium molase. Polimiksin diperkirakan dapat mempengaruhi membran sel bakteri. Penentuan konsentrasi awal yang dicobakan didasarkan pada percobaan yang telah dilakukan sebelumnya yaitu penambahan penisilin G dalam medium basal molase. Konsentrasi yang dipakai yaitu 3000, 100, dan 50 unit/l. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 3.

Tabel 4. Konsentrasi Polimiksin B Sulfat yang ditambahkan dan L-lisin yang diproduksi oleh galur BL-1M 76 pada fermentasi labu di dalam medium molase selama 72 jam

Konsentrasi Polimiksin B Sulfat U/l	Konsentrasi l-Lisin.HCl (g/l)	Konsentrasi Glukosa terkonsumsi (g/l)	Konsentrasi Biomassa (g/l)
kontrol	9,89	28,12	4,53
3000	7,44	20,00	4,55
100	8,76	23,31	4,53
50	8,21	29,62	4,75



(b)



(c)

Gambar 3. Fermentasi dengan galur BL-1M76 pada medium molase dan penambahan polimiksin B pada skala labu: (a) Produksi L-lisin; (b) Konsentrasi Glukosa; (c) Perubahan Biomassa

Dari Tabel 4, terlihat bahwa penambahan antibiotik polimiksin tidak berpengaruh pada hasil L-lisin yang dihasilkan. Pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan biomassa antara kontrol dengan perlakuan. Pada Gambar 3 juga jelas terlihat bahwa hasil akhir yang diperoleh (pada jam ke 72) pada masing-masing perlakuan cenderung memiliki hasil yang sama, dan ini

menandakan tidak adanya reaksi yang berarti dari polimiksin yang ditambahkan terhadap galur bakteri yang digunakan. Hasil yang diperoleh dari penelitian dengan polimiksin ini sesuai dengan pernyataan bahwa polimiksin sebagai senyawa amonium-kuartener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat dan fosfolipid membran sel mikroba tetapi polimiksin tidak efektif terhadap bakteri Gram positif karena jumlah fosfor bakteri ini rendah. Bakteri Gram negatif yang resisten terhadap polimiksin, ternyata jumlah fosfornya menurun (Setiabudy, 1993). Oleh karena bakteri yang digunakan pada penelitian ini termasuk dalam kelompok bakteri gram positif maka polimiksin yang dipakai tidak berpengaruh terhadap produksi lisin yang dihasilkan dan dengan ini disimpulkan bahwa antibiotik polimiksin B tidak digunakan pada skala yang lebih besar.

Peningkatan Skala Bioproses dengan Fermentor Eylea M-100

Kondisi selama proses yang dikontrol yaitu pH, buih, laju aliran udara dan kecepatan putaran (rpm). Keasaman (pH) dijaga agar selalu netral (pH=7), pengurangan pH selama proses diatasi dengan penambahan NH₄OH 10% secara otomatis, begitu pula dengan terjadinya buih diatasi dengan penambahan parafin yang dilakukan secara otomatis pula. Untuk aliran udara yang masuk diatur laju aerasinya yaitu sebesar 0,5 vvm, sedangkan laju putaran sebesar 200 rpm untuk 6 jam pertama dan selanjutnya dilakukan peningkatan perputaran menjadi 600 rpm. Proses fermentasi dilakukan selama 96 jam, dengan pengambilan sampel setiap 24 jam sekali secara periodik. Konsentrasi l-lisin yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 5. Profil progres fermentasinya untuk tiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.

Tabel 5. Konsentrasi l-lisin yang dihasilkan oleh galur BL-1M 76 pada fermentor 2 liter dengan menggunakan medium basal molase

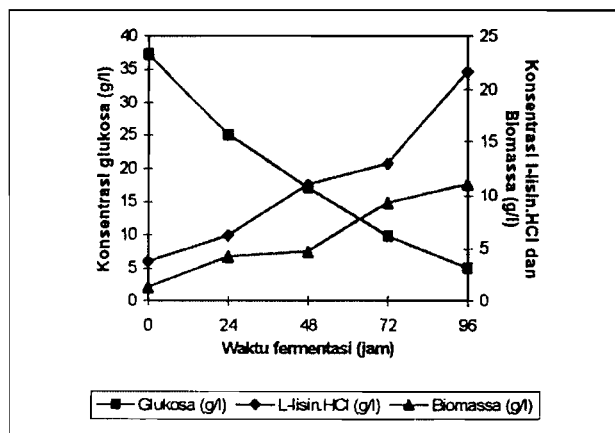
Perlakuan Penambahan Penisilin G	Konsentrasi l-Lisin.HCl (g/l)	Konsentrasi Glukosa terkonsumsi (g/l)	Konsentrasi Biomassa (g/l)
Kontrol	21,66	32,20	11,08
100 unit/l	35,18	52,70	5,08

Pada Tabel 5 terlihat bahwa lisin yang diproduksi pada skala fermentor ini cukup besar dibandingkan dengan lisin yang dihasilkan pada skala labu. Banyak faktor yang mendorong peningkatan hasil ini, selain medium fermentasi dan kultur bakteri yang lebih banyak juga ditunjang oleh kondisi fermentasi yang baik.

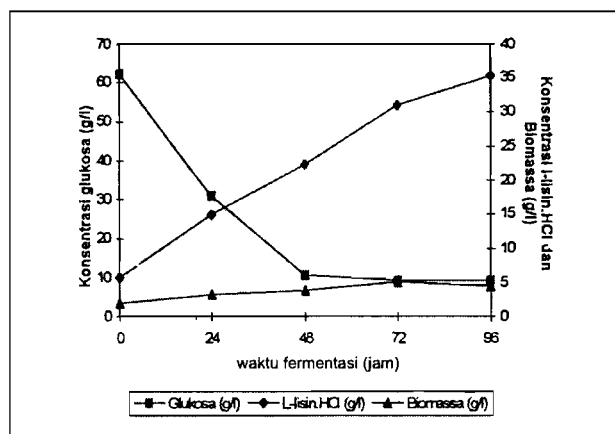
Pada Gambar 4, terlihat bahwa fermentasi tanpa penambahan penisilin G pada skala fermentor, lisin yang dihasilkan dapat mencapai 21 g/l. Terlihat juga penurunan glukosa yang cukup tajam, dan pada jam ke 96 jumlah glukosa yang tersisa sudah sedikit

sekali. Untuk biomassa jumlahnya dapat mencapai lebih dari 10 g/l.

Pada Gambar 5, terlihat bahwa dengan penambahan penisilin G 100 unit/l peningkatan produksi lisin terlihat dengan jelas, hasil yang diperoleh dapat mencapai 35 g/l. Konsentrasi glukosa pun menurun dengan tajam seiring dengan peningkatan lisin. Biomassa yang dihasilkan terlihat lebih sedikit jumlahnya dibandingkan tanpa penambahan penisilin, hal ini menunjukkan akibat langsung pengaruh antibiotik pada sel bakteri.



Gambar 4. Profil bioproses oleh galur BL-1M76 tanpa penambahan antibiotik di dalam medium molase skala fermentor 2 L.



Gambar 5. Profil bioproses oleh galur BL-1M76 dengan penambahan penisilin G 100 unit/l di dalam medium molase skala fermentor 2L.

Perbedaan yang menyolok pada hasil lisin yang diperoleh dapat diakibatkan dari adanya reaksi penisilin G berkonsentrasi 100 unit/l pada bakteri, sehingga bakteri dapat mensintesa lisin lebih banyak. Adanya kerja penisilin G dapat mengakibatkan kebocoran pada dinding sel, bakteri yang meng-

akibatkan lisin mudah dikeluarkan dari dalam sel. Banyaknya glukosa yang digunakan pada fermentasi tersebut berbeda, pada kontrol lebih sedikit daripada fermentasi dengan penambahan penisilin G. Hal ini dapat diakibatkan karena kerja sel yang lebih banyak seperti mensintesa kebutuhan-kebutuhan sel yang sebagian dapat saja keluar akibat adanya kebocoran sel seperti halnya asam amino, menjadikan kebutuhan sel akan energi akan meningkat sehingga kebutuhan akan sumber karbon seperti glukosa amat dibutuhkan.

Peningkatan lisin yang dihasilkan tidak diikuti oleh meningkatnya biomassa. Biomassa yang dihasilkan pada fermentasi menggunakan penisilin G jauh lebih kecil dibandingkan tanpa penambahan penisilin G. Penurunan biomassa merupakan akibat langsung dari terhambatnya sintesis dinding sel yang dalam hal ini komponen terbesarnya adalah peptidoglikan, akan tetapi biomassa tersebut menjadi lebih efektif dalam mengekskresikan lisin.

KESIMPULAN

Dari hasil yang telah diperoleh diketahui bahwa *Brevibacterium lactofermentum* resisten terhadap antibiotik yang ditambahkan (Penisilin G dan Polimiksin B) sampai pada tingkat konsentrasi tertentu, yaitu sampai 6000 unit/l untuk Penisilin G dan 3000 unit/l untuk Polimiksin B. Namun pengaruh yang ditimbulkan terhadap proses biosintesis L-lisin berbeda-beda tergantung pada konsentrasi serta jenis antibiotik yang ditambahkan. Ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi antibiotik (pada kisaran 100-6000 unit/l untuk Penisilin G dan 50-3000 unit/l untuk Polomiksin B) semakin rendah L-lisin yang dihasilkan.

Pemilihan konsentrasi penisilin G yang ditambahkan pada fermentasi L-lisin dengan galur BL-1M76, menunjukkan bahwa 100 unit/l merupakan konsentrasi yang dapat meningkatkan produksi lisin. Hal ini berdasarkan hasil yang diperoleh, yaitu 10,15 g/l dibandingkan dengan 9,55 g/l untuk kontrol pada skala labu.

Meskipun penisilin G dan polimiksin sama-sama merupakan antibiotik namun pengaruh dari penisilin lebih baik dari polimiksin, karena polimiksin B diketahui tidak terlalu berpengaruh pada produksi lisin. Hasil terbesar pada konsentrasi polimiksin 100 unit/l menghasilkan lisin sebesar 8,76 g/l lisin. Penisilin G dipilih sebagai antibiotik yang digunakan dalam skala yang lebih besar.

Penggunaan penisilin G dengan konsentrasi 100 unit/l dengan menggunakan medium molase 20% yang dilakukan pada fermentor EYELA M-100 berskala 2 liter menghasilkan konsentrasi lisin terbaik sebesar 35,18 g/l. Hal ini jauh lebih baik dari pada fermentasi tanpa penambahan penisilin G yang menghasilkan l-lisin hanya sebesar 21,65 g/l.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada anggota Tim Peneliti Hibah Bersaing V Khususnya Dr. Ir. Ratih Dewanti Hariyadi M.Sc dan Dr. Ir. Erliza Noor, serta alumni Jurusan TPG Ir. Mety Susilawati atas kerjasamanya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. Official Standard of Analysis Association of Official Analytical Chemist 14th edn. AOAC Inc., Arlington Virginia.
- Atlas, R.M. 1984. Microbiology: Fundamentals and Application. Macmillan Publ. Co. New York.
- Chinard, F.P. 1952. Photometric estimation of proline and ornithin. J. Biol. Chem. 199: 91-95.
- Hirose, Y. dan Hiroshi, O. 1979. Microbial Production of Amino Acid. Di dalam: Microbial Technology, Microbial Process (Pepler, H.J. dan Perlman, D., ed.). Academic Press Inc. New York.
- Kurihara, S., Araki, K., Akoyama, K. dan Takasawa, Y. 1972. Process for producing L-lysine by fermentation. U.S. Patent No. 3,687,810.
- Marzuqi. 1997. Biosintesis L-lisin Menggunakan Galur Mutan *Brevibacterium lactofermentum* dengan Molase Sebagai Bahan Baku Utama. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Miller. G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428.
- Rahman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Satiawihardja, B., Cail, R.G. dan Rogers, P.L. 1993. Kinetic analysis of L-lysine production by a fluoropyruvate sensitive mutant of *Brevibacterium lactofermentum*. Biotechnol. Letter 15(6): 577-582.
- Setiabudy, R.. 1993. Antimikroba. Di dalam: Farmakologi dan Terapi (Sulistia, G., ed.). Fakultas Kedokteran UI, Jakarta.
- Siratsuchi, M., Kuronuma, H., Kawahara, Y., Yoshihara, Y., Miwa, H. dan Nakamori, S. 1995. Simultaneous and high fermentative production of L-lysine and L-glutamic acid using a strain of *Brevibacterium lactofermentum*. Biosci. Biotech. Biochem. 59(1): 83-86.

Stanier, R.Y., Adelberg, E.A. dan Ingraham, J. 1984. Dunia Mikroba. Bhratara Karya Aksara, Jakarta.

Work, E. 1957. Reaction of ninhydrin in acid solution with straight chain amino acid containing two amino groups and its application to the estimation of α - ϵ -diamino pimelic acid. Biochem. J. 67:416-423.

Zaki, D., Galal, O., Wahba, S.A.E., Marsi, K. dan El-Wakeil, F.A. 1982. Microbiological production of L-lysine. Nutrition Report International, 26: 537-546.