



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**FERMENTASI DEMINERALISASI DAN DEPROTEINISASI  
LIMBAH KULIT UDANG SISTEM *HIGH CELL DENSITY*  
KONTINU MENGGUNAKAN MEMBRAN KERAMIK  
MIKROFILTRASI KAPASITAS BIOREAKTOR 12 L SEBAGAI  
BASIS DESAIN *SCALE UP* PADA BIOREAKTOR 150 L**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik**

**JAYWAINE BARIDWAN ARUAN  
0606076513**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JULI 2010**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar**

**Nama : Jaywaine Baridwan Aruan**

**NPM : 0606076513**

**Tanda Tangan :**

**Tanggal : 7 Juli 2010**

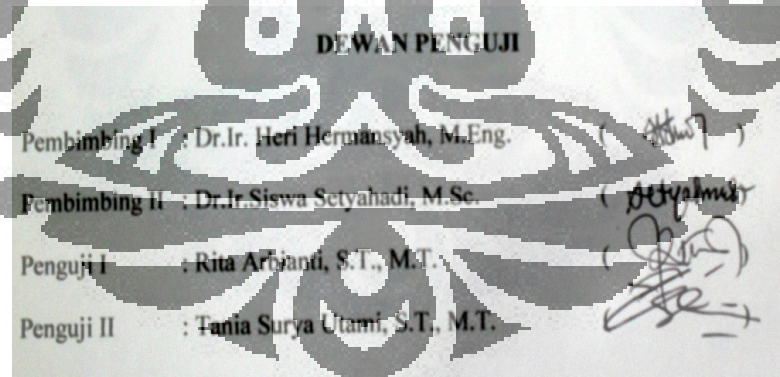


## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Jaywaine Baridwan Aruan  
NPM : 0606076513  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul Skripsi :

Fermentasi Demineralisasi dan Deproteinisasi Limbah Kulit Udang Sistem *High Cell Density* Kontinu Menggunakan Membran Keramik Mikrofiltrasi Kapasitas Bioreaktor 12 L Sebagai Basis Desain *Scale Up* Bioreaktor 150 L

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.**



Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 7 Juli 2010

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus, karena atas berkat dan kasih-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Heri Hermansyah, M.Eng. dan Dr. Ir. Siswa Setyahadi, M.Sc., selaku dosen pembimbing 1 dan 2 yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan serta membantu saya dari segi moral dan material dalam penyusunan skripsi ini;
2. Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA, selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI dan pembimbing akademis saya;
3. Ir. Yuliusman, M.Eng., selaku dosen kordinator mata kuliah skripsi;
4. Orang tua, ibu dan ayah dan adik-adik saya yang telah memberikan bantuan dukungan moral dan material;
5. PT. Wirontono Baru yang telah memberikan bantuan penyediaan bahan baku kulit udang;
6. Deden Rosyid Waltam, MT selaku kepala Laboratorium LTB biokatalis yang telah membimbing tentang kitin sejak seminar;
7. DR. Wahyuntari selaku penanggung jawab laboratorium Fermentasi atas kesediaannya menggunakan lab. tersebut dan bimbingannya;
8. Syaiful Djamil, M.Si. selaku penanggung jawab laboratorium analisa atas kesediaannya menggunakan lab. tersebut dan bimbingannya;
9. Teman saya Fatur Rahman yang telah membantu mengambil limbah kulit udang yang bau dari Kampung Melayu menuju Thamrin, Ancol, Serpong, dan Depok;

10. Mas Dhimas, Outsourcing Lab. Laptiab, yang telah mengajari saya segala sesuatu prosedur yang berhubungan dengan bakteri yang tidak pernah saya dapatkan sebelumnya;
11. Teman satu seminar kitin semester enam Irwan Arisanto atas bahuannya dan bantuannya walaupun judul skripsi yang berbeda dan teman satu perjuangan di riset Bioproses, Diandra, M. Firdaus, Mei Linda, Ponco, Fadli, Angga, Trio dan Tino;
12. Mba Ronnie, Mas Mukti, Mas Ucup, Mas Royid, Mba Widie, Mba Mumu, Mba Lina, Teh Rita, Mba Rini, Mba Enaf, Mba Etty, sesama mahasiswa yang melakukan penelitian dan seluruh personel LAPTIB atas bantuannya selama melakukan penelitian di Serpong;
13. Seluruh teman Teknik Kimia 2006 selama masa kuliah merasakan susah senang, khususnya Revy, Peter, Herman, dan lainnya yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu.

Akhir kata, saya berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, 7 Juli 2010

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jaywaine Baridwan Aruan  
NPM : 0606076513  
Program Studi : Teknik Kimia  
Departemen : Teknik Kimia  
Fakultas : Teknik  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**Fermentasi Demineralisasi dan Deproteinisasi Limbah Kulit Udag Sistem  
*High Cell Density* Kontinu Menggunakan Membran Keramik Mikrofiltrasi  
Kapasitas Bioreaktor 12 L Sebagai Basis Desain *Scale Up* Bioreaktor 150 L**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 7 Juli 2010  
Yang menyatakan



(Jaywaine Baridwan Aruan)

## ABSTRAK

Nama : Jaywaine Baridwan Aruan

Program Studi : Teknik Kimia

Judul : Fermentasi Demineralisasi dan Deproteinisasi Limbah Kulit Udang Sistem *High Cell Density* Kontinu Menggunakan Membran Keramik Mikrofiltrasi Kapasitas Bioreaktor 12 L Sebagai Basis Desain Peningkatan Skala Bioreaktor 150 L

Limbah kulit udang sebagian besar tersusun atas senyawa kitin, mineral dan protein. Kitin memiliki manfaat yang besar di berbagai bidang kehidupan, sehingga perlu diproduksi. Untuk menghasilkan kitin dari limbah kulit udang akan dilakukan proses secara biologi yang ramah lingkungan yaitu penghilangan mineral menggunakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan penghilangan protein menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1. Proses demineralisasi dan deproteinisasi dilakukan secara kontinu pada bioreaktor kapasitas 12 Liter dengan menggunakan membran keramik mikrofiltrasi untuk mendapatkan sistem *high cell density*, sehingga didapatkan kualitas produk yang baik dan waktu yang cepat. Kondisi operasi pada bioreaktor 12 L secara eksperimental akan dijadikan basis desain produksi kapasitas 150 L. Proses fermentasi tersebut menurunkan kandungan mineral hingga 99 % selama 30 jam dengan konversi hasil demineralisasi 63,3% dan protein hingga 99% selama 54 jam dengan konversi hasil deproteinisasi 40% .

Kata kunci: *high cell density, scale up, 12 L, 150 L*

## ABSTRACT

Name : Jaywaine Baridwan Aruan

Study Program : Chemical Engineering

Title : Demineralization and Deproteinization of Shrimp Shell Waste with High Cell Density Continuous Fermentation using Membrane Ceramic Microfiltration in 12 L Bioreactor Capacity as Design Scale Up of 150 L Bioreactor Capacity

Shrimp shell waste mostly composed of chitin, minerals and protein. Chitin has a great benefit in various sector of life, so it needs to be produced. To produce chitin from shrimp shell waste will be conducted in a biological process that is environmentally friendly removal of minerals using the *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 bacteria and removal of proteins using *Bacillus licheniformis* F11.1. The process of demineralization and deproteinization carried out continuously in 12 L bioreactor capacity using ceramic membrane microfiltration to obtain high cell density systems, so that got a good product quality and time is fast. Operating conditions in the 12 L bioreactor capacity experimental design will be used as the basis of production 150 L bioreactor capacity. The fermentation process reduces the mineral content up to 99% during 30 hours with 63.3% conversion of the demineralization and protein up to 99% during 54 hours with 40% conversion deproteinization results.

Keywords: highcell density, scale up, 12 L, 150 L



## DAFTAR ISI

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	v
ABSTRAK .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Ruang Lingkup Penelitian.....	4
1.5. Sistematika Penulisan .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1. Kulit Udag Sebagai Sumber Kitin .....	6
2.2. Potensi Kitin dalam Berbagai Bidang .....	7
2.3. Ekstraksi Kitin .....	11
2.3.1. Proses Demineralisasi.....	11
2.3.2. Proses Deproteinisasi.....	13
2.4. Fermentasi Kontinu <i>High Cell Density</i> Menggunakan Membran Mikrofiltrasi .....	14
2.4.1. Membran Keramik Mikrofiltrasi .....	16
2.4.2. Penentuan Kondisi Fermentasi .....	16
2.5. Design Proses <i>Scale Up</i> .....	18
2.5.1. Variabel Variabel Proses <i>Scale Up</i> .....	19
2.5.2. Kriteria <i>Scale Up</i> .....	23
2.6. Kinetika Reaksi Secara Biologis.....	27
2.7. Neraca Massa .....	29
2.6.1. Neraca Massa Bioreaktor Batch.....	29
2.6.2. Neraca Massa Bioreaktor Kontinu.....	31
2.7. State of The Art Penelitian.....	33
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>38</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	38
3.2. Bahan dan Alat Penelitian Eksperimental pada Bioreaktor 12 L .....	38
3.3. Metode Penelitian Eksperimental pada Bioreaktor 12 L .....	40
3.4. Eksperimen Demineralisasi pada Bioreaktor 12 L .....	40

3.5. Eksperimen Deproteinisasi pada Bioreaktor 12 L .....	42
3.6. Parameter Pengamatan .....	44
3.6.1. Penentuan Kandungan Glukosa dan Asam Laktat .....	44
3.6.2. Penentuan Kandungan Abu Kulit Udang.....	45
3.6.3. Penentuan Kandungan Protein Kulit Udang .....	45
3.6.4. Penentuan Aktivitas Protease.....	47
3.6.5. Penentuan Jumlah Sel Mikroba.....	47
3.7. Metode Penelitian Proses Scale Up .....	48
3.3. Desain Scale Up .....	49
3.5. Kinetika Proses Demineralisasi .....	50
3.6. Kinetika Proses Deproteinisasi.....	54
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>59</b>
4.1. Fermentasi Demineralisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> Pada Bioreaktor 12 L.....	59
4.2. Fermentasi Deproteinisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> Pada Bioreaktor 12 L.....	66
4.3. Design <i>Scale Up</i> Bioreaktor 150 L.....	71
4.3.1. Pengaruh Design Geometri <i>Scale Up</i> 150 L Bioreaktor Demineralisasi dan Deproteinisasi .....	74
4.3.2. Design Kondisi Operasi Bioreaktor <i>Scale Up</i> 150 L.....	76
4.4. Design <i>Scale Up</i> Membran Keramik Mikrofiltrasi.....	77
4.5. Prediksi Model Kinetika.....	79
4.5.1. Model Kinetika Demineralisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> .....	79
4.5.2. Prediksi Proses Demineralisasi pada Bioreaktor 150 L.....	83
4.5.3. Kinetika Deproteinisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> .....	83
4.5.4. Prediksi Proses Deproteinisasi pada Bioreaktor 150 L.....	86
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>88</b>
5.1. Kesimpulan.....	88
5.2. Saran.....	91
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>92</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>96</b>

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	v
ABSTRAK .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Ruang Lingkup Penelitian .....	4
1.5. Sistematika Penulisan .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1. Kulit Udang Sebagai Sumber Kitin .....	6
2.2. Potensi Kitin dalam Berbagai Bidang .....	7
2.3. Ekstraksi Kitin .....	11
2.3.1. Proses Demineralisasi.....	11
2.3.2. Proses Deproteinisasi.....	13
2.4. Fermentasi Kontinu <i>High Cell Density</i> Menggunakan Membran Mikrofiltrasi .....	14
2.4.1. Membran Keramik Mikrofiltrasi .....	16
2.4.2. Penentuan Kondisi Fermentasi .....	16
2.5. Design Proses <i>Scale Up</i> .....	18
2.5.1. Variabel Variabel Proses <i>Scale Up</i> .....	19
2.5.2. Kriteria <i>Scale Up</i> .....	23
2.6. Kinetika Reaksi Secara Biologis.....	27
2.7. Neraca Massa .....	29
2.6.1. Neraca Massa Bioreaktor Batch.....	29
2.6.2. Neraca Massa Bioreaktor Kontinu.....	31
2.7. State of The Art Penelitian.....	33
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>38</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	38
3.2. Bahan dan Alat Penelitian Eksperimental pada Bioreaktor 12 L .....	38
3.3. Metode Penelitian Eksperimental pada Bioreaktor 12 L .....	40
3.4. Eksperimen Demineralisasi pada Bioreaktor 12 L .....	40
3.5. Eksperimen Deproteinisasi pada Bioreaktor 12 L .....	42
3.6. Parameter Pengamatan .....	44
3.6.1. Penentuan Kandungan Glukosa dan Asam Laktat .....	44

3.6.2. Penentuan Kandungan Abu Kulit Udang.....	45
3.6.3. Penentuan Kandungan Protein Kulit Udang .....	45
3.6.4. Penentuan Aktivitas Protease.....	47
3.6.5. Penentuan Jumlah Sel Mikroba.....	47
3.7. Metode Penelitian Proses Scale Up .....	48
3.3. Desain Scale Up .....	49
3.5. Kinetika Proses Demineralisasi .....	50
3.6. Kinetika Proses Deproteinisasi .....	54
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>59</b>
4.1. Fermentasi Demineralisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> Pada Bioreaktor 12 L.....	59
4.2. Fermentasi Deproteinisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> Pada Bioreaktor 12 L.....	66
4.3. Design <i>Scale Up</i> Bioreaktor 150 L.....	71
4.3.1. Pengaruh Design Geometri <i>Scale Up</i> 150 L Bioreaktor Demineralisasi dan Deproteinisasi.....	74
4.3.2. Design Kondisi Operasi Bioreaktor Scale Up 150 L.....	76
4.4. Design <i>Scale Up</i> Membran Keramik Mikrofiltrasi.....	77
4.5. Prediksi Model Kinetika.....	79
4.5.1. Model Kinetika Demineralisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> .....	79
4.5.2. Prediksi Proses Demineralisasi pada Bioreaktor 150 L.....	83
4.5.3. Kinetika Deproteinisasi Kontinu <i>High Cell Density</i> .....	83
4.5.4. Prediksi Proses Deproteinisasi pada Bioreaktor 150 L.....	86
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>88</b>
5.1. Kesimpulan.....	88
5.2. Saran.....	91
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>92</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>96</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Produksi dan ekspor udang Indonesia .....	6
Tabel 2.2. Mutu kitin perdagangan dari berbagai produk.....	8
Tabel 2.3. Pemanfaatan Kitin .....	8
Tabel 2.4. Aplikasi Membran dalam bidang Bioproses .....	15
Tabel 2.5. Nilai konstanta transfer massa oksigen.....	24
Tabel 2.6. Pemetaan penelitian demineralisasi dan deproteinisasi.....	35
Tabel 4.1. Geometri bioreaktor 12 L demineralisasi dan deproteinisasi kontinu .....	64
Tabel 4.2. Perbandingan parameter bioreaktor 12 L.....	66
Tabel 4.3. Perbandingan parameter bioreaktor 12 L demineralisasi kontinu.....	67
Tabel 4.4. Perbandingan parameter bioreaktor 12 L deproteinisasi kontinu.....	67
Tabel 4.5. Geometri bioreaktor 150-L demineralisasi dan deproteinisasi kontinu .....	68
Tabel 4.6. Spesifikasi <i>scale up</i> membran keramik mikrofiltrasi .....	72
Tabel 4.7. Data kinetika fermentasi demineralisasi batch.....	74
Tabel 4.8. Data kinetika deproteinisasi batch.....	77

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur kimia kitin .....	7
Gambar 2.2.	Diagram Proses ekstraksi kitin secara biologis .....	11
Gambar 2.3.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	12
Gambar 2.4.	<i>Bacillus licheniformis</i> .....	14
Gambar 2.5.	Fenomena pertumbuhan bakteri fermentasi batch .....	17
Gambar 2.6.	Pendekatan empiris- sistematis proses <i>scale up</i> .....	18
Gambar 2.7.	Bilangan reynold vs bilangan tenaga pada berbagai geometri impeller .....	21
Gambar 2.8.	Skematik neraca massa bioreaktor kontinu .....	31
Gambar 3.1.	Skematik peralatan fermentasi kontinu <i>high cell density</i> .....	39
Gambar 4.1.	Fenomena jumlah konsentrasi bakteri di dalam bioreaktor, <i>recycle</i> bakteri tidak tersaring ke dalam bioreaktor dan penurunan kandungan abu pada demineralisasi kontinu <i>high cell density</i> .....	54
Gambar 4.2.	Grafik jumlah bakteri, kandungan glukosa dan asam laktat pada proses fermentasi demineralisasi kontinu <i>high cell density</i> waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor 16 jam (laju alir media substrat 5,21 mL/menit).....	56
Gambar 4.3.	Grafik jumlah bakteri, kandungan glukosa dan asam laktat pada proses fermentasi demineralisasi kontinu <i>high cell density</i> waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor 24 jam (laju alir media substrat 3,47 mL/menit) .....	57
Gambar 4.4.	Penurunan kandungan abu proses demineralisasi kontinu berbagai kondisi waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor media .....	58
Gambar 4.5.	Fenomena pertumbuhan jumlah konsentrasi bakteri di dalam bioreaktor, <i>recycle</i> bakteri tidak tersaring ke dalam bioreaktor dan penurunan protein deproteinisasi kontinu <i>high cell density</i> .....	61
Gambar 4.6.	Hubungan aktivitas enzim dan penurunan kandungan protein berbagai kondisi deproteinisasi kontinu .....	63
Gambar 4.7.	Dimensi Geometrik Bioreaktor.....	65
Gambar 4.8.	Deskripsi Ukuran Membran Keramik Mikrofiltrasi .....	70
Gambar 4.9.	Simulasi demineralisasi menggunakan sistem batch .....	74
Gambar 4.10.	Simulasi demineralisasi kontinu <i>high cell density</i> laju media substrat 5,21 mL/menit.....	75
Gambar 4.11.	Simulasi deproteinisasi menggunakan sistem batch .....	78
Gambar 4.12.	Simulasi deproteinisasi kontinu <i>high cell density</i> menggunakan limbah kulit udang hasil demineralisasi .....	79

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu negara pengeksport komoditas udang (50 % komoditas perikanan Indonesia) terbesar di dunia pada urutan ke-11. Volume komoditas tersebut pada tahun 2007 adalah 160.797 ton, 320.000 ton pada 2009 dan akan semakin meningkat selama periode 2010- 2014 menjadi sekitar 400.000-699.000 ton per tahunnya (Pusat Data Statistik dan Informasi, Departemen Kelautan dan Perikanan 2010). Pesatnya budidaya udang menjadikan udang sebagai komoditas ekspor non migas yang dapat diandalkan dan bernilai ekonomi tinggi.

Pada umumnya, udang di Indonesia diekspor dalam bentuk beku yang telah dibuang kepala, ekor dan kulitnya menjadi limbah. Berat bagian dari limbah padat udang adalah sekitar 60-70% dari berat udang (Kurnia, 2006) dan 45%-nya dari kulit udang (diperkirakan periode 2010- 2014 terdapat berat kulit udang sekitar 180.000-315.000 ton). Kitin yang terkandung pada limbah tersebut mempunyai banyak sekali kegunaannya untuk dimanfaatkan dalam segala bidang, misalnya dalam bidang biomedik sebagai pengganti kulit kapsul dari gelatin dan suplemen pelangsing tubuh, pengolahan limbah, pangan, kosmetik, tekstil dan sebagainya.

Volume limbah kulit udang yang besar selama ini baru dimanfaatkan untuk pakan ternak, pembuatan kerupuk dan terasi yang mempunyai nilai ekonomis yang rendah (Dhewanto dan Kresnowati, 2002). Pemanfaatan limbah ini menjadi produk yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi adalah dengan menghasilkan kitin yang terkandung pada kulit udang. Harga kitin saat ini berkisar Rp 50.000,00/ kg untuk penanganan limbah cair dan Rp 1.000.000,00/ kg untuk bahan biomedik ([www.nap.edu](http://www.nap.edu)).

Kandungan kulit udang (*Penaeus vannamei*) terdiri atas protein (26-30% bk), senyawa mineral (20- 22% bk) dan kitin (58-60 % bk) (Deden, 2009). Untuk menghasilkan produk kitin maka kandungan selain kitin pada kulit udang yaitu

protein (deproteinisasi) dan mineral (demineralisasi) harus dihilangkan. Teknik penghilangan pengotor tersebut dapat dilakukan melalui proses kimia dengan menggunakan pelarut asam kuat dan basa kuat, namun teknik ini mengalami banyak kelemahan khususnya pencemaran terhadap lingkungan. Oleh karena itu dikembangkan proses secara biologi untuk menghilangkan pengotor mineral dan protein. Penghilangan kandungan mineral dilakukan proses demineralisasi menggunakan bakteri asam laktat *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan penghilangan protein pada proses deproteinisasi menggunakan bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1 (deproteinisasi).

Manfaat yang besar dari produk kitin membutuhkan adanya industri yang serius untuk menghasilkan produk tersebut. Tinjauan secara teknik dalam produksi kitin (desain proses dan peralatan) secara besar menjadi suatu tantangan yang harus segera diwujudkan, sehingga komersialisasi kitin untuk menghasilkan keuntungan dapat tercapai dan pemenuhan kebutuhan industri yang menggunakan peranan kitin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Penelitian sebelumnya mengindikasikan bahwa proses ekstraksi kitin secara kimiawi memberikan dampak negatif terhadap kualitas kitin dan pencemaran lingkungan (Toan et al., 2006; Steven, 2004). Sehingga saat ini proses ekstraksi kitin dilakukan secara biologis. Proses ekstraksi secara biologis dengan sistem *batch* dapat menghilangkan mineral dan protein antara 50- 90%, penyisihan tersebut masih rendah dan waktu yang dibutuhkan cukup lama, yaitu sampai 7 hari (Jung et al., 2005; Beaney et al., 2005; Rao and Stevens, 2005; Waldeck et al., 2006; Choorit et al., 2008).

Penelitian *subsequent-batch* dapat menyisihkan mineral hingga 95,69% dan protein 92,42% (Juaninto, 2008), namun proses ini memiliki efektivitas dan efisiensi proses yang rendah karena harus melakukan penggantian media fermentasi dan inokulum di tengah-tengah proses ekstraksi (sangatlah tidak memungkinkan dalam skala industri). Alternatif proses lainnya yang dilakukan adalah fermentasi secara kontinu yang dapat mengatasi keterbatasan jumlah nutrisi dan produktivitas sel akan



cenderung konstan. Pada proses tersebut protein dapat dihilangkan hingga 1,44% (b/b) selama 96 jam dan mineral hingga 1,76% (b/b) selama 48 jam (Deden, 2009). Lamanya proses dan kualitas kitin (tingkat penyisihan protein dan mineral) yang dihasilkan menjadi parameter yang sangat penting untuk mencapai keekonomisan dalam skala produksi yang besar. Untuk skala produksi ataupun kapasitas yang besar waktu proses fermentasi secara kontinu tersebut masih lama. Untuk mengatasi permasalahan waktu dan kualitas kitin (*high quality*) hingga minimal 1% (b/b) maka dikembangkan sistem kontinu *high cell density*.

Pada skala *pilot plant* membutuhkan adanya perkiraan kondisi proses dan peralatan yang akan digunakan. Perkiraan tersebut merupakan desain dan acuan untuk proses eksperimen *scale up* untuk menghasilkan jumlah kitin dalam kapasitas besar. Dalam penentuan geometri peralatan yang akan digunakan khususnya bioreaktor. Penentuan kondisi operasi akan digunakan persamaan matematika *scale up* berdasarkan kriteria tenaga daya per unit volume yang dibuat tetap koefisien transfer oksigen tetap, kecepatan ujung pengaduk tetap dan tingkat aerasi tetap (Mavituna, 1996). Dalam prediksi proses pada skala besar fenomena kinetika proses pada skala kecil juga menjadi parameter yang sangat penting yang harus dipertahankan sama dengan skala besar.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah

1. Mendapatkan pengaruh sistem kontinu *high cell density* terhadap kualitas kitin dari limbah kulit udang yang dihasilkan meliputi kandungan pengotor protein dan mineral.
2. Lamanya proses penyisihan pengotor menggunakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 pada proses demineralisasi dan bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1 pada proses deproteinisasi.
3. Mendapatkan prediksi kondisi operasi yang digunakan meliputi laju aerasi dan kecepatan agitasi dan desain geometri bioreaktor *scale up* bioreaktor 150 L (tempat terjadinya fermentasi).

4. Prediksi kinetika proses demineralisasi dan deproteinisasi.

#### 1.4 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini dibatasi pada proses fermentasi demineralisasi dan deproteinisasi secara kontinu *high cell density* pada skala kecil bioreaktor 12 L yang kemudian dilakukan desain *scale up* pada skala yang lebih besar 150 L untuk memprediksi geometri bioreaktor, kondisi operasi berdasarkan persamaan matematika *scale up* dan kinetika proses berdasarkan persamaan monod. Proses fermentasi dilakukan untuk mendapatkan kitin dari limbah kulit udang *Penaeus vannamei*.

#### 1.5 Sistematika Penulisan

Susunan penulisan dalam skripsi ini adalah sebagai berikut:

##### **BAB I : PENDAHULUAN**

Bab ini menjelaskan tentang latar belakang penelitian, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah dan sistematika penelitian.

##### **BAB II : TINJAUAN PUSTAKA**

Bab ini berisi tentang prinsip dasar ilmu yang berkaitan dengan penelitian yang meliputi tinjauan manfaat kitin, proses deproteinisasi dan demineralisasi secara kontinu menggunakan membran mikrofiltrasi, desain *scale up* bioreaktor dan kinetika biologi proses tersebut.

##### **BAB III : METODOLOGI PENELITIAN**

Bab ini berisi penjelasan tentang diagram alir penelitian, bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian, prosedur yang dilakukan pada percobaan, serta teknik analisis data dan desain *scale up* serta kinetika proses.

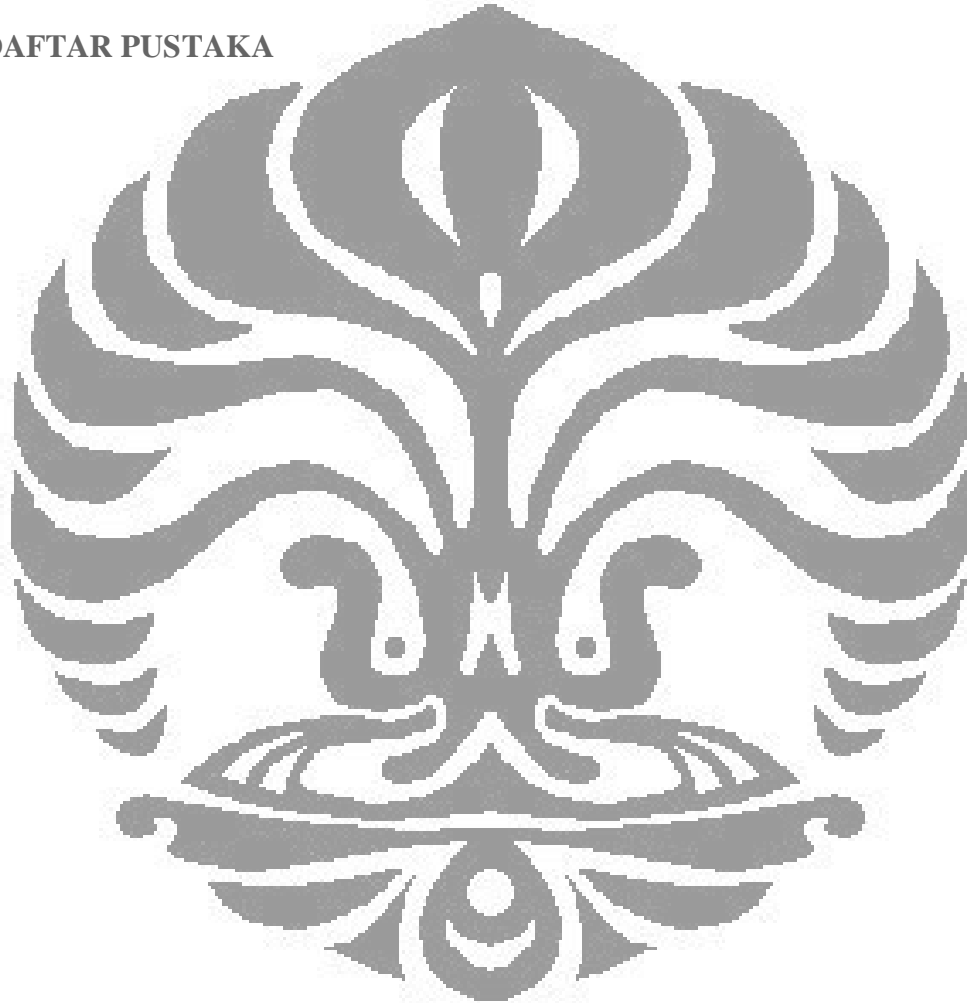
##### **BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bab ini berisi tentang hasil dari penelitian sesuai alur yang diberikan pada BAB III beserta pembahasan dari masing-masing hasil yang diperoleh.

## **BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN**

Bab ini berupa simpulan dari penelitian yang dilakukan dan saran terkait penelitian ini.

## **DAFTAR PUSTAKA**



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kulit Udang Sebagai Sumber Kitin

Ekspor perikanan Indonesia sampai saat ini dan yang akan datang akan bertumpu pada komoditi udang. Nilai ekspor udang ini adalah 50 % dari nilai ekspor komoditi perikanan Indonesia pada tahun 2007 dan terus meningkat dari tahun ke tahun, yang ditunjukkan pada Tabel 2.1. Potensialnya sumber daya ini maka pada periode tahun 2010- 2014 akan ditingkatkan hingga 400.000- 699.000 ton. Udang yang diekspor adalah udang vannamei dan windu yang hampir 90% nya adalah dalam bentuk beku tanpa kulit dan kepala (Pusat Data Statistik dan Informasi, Departemen Kelautan dan Perikanan, 2010).

**Tabel 2.1** Produksi dan ekspor udang Indonesia 2003- 2014

Tahun	Produksi (ton)	Ekspor (ton)
2003	191.723	92.027
2004	226.553	124.604
2005	295.000	153.906
2006	281.901	159.329
2007	318.565	160.797
2008	480.000	285.000
2009*	540.000	320.000
2010*	-	400.000
2014*	-	699.000

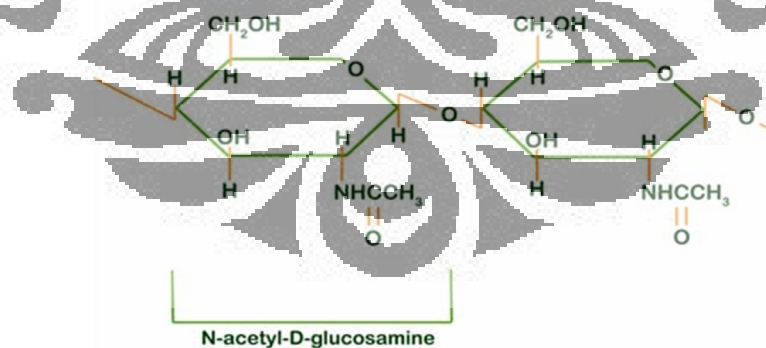
Sumber : Pusat Data Statistik dan Informasi, Departemen Kelautan dan Perikanan; \*) prakiraan

Selama ini limbah kulit udang tersebut dikeringkan dan dimanfaatkan sebagai pakan ternak, kerupuk, pupuk yang memiliki nilai ekonomis kecil. Mengolah limbah kulit udang menjadi kitin akan memberikan nilai ekonomis yang tinggi. Selain itu juga adanya sumber daya alam berupa limbah kulit kepiting, Indonesia tentunya berpeluang memproduksi kitin dan produk turunannya sekitar 21-100 ribu per tahun.

Ketersediaan kulit udang mencakup pantura Jawa, Sumatera Utara, Lampung, Sulawesi dan Kalimantan timur. Survei yang dilakukan oleh Badan Riset Kelautan dan Perikanan (BRKP) menunjukkan daerah Jabotabek dapat tersedia 100 ton kulit udang kering setiap bulannya atau setara 13 ton kitin, dengan potensi keuntungan sebesar US\$ 650 ribu per bulan. Menurut BRKP, pabrik kitin layak dibangun bila tersedia bahan baku kulit udang kering sebanyak 3000 kg/ hari dengan biaya investasi 2,6 -4,2 Milyar (Teknologi-dkp.go.id, 2006)

## 2.2 Potensi Kitin dalam Berbagai Bidang

Kitin adalah polimer karbohidrat yang banyak terdapat di alam yang merupakan struktur besar polisakarida pada *arthopoda*, koelenterata dan jamur. Kitin berguna memberikan kekuatan mekanik organisme. Kitin merupakan polimer (1-4)-2-asetamido-2 deoksi-d- glukosamin (Zakaria, 2000). Dalam strukturnya, kitin terdiri dari sebuah rantai panjang dari N-asetilglukosamin dengan rumus empiris  $C_6H_6CNHCOCH_3$  dan berisi campuran murni 6,9 % nitrogen. Kitin terdapat dalam tiga bentuk polimerf yang berbeda, yaitu  $\alpha$ -chitin,  $\beta$ -chitin, dan  $\gamma$ -chitin, tergantung pada polaritas rantai ikatan pada stuktur kristalinnya. Adapun struktur kitin dengan gugus asetamidanya dapat dilihat pada Gambar 2.1.



**Gambar 2.1** Struktur kimia kitin (www.coe.drexel.edu)

Produk kitin yang ada di pasaran memiliki banyak sekali kualitas berdasarkan kandungan air, abu, dan proteinnya, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.2. Harga kitin ditentukan oleh kandungan protein dan abu mineral, semakin kecil kandungan

abu dan proteinnya maka harga kitin semakin tinggi. Dengan harga kitin saat ini berkisar Rp 50.000,00/ kg untuk penanganan limbah cair dan Rp 1.000.000,00/ kg untuk bahan biomedika (www.nap.edu).

**Tabel 2.2** Mutu kitin perdagangan dari berbagai produk

Spesifikasi	Dalian Chem Imp & Exp Group Co.ltd*)			Bioline**)	Thailand***)
	Mutu I	Mutu II	Mutu III	Mutu Industri	Mutu Komersial
abu (%)	≤ 1,5	≤ 5	≤ 10	≤ 2	≤ 1
protein (%)	≤ 1,5	≤ 3	≤ 3	≤ 2	≤ 5
air (%)	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10

\*) <http://alibaba.co>; \*\*) <http://bioline.co>; \*\*\*) <http://www.indiaagar.com>

Potensi kitin dimanfaatkan dalam berbagai bidang, yang ditunjukkan pada Tabel 2.3

**Tabel 2.3** Pemanfaatan Kitin (Tokura, 1995)

Industri	Pemanfaatan	Keterangan
Tekstil	Serat tenun	Dibuat dari kitin dengan membuat suspensi kitin dalam asam format lalu ditambahkan triklor asam asetat dan kemudian segera dibekukan pada suhu 200° C selama 24 jam. Bila larutan dipintal dan dimasukkan dalam etil asetat maka terbentuk serat tenun
	Pengganti wax untuk kerajinan batik.	Menggunakan pasta kitosan

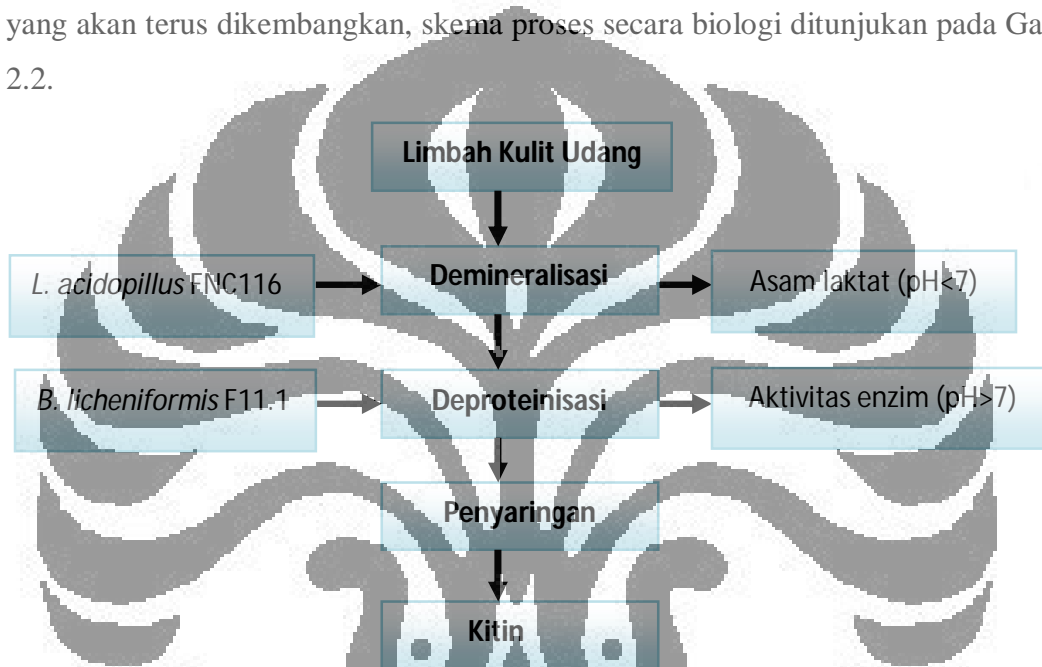
<b>Industri</b>	<b>Pemanfaatan</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Kedokteran</b>	Bahan dasar benang operasi	Pembuatannya menggunakan kitin dan turunannya yaitu karboksimetil kitin, hidroksietil kitin dan etil kitin. Produk dari bahan ini memiliki keunggulan dapat diurai dan diserap jaringan tubuh, tidak beracun, dapat disterilisasi dan tahan lama.
	Bahan penyembuhan luka bakar	Produk dari kitin mempercepat penyembuhan lebih baik dibandingkan dari bahan yang terbuat dari tulang rawan
	Pembuatan garam glukosamin	Penyembuhan influenza, radang usus, sakit tulang
<b>Kosmetika</b>	Pembuatan <i>shampoo</i> dan <i>lotion</i>	Produk <i>shampoo</i> kering mengandung kitin yang disuspensi dalam alkohol. Pembuatan <i>lotion</i> dan <i>shampoo</i> mengandung 0,5- 6% garam kitosan.
<b>Fungisida</b>	Menstimulir pertumbuhan mikroba pengurai jamur.	Kitosan memiliki sifat antimikroba yang dapat melawan jamur lebih kuat dari kitin. Penggunaannya dapat dengan menambahkan dengan tanah, disemprotkan langsung pada tanaman.

<b>Industri</b>	<b>Pemanfaatan</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Pangan</b>	Media pewarnaan makanan	Dikarenakan sifat kitin yang dapat mengikat air dan lemak.
	Pencampur adonan roti tawar	Dengan menambahkan mikrokristalin kitin dapat meningkatkan pengembangan volume roti tawar.
	Penurunan kadar asam pada makanan dan penjernih minuman sari buah- buah	Karena sifatnya yang dapat bereaksi dengan asam- asam seperti polifenol, kitin dapat menurunkan asam pada buah- buah, sayuran, kopi, dsb. Sebagai penjernih jus apel yang lebih baik dibandingkan dengan gelatin.
	Nutrisi	Suplemen dan sumber serat
<b>Penanganan limbah</b>	Agensia penggumpal limbah	Kitosan dapat berperan dalam penanganan limbah terutama limbah berprotein.
<b>Fotografi</b>	Untuk Industri <i>film</i>	Membuat film dengan penggunaan campuran kitin dengan larutan dimetilasetamida. Selain itu, dapat memperbaiki mutu film yaitu meningkatkan fotosensitivitasnya dengan adanya penambahan tembaga



### 2.3 Ekstraksi Kitin

Ekstraksi kitin dilakukan melalui dua tahapan proses yaitu penyisihan protein (deproteinisasi) dan penyisihan mineral kalsium karbonat (demineralisasi) dari kulit udang (Mahmoud et al., 2007). Kedua tahapan proses dalam ekstraksi kitin tersebut dapat dilakukan secara kimia maupun biologi (Beaney et al., 2005). Namun karena proses kimia tidak ramah lingkungan dan merusak kualitas kitin maka proses biologi yang akan terus dikembangkan, skema proses secara biologi ditunjukkan pada Gambar 2.2.



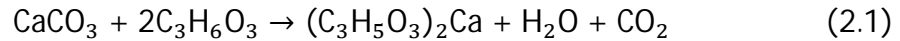
Gambar 2.2 Diagram proses ekstraksi kitin secara biologis (Deden, 2009)

#### 2.3.1 Proses Demineralisasi

Kulit udang mengandung mineral 20-22% berat kering dengan komposisi utamanya adalah kalsium karbonat. Pada proses secara kimia komponen mineral ini dapat dilarutkan dengan penambahan asam kuat seperti asam klorida dan asam sulfat (Synowiecki dan Al-Khateeb, 2003). Pada proses secara biologi yaitu dengan melarutkan mineral yang terdapat dalam kulit udang melalui proses fermentasi asam laktat.

Proses demineralisasi secara biologis ini melibatkan dua proses utama bersamaan dalam satu sistem, proses pertama adalah pemebentukan asam laktat,

sedangkan proses kedua adalah reaksi antara asam laktat yang terbentuk dengan kalsium karbonat dalam kulit udang membentuk kalsium laktat. Reaksi yang terjadi pada proses demineralisasi ditunjukkan pada persamaan 2.1.



Fermentasi asam laktat merupakan proses perubahan bahan penghasil asam laktat seperti glukosa, sukrosa, maltosa dan laktosa menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat termasuk dalam golongan bakteri gram positif, tidak berspora, berbentuk batang atau bulat, tidak berespirasi suhu optimum pertumbuhan antara 20- 40°C. Bakteri asam laktat contohnya adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* dan *Vagococcus* (Frazier dan Westhoff, 1988).

Proses demineralisasi kulit udang menggunakan bakteri asam laktat *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 (Deden, 2009). *L. acidophilus* bentuknya batang bulat 0,6- 0,9 µm dan panjang 1,5- 6 µm dan dapat dalam bentuk tunggal atau berpasangan (Gambar 2.3). Suhu pertumbuhan optimumnya adalah 37°C dan tidak dapat tumbuh di bawah temperatur 22°C atau diatas 45°C, sifat dari bakteri ini adalah probiotik terhadap pertumbuhan patogen (Karna et al., 2007)

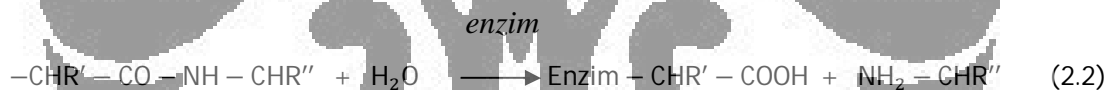


**Gambar 2.3** *Lactobacillus acidophilus* (www.wikipedia.com)

### 2.3.2 Proses Deproteinisasi

Kulit udang selain mengandung kitin juga mengandung protein, untuk mendapatkan kitin maka protein tersebut harus dihilangkan. Protein yang terdapat pada kulit udang dapat berikatan secara fisik dan kovalen. Protein yang terikat secara fisik dalam kulit udang dapat dihilangkan dengan perlakuan pengecilan ukuran, dan pencucian dengan air. Protein yang terikat secara kovalen dapat dihilangkan dengan perlakuan kimia yaitu pelarutan menggunakan basa kuat seperti natrium hidroksida. Penggunaan basa kuat merusak asam amino protein dan juga kitin, sehingga digunakan proses secara biologi dengan menggunakan mikroba untuk menghasilkan enzim protease.

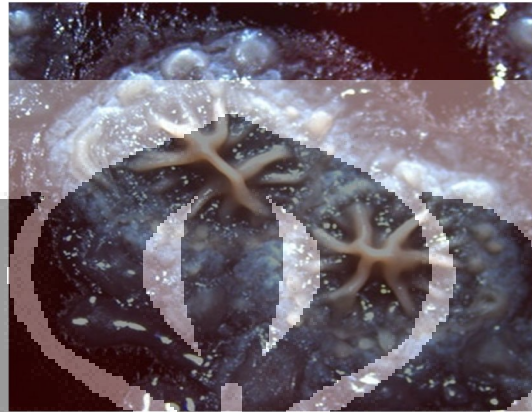
Enzim protease yang dihasilkan mikroba adalah enzim yang mampu menghidrolisis ikatan peptide dalam protein. Enzim protease ada yang memiliki aktivitas endopeptidolitik yaitu memutuskan ikatan peptida di dalam rantai polipeptida protein (Waldeck et al., 2006). Proses pemutusan ikatan peptide dengan katalis enzim ditunjukkan pada persamaan 2.2.



Proses hidrolisis protein secara enzimatis memerlukan kondisi yang sesuai sehingga aksi enzim dalam memutuskan ikatan peptide menjadi maksimal. Bakteri penghasil enzim protease misalnya adalah *B.subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *S. faecium*, *P. pentasaseus* dan *A. oryzae* (Waldeck et al., 2006).

Dalam proses deproteinisasi kulit udang digunakan bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1 (Deden, 2009). *B. licheniformis* F11.1 menghasilkan enzim ekstraselular dalam jumlah yang relatif tinggi, enzim ekstraselular atau protease serin. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan panjang antara 1,5-3  $\mu\text{m}$  dan lebar antara 0,6-0,8  $\mu\text{m}$ . Spora bakteri ini berbentuk silindris atau elips dan terdapat pada sentral atau parasentral, ditunjukkan pada Gambar 2.4. Suhu maksimum pertumbuhannya adalah 50- 55°C dan suhu minimumnya 15 °C. Sifat dari

enzim protease serin ini adalah aktivitasnya dapat dihambat kuat oleh senyawa diisopropil-fluorofosfat (DFP), butane, phenyl-methyl-sulfonyl-fluoride (PSMF) dan tosyl-L-lysine chloromethyl ketone (TLCK).



Gambar 2.4 *Bacillus licheniformis* (www.microlibrary.org)

#### 2.4 Fermentasi Kontinu *High Cell Density* Menggunakan Membran Mikrofiltrasi

Pada skala produksi (industri) menghasilkan produk secara besar merupakan hal yang penting untuk meningkatkan nilai keekonomisan keseluruhan proses dalam industri. Peningkatan produksi dapat dilakukan dengan meningkatkan jumlah sel bakteri sekaligus mempercepat waktu produksi produk untuk menurunkan modal investasi dan menambah keuntungan komersial yang layak secara ekonomis, hal tersebut merupakan tujuan dari proses bioproses (Shiloach and Fash, 2005).

Masalah utama dalam meningkatkan jumlah sel bakteri adalah kelarutan substrat padat dan gas dalam media berair, inhibisi substrat terhadap pertumbuhan, ketidakstabilan dan volatilitas substrat dan produk, akumulasi dari produk atau produk sampingan metabolisme untuk tingkat pertumbuhan terhambat, degradasi produk, kebutuhan oksigen tinggi akibat peningkatan viskositas (proses aerob) (Gupta et al., 2002).

Penggunaan membran pada sistem kontinu meningkatkan jumlah bakteri *Paenabacillus* sp CHE-N1 dan meningkatkan jumlah enzim chitinase sebanyak 78%

lebih tinggi dibandingkan sistem batch. Selain itu jumlah bakteri *E. coli* meningkat menjadi 190 g/l berat kering dan *P. pastoris* meningkat menjadi 450 g/L berat kering (Kao et al, 2006). Dari epenelitian tersebut penggunaan membran merupakan solusi untuk meningkatkan jumlah bakteri pada proses fermentasi. Penggunaan membran tersebut akan menyaring (filtrasi) bakteri yang masih hidup pada proses keluaran bioreaktor dan me-recycle kembali media yang mengandung bakteri yang masih hidup. Bakteri yang terbuang akibat tidak tersaring kecil jumlahnya. Penggunaan membran dapat meningkatkan jumlah (kepadatan) sel bakteri.. Jenis membran yang dapat digunakan ditunjukkan pada Tabel 2.4.

**Tabel 2.4** Aplikasi Membran dalam bidang Bioproses (Chmiel, 2006)

Proses Pemisahan Berdasarkan Perbedaan Tekanan				
Proses Membran	Prinsip Pemisahan	TMP (bar)	Diameter Pori/ <i>cut off</i>	Aplikasi
Mikrofiltrasi	<i>Sieving effect</i>	0,1-2	100-2000 nm	Menghilangkan berat molekul yang tinggi dari produk dan pemisahan padatan tersuspensi
Ultrafiltrasi	<i>Sieving effect</i>	1-5	5-100 nm/ $10^3$ - $10^5$ cut off	Menghilangkan berat molekul rendah dari produk atau konsentrasi larutan makromolekuler
Nanofiltrasi	<i>Sieving effect</i> , difusi	5-20	0,5-10 nm/ $10^2$ - $10^3$ cut off	Pemisahan komponen organik dan non organik dari larutan

### 2.4.1 Membran Keramik Mikrofiltrasi

Membran anorganik telah dikenal sejak lama memiliki banyak keuntungan dibandingkan yang lainnya, seperti proses yang stabil dengan menggunakan material ini, ketersediaan bahan yang mudah, biaya yang murah dalam perawatan (*maintenance*) dan instalasi peralatan yang mudah oleh operator. Selain itu bahan keramik ini memiliki kekuatan mekanik yang tinggi sehingga dapat digunakan pada tekanan yang tinggi (Hsieh et al., 1991), dapat dengan mudah disterilisasi dengan uap atau dengan bahan kimia seperti klorin aktif karena tahan suhu yang tinggi dan anti-korosi (Matsumoto, 1988). Mikro-organisme memiliki afinitas yang tinggi pada membran organik, sehingga fouling akibat bakteri akan menimbulkan masalah baru. Sebaliknya, interaksi antara sel dan membran keramik tidak menimbulkan fouling (Riesmeier et al., 1984). Kelebihan-kelebihan membran keramik (anorganik) ini membuat jenis membran ini banyak digunakan (makanan, farmasi) karena dapat bertahan lama dan membran yang terbuat dari organik seperti polimer memiliki banyak kekurangan. Hambatan utama pada proses mikrofiltrasi pada penggunaan membran keramik adalah laju pemisahan yang rendah.

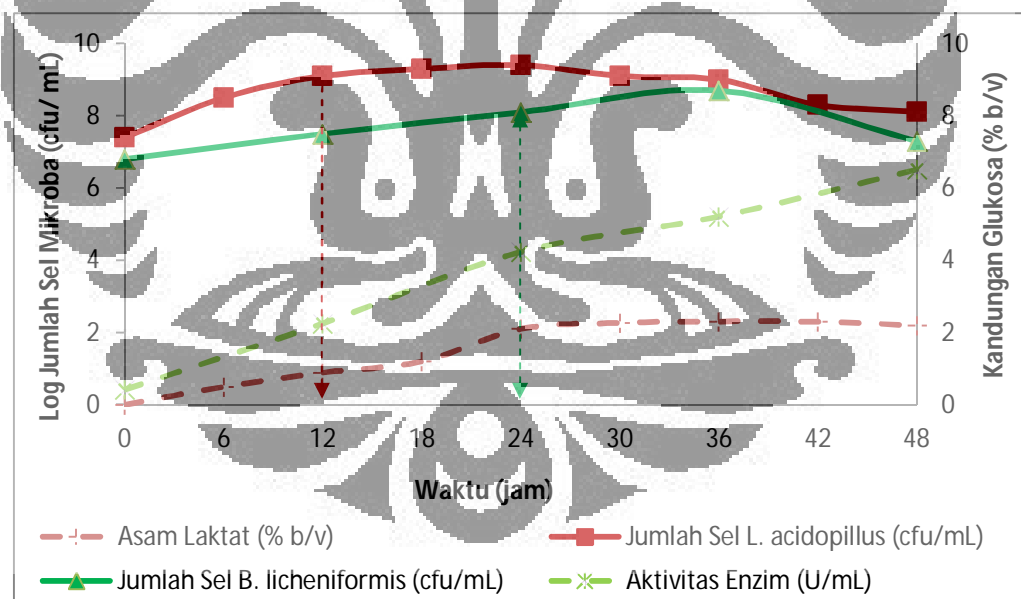
Penggunaan membran keramik pada larutan yang memiliki viskositas yang tinggi yang ingin dipisahkan dapat menahan tegangan geser yang tinggi, ditimbulkan oleh larutan tersebut ketika dipompakan melewati permukaan membran. Pada penggunaan membran keramik dalam setiap aplikasi harus dipertimbangkan hal stabilitas produk, sensitivitas *shear* yang terjadi dan volume produk yang akan diproses. Membran keramik mikrofiltrasi memiliki pori antara 0,1 – 0,3  $\mu\text{m}$ , ukuran yang kecil dibandingkan dengan ukuran bakteri *Bacillus* dan *Lactobacillus*, sehingga bakteri akan tersaring semuanya tanpa ada yang lolos.

### 2.4.1 Penentuan Kondisi Fermentasi

Proses Fermentasi dengan sistem batch hanya digunakan sebagai tahap awal untuk mempelajari karakteristik pertumbuhan bakteri dan produk yang dihasilkan karena prosesnya yang mudah, namun nutrisi yang terbatas untuk pertumbuhan

bakteri menjadi kendala tidak dapat untuk meningkatkan kepadatan, jumlah bakteri. Kemudian penggunaan sistem kontinu digunakan untuk mengatasi masalah keterbatasan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Pada sistem ini nutrisi makanan dialirkan ke dalam bioreaktor untuk menambah nutrisi makanan bakteri saat jumlah bakteri menjadi banyak dan nutrisi yang ada sudah terbatas, namun sistem ini hanya mempertahankan jumlah bakteri tetap konstan (fase konstan), sehingga tidak memasuki fase menurun (Deden, 2009). Sistem ini membutuhkan waktu yang lama untuk menghilangkan protein, sehingga akan dilakukan sistem *high cell density* menggunakan membran keramik mikrofiltrasi untuk menyaring bakteri yang ada proses keluaran dan *re-cycle* ke bioreaktor dengan kondisi fermentasi kontinu tanpa sistem *high cell density*.

Proses kontinu dengan menggunakan bakteri yang sama akan memiliki karakteristik pertumbuhan bakteri yang sama, sehingga kondisi optimum pada fermentasi kontinu *non high cell density* akan digunakan pada sistem *high cell density*.



**Gambar 2.5** Fenomena pertumbuhan bakteri fermentasi batch sebagai dasar penentuan dimulainya proses kontinu (Deden, 2009)

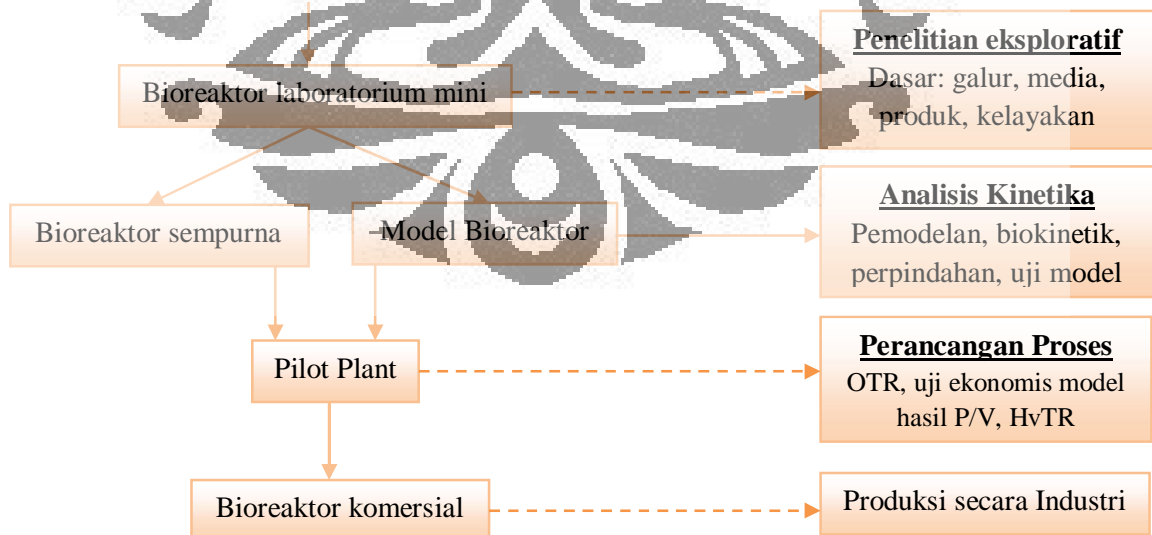
Penentuan dimulainya proses kontinu pada proses demineralisasi dan deproteinisasi ditentukan oleh waktu yang dicapai bakteri *L. acidophilus* FNCC116 dan *B. licheniformis* F11.1 mencapai fase pertumbuhan eksponensial. Pada proses

demineralisasi akan dimulai pada jam ke 12 dan pada proses deproteinisasi akan dimulai pada jam ke 24 (Deden, 2009), ditunjukkan pada Gambar 2.5.

Kondisi optimal proses demineralisasi secara kontinu membutuhkan laju umpan media glukosa sebanyak 6,5 % (b/v) dengan waktu tinggal media selama 16 jam dan 24 jam dan pada deproteinisasi kondisi optimal dengan kondisi konsentrasi media NaCl 10 g/L, *yeast extract* 10 g/L, Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 g/L, CaCl<sub>2</sub> 2 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10 g/L, dan waktu tinggal media pada proses kontinu adalah 12 jam (Deden, 2009).

## 2.5 Desain Proses *Scale Up*

Dalam pengembangan ke tahap *scale up* akan dilakukan pemodelan dengan memperhatikan beberapa variabel karena kondisi optimal pada bioreaktor kecil tidak memberikan hasil yang optimal pada bioreaktor besar (Bailey and Ollis, 1986). Proses desain *scale-up* perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengantisipasi perbedaan karakteristik proses yang terjadi dari bioreaktor kecil dan besar, sehingga pada pengembangan ke tahap industri dapat mengantisipasi biaya yang terlalu mahal dan dari faktor lingkungan. Proses *scale-up* dengan pemodelan ini merupakan sebuah seni mengenai prediksi, ilmu pengetahuan dan eksperimen. Pengembangan proses *scale up* ditunjukkan oleh Gambar 2.6.



**Gambar 2.6** Pendekatan empiris- sistematis proses *scale up* (Maser, 1985)



### 2.5.1 Variabel Variabel Proses *Scale Up*

Variabel- Variabel yang perlu diperhatikan pada *Scale-Up* :

#### 1. Transfer Massa

Transfer massa dipengaruhi oleh proses aerasi dan agitasi. Aerasi diperlukan untuk pengadaan oksigen yang cukup demi kelangsungan hidup mikroba yang ditumbuhkan dalam medium. Agitasi diperlukan untuk mencampur semua isi bioreaktor sehingga diperoleh kondisi homogen. Tipe sistem aerasi dan agitasi sangat tipikal tergantung pada karakteristik proses fermentatif yang diinginkan. Aerasi dapat diadakan dengan mengalirkan udara steril melalui aerator, kemudian gelembung udara dibuat sekecil mungkin, sehingga memungkinkan terjadi oksigen udara masuk ke fase cair. Gelembung udara dapat diperkecil melalui alat yang porus disebut *sparger*. Agitasi selain berfungsi sebagai pengaduk (agitator) juga dapat berfungsi untuk memecah gelembung yang lewat di dalam medium.

#### 2. Penentuan indeks Konsistensi (Model Oswald-de Waele)

Bailey dan Ollis (1986) melakukan penelitian tentang pengaruh perubahan di dalam bioreaktor (*broth rheology*) terhadap konsumsi daya, pencampuran dan perpindahan massa dan energi. Norwood (1960) menyatakan bahwa viskositas *non-Newtonian* dapat memiliki efek secara praktis terhadap aliran massa dan energi. Sebagai contoh, di dalam bioreaktor yang menggunakan pengaduk, laju geser (*shear rate*) dan tegangan geser (*shear stress*) tertinggi dekat impeller dan mengalami penurunan semakin tajam jauh pada jarak pengaduk. Tegangan geser dinyatakan oleh persamaan 2.3.

$$\tau = k\gamma^n \quad (2.3)$$

viskositas yang terjadi dinyatakan pada persamaan 2.4.

$$\mu_{app} = k\gamma^{n-1} \quad (2.4)$$

Keterangan:  $\tau$  = tegangan geser ( $N/m^2$ );  $k$  = indeks konsisten ( $Pa.s^n$ );  $n$  = indeks perilaku (-);  $\gamma$  = laju geser ( $s^{-1}$ );  $\mu$  = viskositas (cP)

### 3. Konsumsi Daya (Power)

Informasi tentang kebutuhan daya listrik yang dibutuhkan bioreaktor dalam bioreaktor kecil sangatlah penting yang akan digunakan sebagai acuan pada bioreaktor yang lebih besar. Korelasi daya yang dibutuhkan pada bioreaktor telah dijelaskan oleh Badino et al., 2009; Shukla et al., 2001. Secara umum konsumsi daya listrik bergantung pada Bilangan tenaga,  $N_p$  (*power number*) dan bilangan Reynold,  $N_{Re}$  (Reynold Number).

- Bilangan Reynold ( $N_{Re}$ )

Penggunaan pengaduk bioreaktor akan mempercepat transfer setiap komponen fermentasi khususnya oksigen dengan media liquid. Kecepatan relatif antara nutrisi yang telah tercampur dengan sel bakteri adalah sekitar 0,5 m/s (Mohammad et al., 2001). Jenis aliran laminar atau turbulen yang terjadi dapat dinyatakan dalam bentuk bilangan tak berdimensi, yaitu bilangan Reynold ( $N_{Re}$ ), untuk mendapatkan nilai bilangan Reynold digunakan persamaan 2.5.

$$N_{Re} = \frac{ND_i^2 \rho_L}{\mu_L} \quad (2.5)$$

Keterangan :  $N_{Re}$  = bilangan Reynold;  $D_i$  = diameter impeller (cm);  $\mu_L$  = viskositas liquid (cP);  $N$  = kecepatan impeller (rpm);  $\rho_L$  = densitas liquid ( $\text{kg/m}^3$ ).

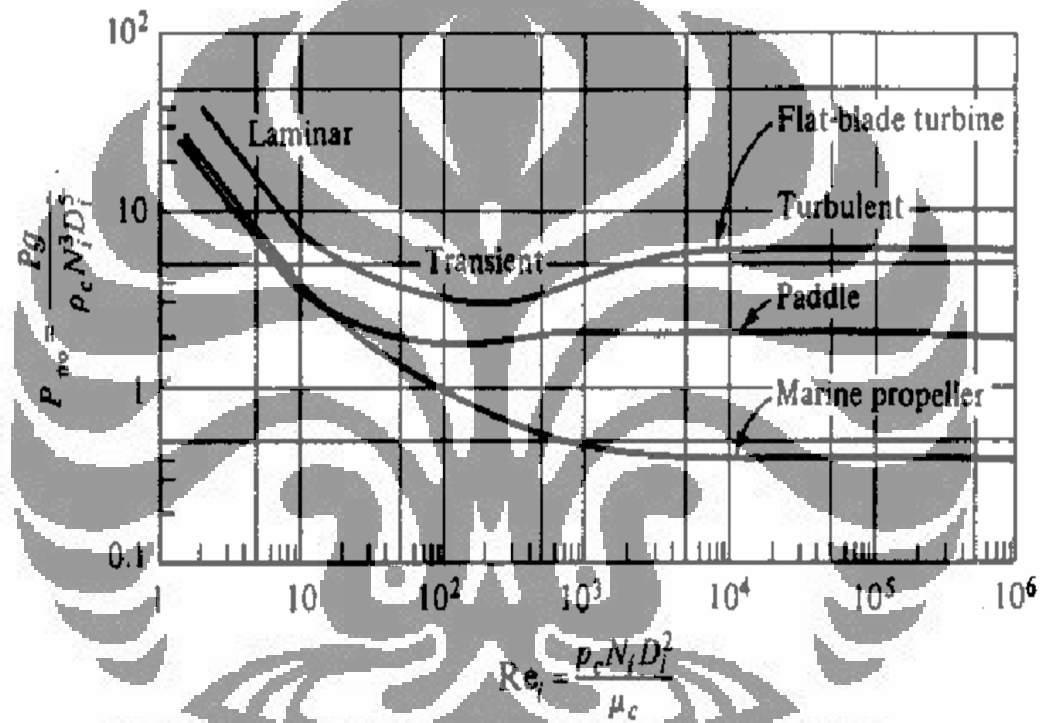
Bilangan Reynold hanya menjelaskan aliran di pinggiran sekitar pengaduk. Untuk mendapatkan distribusikan turbulensi yang merata di dalam seluruh reaktor maka diperlukan jenis dan bentuk impeller yang tepat. Laju alir masukan merupakan faktor penting penentu turbulensi. Namun, tingkat turbulensi juga perlu diperhitungkan, karena dapat merusak sel. Definisi bilangan Reynolds untuk non-Newtonian jauh lebih rumit karena viskositas yang tidak konstan untuk fluida non-Newtonian dan laju geser yang bervariasi. Perhitungan konsumsi daya dalam bioreaktor untuk fluida non-Newtonian pada dasarnya adalah sama dengan cairan

Newton, dengan beberapa modifikasi pada fluida non-Newtonian bilangan Reynold ditentukan dengan menggunakan persamaan 2.6 (Geankoplis, 1993)

$$N_{Re} = \frac{ND_i^2 \rho_L}{\mu_{app}} \quad (2.6)$$

Keterangan:  $\mu_{app}$  = viskositas karena *shear stress* dan *shear rate* (cP)

Hubungan bilangan Reynold dan Tenaga Daya yang dibutuhkan ditunjukkan oleh Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Bilangan reynold vs bilangan tenaga pada berbagai geometri impeller (Alba et al., 1993)

Bilangan Reynold untuk cairan Non-Newtonian dapat juga menggunakan persamaan 2.7 (Hernby et al., 1992).

$$N_{Re} = \rho \frac{N^{(2-n)} (D_i^2)}{(K) (K_s^{n-1})} \quad (2.7)$$

Keterangan:  $K_s$  = tetapan penggunaan impeller *six blade disc turbine* (11,5);  $n$  = indeks perilaku

- Tenaga Daya Pada Sistem *Ungassed* (*Ungassed System*)

Tenaga yang dibutuhkan pada fermentasi dengan sistem tanpa aerasi bergantung pada karakteristik properties fluida seperti massa jenis, viskositas, impeller diameter dan kecepatan putar impeller. Tenaga pada *Ungassed System* ( $P_o$ ) dinyatakan dalam bilangan tenaga ( $N_p$ ) dan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan 2.8.

$$N_p = \left( \frac{P_o}{\rho_L N^3 D_i^5} \right) \quad (2.8)$$

Keterangan :  $N_p$  = bilangan tenaga;  $P_o$  = Tenaga *Ungassed System* (W);  $D_i$  = diameter impeller (cm);  $N$  = kecepatan impeller (rpm);  $\rho_L$  = densitas liquid ( $\text{kg/m}^3$ )

- Tenaga Daya Pada Sistem Aerasi (*Gassed System*)

Tenaga yang dibutuhkan pada fermentasi dengan sistem dengan adanya aerasi akan lebih rendah jika dibandingkan tanpa adanya aerasi, hal tersebut karena viskositas yang menjadi lebih kecil karena adanya aerasi, dinyatakan pada persamaan 2.9.

$$P_g = \left( \frac{N P_o^2 D_i^3}{Q^{0.56}} \right)^{0.45} \quad (2.9)$$

Dari nilai Laju alir udara, gas dapat diketahui pula nilai dari Kecepatan udara aerasi, melalui persamaan 2.10.

$$v_g = \frac{Q}{\pi D_t^2} \quad (2.10)$$

$P_g$  = Tenaga dengan aerasi (W);  $Q$  = Laju alir udara, gas ( $\text{m}^3/\text{s}$ );  $v_g$  = kecepatan udara, gas (m/s);  $D_i$  = diameter impeller (cm);  $D_t$  = diameter vessel (cm)

Menurut Chia-Hua Hsu (2003), kecepatan udara aerasi adalah kecepatan rata-rata kecepatan gelembung yang naik dari dasar bioreaktor ke permukaan cair. Hal ini

sangat dipengaruhi oleh dispersi cair dan merupakan faktor penting untuk desain bioreaktor. Korelasi antara tenaga daya pada sistem *Ungassed* dan *Gassed* dinyatakan dengan bilangan aerasi, menurut persamaan 2.11.

$$N_a = \frac{Q}{ND_1^3} \quad (2.11)$$

Keterangan :  $N_a$  = bilangan aerasi

### 2.5.2 Kriteria *Scale Up*

Penggunaan- penggunaan basis kriteria *scale up* tidak sepenuhnya menghasilkan desain yang sempurna, masalah yang sering dihadapi seperti proses pencampuran yang kurang sempurna, perbedaan konsentrasi, pertumbuhan sel setelah dilakukan *scale up* dan lainnya. Dalam pembuatan desain bioreaktor kecil menjadi bioreaktor yang besar diperlukan faktor (keadaan) yang dibuat tetap. Untuk memperoleh kondisi- kondisi tersebut sangatlah sukar, namun hal tersebut dapat diperoleh dengan membuat parameter *scale up* konstan. Parameter- parameter tersebut tidak akan memberikan hasil yang sama satu sama lainnya, namun kondisi yang optimal dari penggunaan parameter tersebut akan dipilih berdasarkan percobaan dalam bioreaktor besar (keberhasilan *scale up* ditentuann secara eksperimen).

Kriteria dan Parameter yang digunakan dalam *scale up* adalah:

1. *Scale Up* Berdasarkan Koefisien Transfer Oksigen ( $k_La$ ) yang Konstan  
Kriteria ini penting dan paling sering digunakan untuk mengevaluasi efisiensi aerasi pada fermentasi aerobik yang mempercepat transfer oksigen yang cukup untuk memenuhi kebutuhan mikroorganisme (Hubbard et al., 1994), (Herbst and Schumpe,1992) dan (Ju and Chase, 1992). Oleh karena itu, *scale up* pada fermentasi aerobik seringkali dilakukan berdasarkan  $k_La$  yang dibuat konstan. Untuk mendapatkan nilai transfer massa oksigen digunakan persamaan 2.12.

$$k_La = a \left( \frac{P_g}{V_L} \right)^b v_g^c \quad (2.12)$$

Konstanta  $b$  menunjukkan koefisien transfer oksigen yang dipengaruhi oleh proses agitasi dan konstanta  $c$  dipengaruhi oleh kecepatan gas, udara pada proses

aerasi. Nilai konstanta tersebut bergantung pada bentuk geometri fermentor yang digunakan. Nilai konstanta b, c terdapat pada Tabel 2.5.

**Tabel 2.5** Nilai konstanta transfer massa oksigen

Media	a	b	c	Pengaduk	Referensi
Coalescing	0,025	0,4	0,5	Six-bladed Rushton Turbine	Moo Young & Blanch (1981)
	0,0049	0,593	0,4	Six-bladed Rushton Turbine	van't Riet (1979)
	0,01	0,475	0,4	Various agitators	Moo Young & Blanch (1981)
	0,026	0,4	0,5	Six-bladed Rushton Turbine	van't Riet (1979)
Non-Coalescing	0,0018	0,7	0,3	Not specified	Moo Young & Blanch (1981)
	0,02	0,475	0,4	Various agitators	Moo Young & Blanch (1981)
	0,002	0,7	0,2	Not specified	van't Riet (1979)

2. *Scale Up* Berdasarkan  $P_g/V_L = \text{konstan}$

Metode ini didasarkan pada asumsi proporsionalitas antara konsumsi daya per satuan volume cairan. Proporsionalitas tersebut dalam aplikasi fermentasi yang alirannya turbulen. Pada fermentasi yang memiliki kekentalan yang tinggi (misalnya jamur dan streptomycetes) menjadi mustahil untuk mempertahankan aliran turbulen bahkan pada poros agitator yang sangat tinggi (Mohamad et al., 2001). Geankoplis (1993) menyatakan bahwa, jika konsumsi daya yang sama diperoleh pada kedua bioreaktor operasi, dan dengan asumsi proporsionalitas antara konsumsi daya per satuan volume dan efisiensi aerasi cair juga sama, maka kondisi optimum pada bioreaktor yang besar akan didapatkan. Dengan mengkombinasikan persamaan 2.6 dan 2.7 maka akan didapatkan persamaan Rushton dan konsumsi tenaga dengan aerasi (Michel and Miller, 1962), yang dinyatakan pada persamaan 2.13.a dan 2.13.b:

$$P_g = m \left( \frac{N_P^2 \rho_L^2 N^7 D_i^{12}}{Q^{0.56}} \right)^{0.45} \quad (2.13. a)$$

$$P_g = \frac{(m N_P^{0.9}) \rho_L^{0.9} N^{3.15} D_i^{5.85}}{Q^{0.252}} \quad (2.13. b)$$

Dengan membuat tenaga daya per unit volume konstan maka:

$$\frac{P_{g1}}{V_{L1}} = \frac{P_{g2}}{V_{L2}} \quad (2.14. a)$$

Angka 1 menunjukkan bioreaktor kecil dan dan 2 menunjukkan bioreaktor yang besar. Jika bentuk geometri kedua bioreaktor adalah sama, maka akan menjadi persamaan baru yang ditunjukkan pada persamaan 2.14.b dan 2.14.c.

$$\frac{P_{g1}}{\pi D_{T1}^2 H_{T1}^2 / 4} = \frac{P_{g2}}{\pi D_{T2}^2 H_{T2}^2 / 4} \quad (2.14. b)$$

$$\frac{P_{g1}}{D_{T1}^2 H_{T1}^2} = \frac{P_{g2}}{D_{T2}^2 H_{T2}^2} \quad (2.14. c)$$

Dengan mensubstitusikan persamaan 2.13.b pada persamaan 2.14.b maka akan menjadi persamaan 2.15.a.

$$\frac{(m N_P^{0.9}) \rho_L^{0.9} N_1^{3.15} D_{i1}^{5.85}}{Q_1^{0.252} D_{T1}^2 H_{T1}^2} = \frac{(m N_P^{0.9}) \rho_L^{0.9} N_2^{3.15} D_{i2}^{5.85}}{Q_2^{0.252} D_{T2}^2 H_{T2}^2} \quad (2.15. a)$$

Penyederhanaan Persamaan diatas akan digunakan sebagai basis *scale up* dengan membuat parameter  $P_g/V_L = \text{konstan}$ , pada persamaan 12.15.b untuk menentukan kecepatan agitasi dan persamaan 12.15.c untuk menentukan laju aerasi.

$$N_2 = \frac{[(N_1^{3.15} D_{i1}^{5.85} Q_2^{0.252} D_{T2}^2 H_2)]^{\left(\frac{1}{3.15}\right)}}{(D_{i2}^{5.85} Q_1^{0.252} D_{T1}^2 H_1)} \quad (12.15. b)$$

$$Q_2 = \frac{[(N_2^{3.15} D_{i2}^{5.85} Q_1^{0.252} D_{T1}^2 H_1)]^{\left(\frac{1}{0.252}\right)}}{(D_{i1}^{5.85} N_1^{3.15} D_{T2}^2 H_2)} \quad (12.15. c)$$

### 3. *Scale Up* Berdasarkan Kecepatan Superfisial Konstan

Cooper et al. (1944) menunjukkan proporsionalitas efisiensi aerasi antara bioreaktor sebelum dan sesudah *scale up*. Dalam *scale up* basis ini adalah dasar dari konsumsi daya konstan per satuan volume, sehingga perlu mempertahankan kecepatan superficial udara tetap dengan mengubah laju alir udara pada bioreaktor yang lebih besar, ditunjukkan pada persamaan 2.16.a.

$$V_{g1} = V_{g2} \quad (2.16.a)$$

Dengan mensubstitusikan persamaan 2.10 dengan persamaan 2.16.a maka didapatkan persamaan 2.16.b.

$$Q_2 = Q_1 \left( \frac{D_{T2}}{D_{T1}} \right)^2 \quad (2.16.b)$$

### 4. *Scale Up* Berdasarkan $\pi ND_i = \text{konstan}$

Persamaan yang digunakan dengan basis kecepatan ujung impeller (*impeller tip*) berhubungan dengan proses pencampuran (*mixing*) yang dibuat konstan ditunjukkan pada persamaan 2.17.a.

$$V'_{i1} = V'_{i2} \quad (2.17.a)$$

Kecepatan *impeller tip* dinyatakan pada persamaan 2.17.b.

$$V'_i = \pi ND_i \quad (2.17.b)$$

Dengan mensubstitusikan persamaan 2.17.a dengan persamaan 2.17.b didapatkan persamaan 2.18.

$$N_2 = N_1 \left( \frac{D_{i1}}{D_{i2}} \right) \quad (2.18)$$

Dari kriteria- kriteria tersebut diperkirakan sebanyak 30 % industri bioproses menggunakan kriteria tenaga daya per unit volume yang dibuat tetap ( $P/V = \text{konstan}$ ), 30% menggunakan koefisien transfer oksigen tetap, 20% menggunakan kecepatan



ujung pengaduk tetap dan 20 % menggunakan tingkat aerasi tetap dalam peningkatan bioreaktor (Mavituna, 1996).

## 2.6 Kinetika Reaksi Secara Biologis

Persamaan reaksi pada reaksi secara biologi yang melibatkan bakteri adalah:



laju pertumbuhan bakteri pada persamaan biomassa adalah

$$r_X = \mu \cdot X \quad (2.19)$$

Keterangan:  $X$  = konsentrasi bakteri (g/L);  $\mu$  = laju spesifik pertumbuhan maksimum bakteri (1/s)

laju spesifik pertumbuhan bakteri dapat dihitung menggunakan persamaan monod:

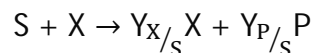
$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} \quad (2.20)$$

Keterangan:  $S$  = konsentrasi substrat (g/L);  $K_S$  = konstanta monod (g/L);  $\mu_{\max}$  = laju spesifik pertumbuhan maksimum bakteri (1/s)

dengan mensubstitusikan persamaan 2.19 dan 2.20 maka laju pertumbuhan bakteri akan menjadi:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} X \quad (2.21)$$

Persamaan reaksi biomassa sebelumnya secara stoikiometrik dapat dibuat menjadi:



Reaksi biomassa yang terjadi menghasilkan penambahan jumlah biomassa, konsumsi substrat dan pembentukan produk. Hubungan reaksi stoikiometrik dinyatakan dengan koefisien *yield*. Koefisien *yield* bakteri dan substrat glukosa adalah:

$$Y_{x/s} = \frac{\text{jumlah sel yang terbentuk}}{\text{jumlah substrat yang dikonsumsi}} = -\frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (2.22)$$

sehingga laju konsumsi substrat dinyatakan menjadi:

$$-\frac{dS}{dt} = Y_{s/x} \frac{dX}{dt} \quad (2.23)$$

substrat tidak hanya dikonsumsi untuk membentuk sel bakteri baru tetapi juga dikonsumsi untuk menjaga aktivitas sel bakteri yang sudah ada, yang dinyatakan dengan koefisien *maintenance*:

$$m = \frac{\text{jumlah substrat yang dikonsumsi per waktu}}{\text{jumlah sel}} \quad (2.24)$$

laju konsumsi substrat untuk *maintenance* bakteri pada saat tidak terjadi pertumbuhan bakteri adalah

$$-\frac{dS_m}{dt} = m X \quad (2.25)$$

dengan memperhitungkan konsumsi substrat untuk pembentukan jumlah bakteri yang baru dan *maintenance* aktivitas jumlah bakteri pada persamaan 2.25, maka laju konsumsi substrat pada persamaan 2.23 menjadi :

$$-\frac{dS}{dt} = Y_{s/x} \frac{dX}{dt} + m X \quad (2.26)$$

pembentukan produk terbentuk akibat aktivitas pertumbuhan sel bakteri, selama sel bakteri pada fase pertumbuhan eksponensial, secara stoikiometrik:

$$\frac{dP}{dt} = Y_{P/x} \frac{dX}{dt} \quad (2.27)$$

dengan stoikiometri koefisien *yield* antara jumlah produk dan sel bakteri yang terbentuk adalah:

$$Y_{P/x} = \frac{\text{jumlah produk terbentuk}}{\text{jumlah sel yang terbentuk}} = \frac{\Delta P}{\Delta X} \quad (2.28)$$

saat sel bakteri mencapai fase pertumbuhan stasioner dan tidak terjadi pertumbuhan bakteri lagi maka laju pembentukan produk:

$$\frac{dP}{dt} = Y_{P/S} - \frac{dS}{dt} \quad (2.29)$$

dengan stoikiometri koefisien *yield* antara jumlah produk yang terbentuk dan konsumsi substrat adalah:

$$Y_{P/S} = \frac{\text{jumlah produk terbentuk}}{\text{jumlah substrat yang dikonsumsi}} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (2.30)$$

laju terbentuknya produk dengan menggunakan parameter pertumbuhan bakteri (*growth*,  $\alpha$ ) dan pada saat mencapai fase stasioner (*non-growth*,  $\beta$ ) dinyatakan dengan menggunakan persamaan Luedeking-Piret. Laju spesifik pembentukan produk adalah:

$$q_P = \alpha\mu + \beta \quad (2.31)$$

dengan laju pembentukan produk:

$$\frac{dP}{dt} = q_P X \quad (2.32)$$

dengan mensubstitusikan persamaan 2.31 dan 2.32 maka laju pembentukan produk:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \quad (2.33)$$

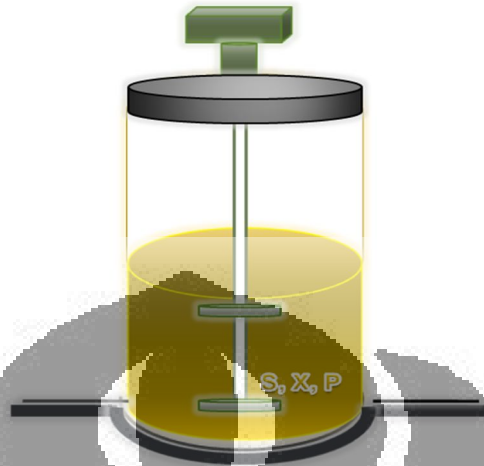
## 2.7 Neraca Massa

Pada proses fermentasi pada sistem bioreaktor, *material balance* menggunakan pendekatan:

Laju akumulasi reaktan

$$= \text{Laju alir masukan reaktan} - \text{Laju alir keluaran reaktan} \\ - \text{Laju kehilangan reaktan}$$

### 2.7.1 Neraca Massa Bioreaktor Batch



**Gambar 2.8** Skematik neraca massa bioreaktor batch

Keterangan: S= Konsentrasi substrat (g/L), X= Konsentrasi sel bakteri (g/L),  
P=Konsentrasi produk (g/L)

Asumsi: Tidak terdapat laju alir masuk dan keluar komponen, pencampuran homogeny dan selama proses volume kerja bioreaktor tetap.

#### Neraca massa sel bakteri

Laju akumulasi sel

= laju alir sel masuk bioreaktor – laju alir keluaran sel  
+ laju pertumbuhan bakteri

$$V \frac{dX}{dt} = \left( \frac{F_0}{V} X_0 \right) V - \left( \frac{F}{V} X \right) V + (r_x - r_d) V \quad (2.34)$$

Pada proses ini tidak ada laju alir bakteri yang masuk dan keluar dari bioreaktor ( $F_0=F=0$ ), volume bioreaktor tetap dan dengan mengasumsikan mengabaikan laju kematian bakteri ( $r_d=0$ ) maka persamaan laju akumulasi sel menjadi:

$$\frac{dX}{dt} = r_x \quad (2.35)$$

dengan mensubstitusikan persamaan 2.21 ke persamaan 2.35 maka kinetika pertumbuhan sel bakteri pada proses batch adalah:

$$\frac{dX}{dt} = r_x = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} X \quad (2.36)$$

### Neraca massa substrat

Laju akumulasi substrat

- = laju alir substrat masuk bioreaktor – laju alir keluaran substrat
- laju konsumsi glukosa oleh sel bakteri

$$V \frac{dS}{dt} = \left(\frac{F_0}{V} S_0\right) V - \left(\frac{F}{V} X\right) V - r_s V \quad (2.37)$$

Pada proses ini tidak ada laju alir substrat yang masuk dan keluar dari bioreaktor ( $F_0=F=0$ ) dan volume bioreaktor tetap, maka:

$$-\frac{dS}{dt} = r_s \quad (2.38)$$

dengan mensubstitusikan persamaan 2.26 ke persamaan 2.38 maka kinetika konsumsi substrat pada proses batch adalah:

$$-\frac{dS}{dt} = r_s = Y_{s/x} \frac{dX}{dt} + m X \quad (2.39)$$

### Neraca massa produk

Laju akumulasi produk

- = laju alir produk masuk bioreaktor – laju alir keluaran produk
- + laju pembentukan asam laktat

$$V \frac{dP}{dt} = \left(\frac{F_0}{V} P_0\right) V - \left(\frac{F}{V} P\right) V + r_p V \quad (2.40)$$

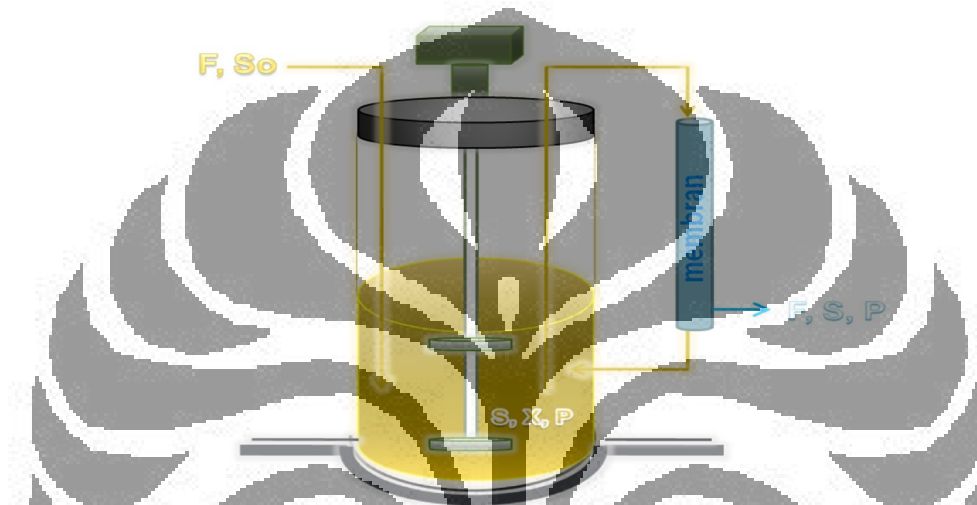
Pada proses ini tidak ada laju alir produk yang masuk dan keluar dari bioreaktor ( $F_0=F=0$ ) dan volume bioreaktor tetap, maka:

$$\frac{dP}{dt} = r_p \quad (2.41)$$

dengan mensubstitusikan persamaan 2.33 ke persamaan 2.40 maka kinetika laju pembentukan produk pada proses batch adalah:

$$\frac{dP}{dt} = r_P = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \quad (2.42)$$

### 2.7.2 Neraca Massa Bioreaktor Kontinu



**Gambar 2.9** Skematik neraca massa bioreaktor kontinu

Keterangan: S= Konsentrasi substrat (g/L), X= Konsentrasi sel bakteri (g/L), P=Konsentrasi produk (g/L), F= laju alir (L/jam)

Asumsi: Sistem kesetimbangan meliputi laju alir masuk dan keluar dari bioreaktor dan membran (volume membran diabaikan). Adanya membran memisahkan media dan bakteri, keluaran dari membran hanya media dan sel bakteri akan dikembalikan (*recycle*) ke dalam bioreaktor. Bioreaktor tersebut dimodelkan dengan sistem pencampuran yang homogen. Volume kerja bioreaktor tetap.

#### Neraca massa sel bakteri

Pada proses ini tidak ada laju alir bakteri yang masuk dan keluar dari bioreaktor ( $F_0=F=0$ ), bakteri tidak ada yang keluar ( $X=0$ ), volume bioreaktor tetap dan dengan

mengasumsikan mengabaikan laju kematian bakteri ( $r_d=0$ ) maka dari persamaan 2.34 laju akumulasi sel menjadi:

$$\frac{dX}{dt} = r_x \quad (2.43)$$

dengan mensubstitusikan persamaan 2.21 ke persamaan 2.43 maka kinetika pertumbuhan sel bakteri pada proses kontinu adalah:

$$\frac{dX}{dt} = r_x = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} X \quad (2.44)$$

#### **Neraca massa substrat glukosa**

Glukosa sebagai substrat dialirkan masuk bioreaktor dan juga merupakan keluaran dari membran volume bioreaktor tetap, maka dari persamaan 2.37 laju konsumsi substrat menjadi:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} (S_0 - S) - r_s \quad (2.45)$$

dengan mensubstitusikan persamaan 2.21 ke persamaan 2.45 maka kinetika konsumsi substrat pada proses kontinu adalah:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} (S_0 - S) - \left( Y_{s/x} \frac{dX}{dt} + m X \right) \quad (2.46)$$

#### **Neraca massa produk**

Pada proses ini tidak ada laju alir produk yang masuk, karena merupakan produk yang terbentuk ( $F_0=0$ ) dan volume bioreaktor tetap maka dari persamaan 2.40 laju pembentukan produk menjadi

$$\frac{dP}{dt} = r_p - \frac{F}{V} P \quad (2.47)$$

dengan mensubstitusikan persamaan 2.21 ke persamaan 2.47 maka kinetika laju pembentukan produk asam laktat pada proses kontinu adalah:

$$\frac{dP}{dt} = \left( \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \right) - \frac{F}{V} P \quad (2.48)$$

## 2.8 State of The Art Penelitian

Proses ekstraksi kitin di industri saat ini dilakukan secara kimiawi menggunakan 1- 10% asam klorida (HCl) untuk proses demineralisasi dan 1- 10% natrium hidroksida (NaOH) untuk deproteinisasi. Menurut Toan et al., (2006) dan Mahmoud et al., (2007), ekstraksi secara kimiawi dapat mempengaruhi sifat fisika-kimia kitin, diantaranya dapat menghidrolisis rantai  $\beta$ -glikosidik sebagai rantai utama kitin, sehingga terjadi penurunan berat molekul, viskositas dan derajat deasetilasi kitin, yang berakibat rendahnya kualitas kitin

Akibat pengaruh negatif proses kimiawi tersebut, maka banyak penelitian dilakukan untuk memperbaiki proses kimiawi dengan melakukan proses secara biologi menggunakan bakteri. Jung et al., (2005), demineralisasi menggunakan *L. paracasei* subsp. *Tolerans* KCTC-3074, dapat menurunkan mineral 81 %. Kemudian Beaney et al., (2005), menggunakan konsorsia berbagai bakteri, dapat menurunkan mineral 77,16 % dan protein sebesar 49,37 %. Jung et al., (2005), menggunakan konsorsia *L. paracasei* subsp. *Tolerans* KCTC-3074 dan *Serratia marcescens*, dapat menurunkan mineral sekitar 97,2 % dan protein 52, 6% setelah 7 hari proses. Selanjutnya penelitian dilakukan oleh Rao dan Stevens (2005), demineralisasi menggunakan *L. plantarum* 541, berhasil menurunkan mineral sebesar 88%.

Rao dan Stevens (2006), demineralisasi menggunakan *L. plantarum*, berhasil menurunkan mineral sebesar 81,4 % sedangkan proses deproteinisasi *Pediococcus acidolactici* CFR2182 dapat menurunkan mineral 72,5% dan protein 97,9%. Kemudian Waldeck et al., (2006), menggunakan *Bacillus licheniformis* mampu menurunkan protein sebesar 97,5 %.

Penelitian demineralisasi yang dilakukan Choirit et al., (2008), menggunakan *Pediococcus* sp dapat menurunkan mineral 83,47%. Juaninto (2008), proses demineralisasi dan deproteinisasi menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.1 dapat menurunkan mineral 95,69% dan protein 92,42%.



Penelitian yang telah dijelaskan tersebut dilakukan dengan sistem bioreaktor batch dan waktu yang dibutuhkan cukup lama hingga 7 hari. Untuk meningkatkan kecepatan tingkat purifikasi Deden, (2009), melakukan fermentasi kontinu dengan mengalirkan media substrat untuk mempertahankan jumlah bakteri tetap konstan selama proses fermentasi dan menghilangkan kandungan mineral 92, 5% selama 48 jam dan 91, 4% protein selama 96 jam.

Menurut Kao et al, (2006), menggunakan membran keramik mikrofiltrasi pada proses kontinu untuk mencapai *high cell density* meningkatkan enzim chitinase sebanyak 78 %. Sehingga untuk meningkatkan tingkat purifikasi dan mempercepat waktu fermentasi, proses fermentasi demineralisasi dan deproteinisasi kontinu oleh *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.1 dengan menggunakan membran keramik mikrofiltrasi untuk mencapai *high cell density* akan diterapkan.

Setelah mendapatkan kondisi yang optimal dari proses fermentasi tersebut maka perlu dilakukan proses *scale up* dengan kapasitas volume bioreaktor yang besar. Menurut Mavituna, (2006), 30 % keberhasilan desain bioreaktor *scale up* menggunakan kriteria tenaga daya per unit volume yang dibuat tetap ( $P/V = \text{konstan}$ ), 30% menggunakan koefisien transfer oksigen tetap, 20% menggunakan kecepatan ujung pengaduk tetap dan 20 % menggunakan tingkat aerasi tetap dalam peningkatan bioreaktor. Untuk melakukan eksperimen *scale up* perlu dilakukan prediksi kondisi operasi pada bioreaktor yang akan dilakukan berdasarkan parameter *scale up* oleh Mavituna, (2006), sebagai variasi kondisi yang akan diterapkan pada proses eksperimen.

**Tabel 2.6** Pemetaan penelitian demineralisasi dan deproteinisasi

<b>Peneliti</b>	<b>Penelitian</b>	<b>Hasil</b>	<b>Tahun</b>
Toan et al Mahmoud et al	Ekstraksi kitin secara kimiawi	Menurunkan Protein (NaOH) dan Mineral (HCl) namun mencemari lingkungan dan kualitas kitin rendah	2006 2007
Jung et al	Demineralisasi batch menggunakan <i>L. Paracasei</i>	Menurunkan mineral 81%	2005
Beaney	Demineralisasi batch (Tolerans KCTC-3074), Deproteinisasi ( <i>Serratia marcescens</i> )	Menurunkan Mineral 97,2%, Protein 52,6%	2005
Rao dan Steven	Demineralisasi batch Menggunakan <i>L. Plantarum</i> , Deproteinisasi ( <i>L. Plantarum</i> strain 541 dan A6)	Menurunkan Mineral 81,4%, Protein 59,8% , 52,2 %	2005
Waldeck et al	Demineralisasi ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ), Deproteinisasi ( <i>B.licheniformis</i> )	Menurunkan mineral 92%, protein 97,5%	2006
Choorit et al	Demineralisasi batch ( <i>Pediococcus</i> )	Menurunkan mineral 83,47 %	2008
Juaninto	Demineralisasi subsequent batch ( <i>L acidophilus</i> ), Deproteinisasi ( <i>B.licheniformis</i> )	Menurunkan mineral 95,69%, protein 92,42%	2008

Peneliti	Penelitian	Hasil	Tahun
Deden	Demineralisasi Kontinu, Demineralisasi ( <i>L.acidophilus</i> ), Deproteinisasi ( <i>B.Licheniformis</i> )	Menurunkan mineral 92,5 % , protein 91,4 % (waktu yang dibutuhkan cukup lama)	2009
Kao et al.	Fermentasi Kontinu <i>high cell density</i> menggunakan membran keramik ( <i>Paenabacillus</i> sp.CHE-N1 )	Meningkatkan enzim chitinase 78 % daripada batch, dengan kenaikan jumlah bakteri signifikan	2006
Mavituna	Kriteria desain bioreaktor untuk produksi	30 % keberhasilan desain bioreaktor <i>scale up</i> menggunakan kriteria tenaga daya per unit volume yang dibuat tetap ( $P/V = \text{konstan}$ ), 30% menggunakan koefisien transfer oksigen tetap, 20% menggunakan kecepatan ujung pengaduk tetap dan 20 % menggunakan tingkat aerasi tetap dalam peningkatan bioreaktor	2006

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada Februari 2010 hingga Mei 2010 di Laboratorium Pengkajian Teknologi Industri Agro dan Biomedika (LAPTIAB), Sub. Laboratorium Teknologi Bioindustri (LTB) Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), kawasan Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (PUSPITEK) Serpong, Tangerang.

### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian Eksperimental pada Bioreaktor 12 L

Kulit udang yang digunakan adalah kulit udang vannamei (*Penaeus vannamei*) diperoleh dari industri pengolahan udang beku PT Wironono Baru, Jakarta Utara. Bahan kimia yang digunakan adalah glukosa, ekstrak khamir, pepton, NaCl,  $MgCl_2 \cdot 7H_2O$ ,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , NaOH, Azokasein, TCA (*Tri Chloro Acetic acid*), BSA (*Bovine Serum Albumin*), NaOH, asam asetat dan lain- lainnya.

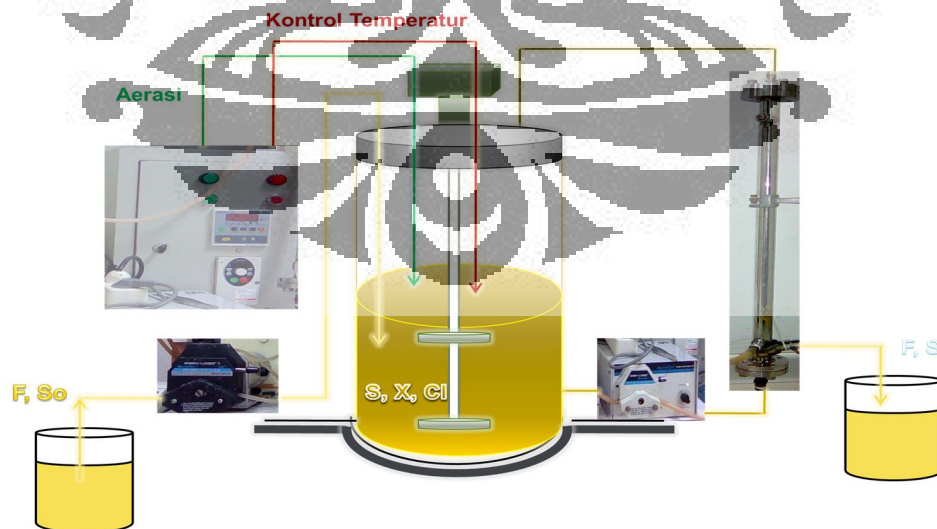
Alat yang digunakan yaitu fermentor berpengaduk *flat blade disk turbine* volume 12 Liter (Biostat, B, Braun *Biotech International*, Germany), membran keramik mikrofiltrasi, *autoclave*, tabung reaksi, pembakar Bunsen, cawan petri, cawan porselin, sentrifuge Hitachi Nimac CR 21G, corong, pH meter (Orion), spektrofotometer (Novaspec II, Hitachi UV-Vis 2000), Erlenmeyer (Pyrex), alat pengering, infra-red, tanur, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*, Hitachi-Merck), inkubator *shaker, eppendorf*, gelas ukur dan lain- lainnya.

Inokulum didapatkan dari mikroba dan diinokulasi. Mikroba yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus FNCC 116* (Koleksi Kultur Mikroba Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta) dan *Bacillus licheniformis F11.1 F11.1* (Koleksi Kultur Mikroba Laboratorium Bioindustri, BPP teknologi), kedua galur mikroba tersebut disimpan di suhu  $-80^{\circ}C$  pada gliserol 10 % (v/v) (*BDH Laboratory Supplies, England*). Untuk mempersiapkan inokulum, dari

stok kultur dilakukan subkultur selama 16 jam pada dua labu Erlenmeyer 1 (satu) Liter yang masing- masing mengandung 200 mL media pertumbuhan cair LB (*Luria Bertani*) untuk *Bacillus licheniformis* F11.1 dan media MRS (*deMann Rogosa Sharpe*) untuk *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37<sup>0</sup>C, yang bertujuan supaya didapatkan biakan mikroba dengan konsentrasi 10<sup>7</sup> CFU/ mL sebagai kultur stok yang disimpan pada temperature -20<sup>0</sup>C.

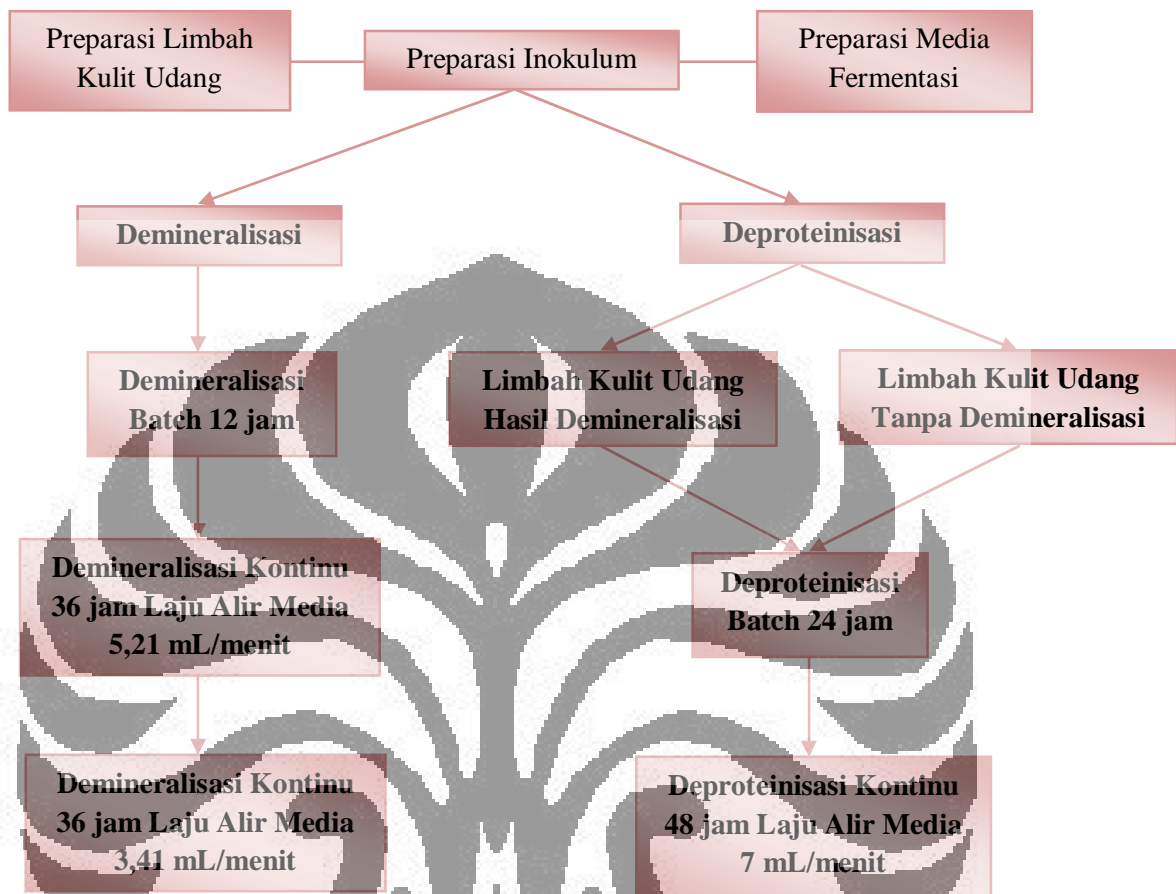
Media Fermentasi sebagai nutrisi bagi perkembangan mikroba. Komposisi media fermentasi untuk proses demineralisasi kulit udang menggunakan mikroba *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 pada awal proses *batch* adalah glukosa 6% (b/v), ekstrak khamir 0,05% (b/v) dan kulit udang 30% (b/v). Sedangkan proses deproteinisasi menggunakan mikroba *Bacillus licheniformis* F11.1 adalah ekstrak khamir, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5% (b/v), NaCl 0,5% (b/v), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,05% (b/v), CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,1% (b/v). Kondisi proses demineralisasi dilakukan pada pH 7 (pH awal), temperatur 30<sup>0</sup>C, dengan agitasi 60 rpm dengan kombinasi waktu tinggal media 16 jam dan 24 jam. Kondisi deproteinisasi dilakukan pada pH 7 (pH awal), temperatur 30<sup>0</sup>C, dengan agitasi 250 rpm dengan kombinasi material kulit udang hasil demineralisasi dan tanpa demineralisasi.

Skematik penelitian ini, fermentasi kontinu dengan menggunakan membran mikrofiltrasi ditunjukkan pada Gambar 2.8.



**Gambar 3.1** Skematik peralatan fermentasi kontinu *high cell density*

### 3.3 Metode Penelitian Eksperimental pada Bioreaktor 12 L



Gambar 3.2 Skematik tahapan penelitian demineralisasi dan deproteinisasi kontinu

### 3.4 Eksperimen Demineralisasi pada Bioreaktor 12 L

Tujuan percobaan adalah untuk mengetahui pengaruh kondisi optimal laju umpan media glukosa sistem pada proses fermentasi demineralisasi kontinu *high cell density* untuk mendapatkan penghilangan kandungan abu  $\geq 99\%$ . Proses fermentasi diawali dengan *batch*. Fermentasi secara *batch*, pada fermentor disiapkan media (glukosa 6% b/v dan kulit udang 30% b/v dan diinokulasi dengan jumlah inokulum (10% v/v). Fermentasi dilangsungkan pada suhu 30°C dan pH 6-6,5 (pH dijaga dengan penambahan 10 M NaOH) dengan variasi putaran dalam fermentor tanpa

aerasi. Dalam hal ini akan dianalisis parameter-parameter yang diuji (kadar asam laktat, kadar abu, kerapatan jumlah sel *L. acidophilus* FNCC 116, kadar glukosa) tersebut sehingga akan diketahui pola perubahannya. Pengukuran parameter dilakukan setiap 6 jam sekali.

Prosedur percobaan : Kulit udang yang diperoleh dari pabrik pembekuan udang PT Wirontono Baru- Jakarta Utara, dicuci bersih kemudian dilakukan pengecilan ukuran, setelah itu disaring dengan kawat saringan ukuran 0,5 – 1 cm. Selanjutnya ditimbang sebanyak 300 gram dan dikemas dalam kantong plastik untuk disimpan dalam *freezer* pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai siap digunakan dalam proses fermentasi.

Pembuatan *starter* bakteri *L. acidophilus* FNCC 116 berdasarkan prosedur Jung *et al.* (2005), dengan mengambil sebanyak 10 mL biakan bakteri *L. acidophilus* FNCC 116 dari kultur stok yang disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ , kemudian dikulturasikan dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 90 mL MRS (*deMann Rogosa Sharpe*). Proses inkubasi dilakukan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 16- 18 jam dalam inkubator *shaker* 50 rpm. Selanjutnya, *starter* bakteri tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer 5 L yang berisi 900 mL larutan MRS. Kemudian diinkubasikan pada kondisi yang sama sampai diperoleh nilai *optical density* (OD) 0,85 sebagai inokulum. Lama waktu yang diperlukan untuk mencapai nilai OD 0,85 sekitar 8-12 jam, dengan tingkat kepadatan sel adalah  $10 \times 10^8$  cfu/mL.

Perlakuan (proses demineralisasi *batch* tersebut) diatas dilakukan pada kecepatan agitasi 50 rpm. Berdasarkan penelitian sebelumnya laju alir media glukosa dilakukan pada jam ke 12, pada saat itu sistem kontinu telah berjalan (Deden, 2009). Sistem fermentasi secara bersamaan dilengkapi dengan membran mikrofiltrasi sebagai filter bakteri. Kemudian akan dilakukan variasi waktu tinggal media glukosa di dalam bioreaktor berdasarkan kondisi optimal penelitian sebelumnya selama 16 jam (laju alir media 5,21 mL/menit) (Deden, 2009) dan 24 jam (laju alir media 3,42 mL/menit) (Junianto, 2008).

**Tabel 3.1** Proses demineralisasi kulit udang secara kontinu sistem *high cell density*

Komponen	Optimasi deproteinisasi kontinu
Mikroba	<i>L. acidophilus FNCC 116</i> (mikroaerofilik)
Jenis bioreaktor	STR, vol. 12 L, flat blade disk turbine (volume kerja 5 L)
Kondisi fermentasi	pH 6-6,5, temp. 30 <sup>0</sup> C, 50 rpm, 48 jam (12 jam <i>batch</i> , 36 jam kontinu)
Media (b/v)	Glukosa 6%, ekstrak khamir 0,05%, kulit udang 30 %
Variasi penelitian	Konsentrasi glukosa yang berbeda dan waktu tinggal yang berbeda
Pengamatan fermentasi	Konsentrasi asam laktat, kandungan glukosa, abu, jumlah sel, kandungan abu

### 3.5 Eksperimen Deproteinisasi pada Bioreaktor 12 L

Tujuan percobaan adalah untuk mengetahui pengaruh proses fermentasi deproteinisasi kontinu *high cell density* terhadap fleksibilitas penggunaan limbah kulit udang hasil dan tanpa demineralisasi terlebih dahulu, sehingga didapatkan penghilangan kandungan protein  $\geq 99\%$ . Proses fermentasi diawali dengan fermentasi *batch*. Secara *batch*, pada fermentor disiapkan media (glukosa 5% b/v dan kulit udang 30% b/v) dan diinokulasi dengan jumlah inokulum (20 %). Pada fermentor diberikan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5% (w/v), ekstrak khamir 0.5% (w/v), NaCl 0.5% (w/v),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05% (w/v),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1% (w/v) sebagai faktor *growth rate*.

Fermentasi dilangsungkan pada suhu 37<sup>0</sup>C dengan berbagai variasi putaran (225 dan 300 rpm), pH dipertahankan 7,5- 8 (pH dijaga dengan penambahan 1M Asam asetat) dan laju aerasi 2 vvm. Fermentor diaduk dengan menggunakan pengaduk *flat blade disk* turbine. Dalam hal ini akan dianalisis parameter- parameter yang diuji (kadar protein, kandungan abu, aktivitas enzim protease dan kerapatan jumlah sel *B. Licheniformis F11.1*) tersebut sehingga akan diketahui pola perubahannya. Pengukuran parameter dilakukan setiap 6 jam sekali.



Pembuatan *starter* bakteri *B. Licheniformis F11.1* berdasarkan prosedur Waldeck *et al.* (2006), diambil 5 mL bakteri *B. Licheniformis F11.1* dari kultur stok kemudian dikulturasikan dalam erlenmeyer 1000 mL yang diisi 195 mL media LB (*Luria Bertani*) steril. Komposisi media LB terdiri dari dari pepton 10 g/L, ekstrak khamir 5 g/L, NaCl 5 g/L dengan pH 7,3. Setelah itu, diinkubasikan dalam inkubator shaker 180 rpm selama 6 jam pada suhu 37°C.

Penyiapan inokulum: *starter* 200 mL dimasukkan ke dalam 800 mL media LB steril pH 7,3. Kemudian diinkubasi dalam inkubator shaker agitasi 180 rpm, dan 37°C, sampai diperoleh *optical density* (OD) inokulum 0,9 dengan tingkat kepadatan mencapai  $10^8 \times 10^8$  cfu/ mL.

Perlakuan (proses deproteinisasi *batch* tersebut) diatas dilakukan pada kecepatan agitasi 250 rpm. Berdasarkan penelitian sebelumnya laju alir media dilakukan pada jam ke 24, pada saat itu sistem kontinu telah berjalan (Deden, 2009). Sistem fermentasi secara bersamaan dilengkapi dengan membran mikrofiltrasi sebagai filter bakteri. Pada penelitian ini akan dilakukan variasi eksperimen dengan menggunakan limbah kulit udang hasil demineralisasi terlebih dahulu dan tanpa demineralisasi sebagai limbah kulit udang proses deproteinisasi.

**Tabel 3.2** Proses deproteinisasi kulit udang secara kontinu sistem *high cell density*

Komponen	Optimasi deproteinisasi kontinu
Mikroba	<i>B. licheniformis F11.1</i> (aerob)
Jenis Fermentor	STR, vol. 12 L, flat blade disk turbine (volume kerja 5 L)
Kondisi fermentasi	pH 7,5-8, temp. 37°C, 250 rpm, 2 vvm, 96 jam (24 jam kontinu)
Media (b/v)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.5% (w/v), ekstrak khamir 0.5% (w/v), NaCl 0.5% (w/v), MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0.05% (w/v), CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O 0.1% (w/v), kulit udang 30 %
Variasi eksperimen	Limbah kulit udang hasil demineralisasi dan tanpa demineralisasi
Pengamatan fermentasi	Konsentrasi protein, aktivitas enzim, abu, jumlah sel

### 3.6 Parameter Pengamatan Eksperimental Bioreaktor 12 L

Untuk menentukan keberhasilan proses demineralisasi dan deproteinisasi secara kontinu maka pada setiap tahapan proses dilakukan pengamatan beberapa parameter terhadap kulit udang dan cairan fermentasi baik sebelum, selama dan setelah proses demineralisasi maupun deproteinisasi. Pada proses demineralisasi dilakukan pengamatan parameter kandungan glukosa, asam laktat, protein, abu dan jumlah sel. Pada proses deproteinisasi dilakukan pengamatan aktivitas enzim, jumlah sel, kandungan abu dan protein. Pada produk akhir dilakukan dengan pengamatan parameter kandungan abu, protein dan kitin.

#### 3.6.1 Penentuan Kandungan Glukosa dan Asam Laktat

Analisa glukosa dan asam laktat selama proses demineralisasi dilakukan menggunakan HPLC (Hitachi) dengan menggunakan kolom Animex HPX-87H (300 mm x 7,8 mm), suhu 65<sup>0</sup> C (L-5025-Column Thermostat), fasa gerak isokratik menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005 N dengan laju alir 0,6 mL/menit (L-6200A-Pump-Hitachi), menggunakan detector glukosa *differential refractometer* RI-71 (Merck). Standar yang digunakan adalah glukosa 1% (Glucose, Sigma Aldrich) asam laktat 10% (L-Lactic Acid, Oxoid).

Sampel sebelum dianalisis disentrifuge 14.000 rpm, kemudian supernatant disaring dengan mikrofilter yang berukuran 0,2 μ supaya terbebas dari partikel pengotor. Sampel kemudian diinjeksikan kedalam kolom sebanyak 10μL, analit yang keluar dari kolom dideteksi oleh RI detector serta signal dari detector diolah dan dicetak oleh integrator D-2500 (Chomato-Integrator, Merk Hitachi) dalam bentuk kurva luas area dan data kadar glukosa dan asam laktat, perhitungan kadar glukosa dan asam laktat dalam contoh menggunakan persamaan 3.1.

$$\text{Analit} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{konsentwasi standar} \times F_p \quad (3.1)$$

$F_p$  = Faktor pengenceran

### 3.6.2 Penentuan Kandungan Abu Kulit Udang

Abu merupakan sisa hasil pembakaran suatu bahan organik, kandungannya dan komposisinya tergantung pada macam bahan dan cara pengabuannya, kadar abu merupakan salah satu metode perhitungan jumlah mineral yang terkandung dalam suatu bahan (Waldeck *et al.* 2006). Adapun cara kerja penentuan kadar abu dari contoh kulit udang selama proses demineralisasi dan deproteinisasi menurut AOAC (1984) adalah tempatkan 1 gram contoh kulit udang kering dalam cawan crucible yang telah distandarkan beratnya sampai konstan, tempatkan cawan crucible yang berisi contoh di dalam furnace dan panaskan pada suhu 800<sup>0</sup> C selama 3 jam, angkat dan biarkan sampai dingin pada pengering atau desikator, kemudian timbanglah crucible yang berisi abu dengan hati-hati. Perhitungan kadar abu hasil pengabuan pada furnace dihitung dengan menggunakan persamaan 3.2.

$$\text{Abu (\%)} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100\% \quad (3.2)$$

$m_1$  = berat cawan crucible dan sampel (g)

$m_2$  = berat cawan crucible dan abu (g)

$m$  = berat cawan (g)

Untuk menghitung berat abu yang berkurang menggunakan persamaan dibawah ini:

$$\text{Tingkat hilangnya abu (\%)} = \frac{\text{kadar abu awal} - \text{kadar abu akhir}}{\text{kadar abu awal}} \times 100\%$$

### 3.6.3 Penentuan Kandungan Protein Kulit Udang

Kadar protein tidak terlarut (protein kulit udang) selama proses demineralisasi dan deproteinisasi diukur dengan metode Lowry (Waldeck *et al.* 2006). Sebanyak 0,5 gram sampel kulit udang dikeringkan terlebih dahulu kemudian ditambahkan 7,5 mL NaOH 1 M dan diinkubasikan pada suhu 55<sup>0</sup>C selama 24 jam. Filtrat protein kulit udang sebanyak 30 µL direaksikan dengan 270 µL larutan PBS (*Posphate Bufferered Ssaline*) dan 3 mL larutan Lowry, kemudian diinkubasikan pada suhu ruang selama 10 menit. Filtrat tersebut kemudian ditambahkan 100 mL reagen folin-cocealteaus

dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 30 menit, selanjutnya pengukuran absorbansi dilakukan pada  $\lambda$  750 nm.

Konsentrasi protein tidak terlarut diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi  $\lambda$  750 nm pada kurva standar BSA (Bovine Serum Albumin), selanjutnya kadar protein kulit udang dihitung berdasarkan persamaan 3.3.

$$P = \frac{\text{Konsentrasi protein} \times V_{\text{NaOH}} F_P}{1000 \times S} \quad (3.3)$$

$P$  = Kadar Protein (%)

$V_{\text{NaOH}}$  = Volume NaOH (7,5 mL)

$F_P$  = Faktor Pengenceran

$S$  = Berat Sampel (0,5 g)

Untuk menghitung protein yang berkurang menggunakan persamaan dibawah ini:

Tingkat hilangnya protein (%)

$$= \frac{\text{kadar protein awal} - \text{kadar protein akhir}}{\text{kadar protein awal}} \times 100\%$$

#### 3.6.4 Penentuan Aktivitas Protease

Aktivitas enzim protease diuji menggunakan azocasein, Sigma-Aldrich (Waldeck *et al.* 2006). 25  $\mu\text{L}$  ekstrak enzim (supernatant) direaksikan dengan 50  $\mu\text{L}$  *enzyme buffer*/ Tris-HCl 0,1 M (pH 7,8) dan 150  $\mu\text{L}$  larutan azocasein (Sigma-Aldrich). Campuran tersebut diinkubasikan selama 10 menit dengan suhu ruangan 37°C. Kemudian reaksi dihentikan dengan mereaksikan 400  $\mu\text{L}$  6 % *trichloroacetic acid*. Selanjutnya sampel disentrifugasi pada 13.000 selama 10 menit pada suhu ruang. Supernatan diambil sebanyak 750  $\mu\text{L}$  dan direaksikan dengan 250  $\mu\text{L}$  NaOH 0,5 M. Setelah itu diukur tingkat absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada 440 nm. Satu unit aktivitas enzim protease (PAU) didefinisikan sebagai jumlah enzim yang ditunjukkan dengan perubahan tingkat absorbansi. Satu unit enzim protease sama dengan jumlah 1  $\mu\text{mol}$  azocasein yang dihasilkan per menit.

Aktivitas protease dihitung dengan persamaan 3.4:

$$P \left( \frac{U}{mL} \right) = \frac{\frac{(A_{440} - LW)}{\varepsilon \cdot d} \times \frac{V_E}{V_P} \times 1000 \times VF}{Z} \quad (3.4)$$

$P =$  Aktivitas protease  $\left( \frac{U}{mL} \right)$

$V_E =$  Volume akhir (1 mL)

$V_P =$  Volume yang bereaksi (0,4 mL)

$Z =$  Waktu inkubasi (10 menit)

$A_{440} =$  Absorbansi pada  $\lambda$  440 nm

$LW =$  Absorbansi blanko

$\varepsilon =$  Koefisien  $\left( 38 \frac{L}{mol \cdot cm} \right)$

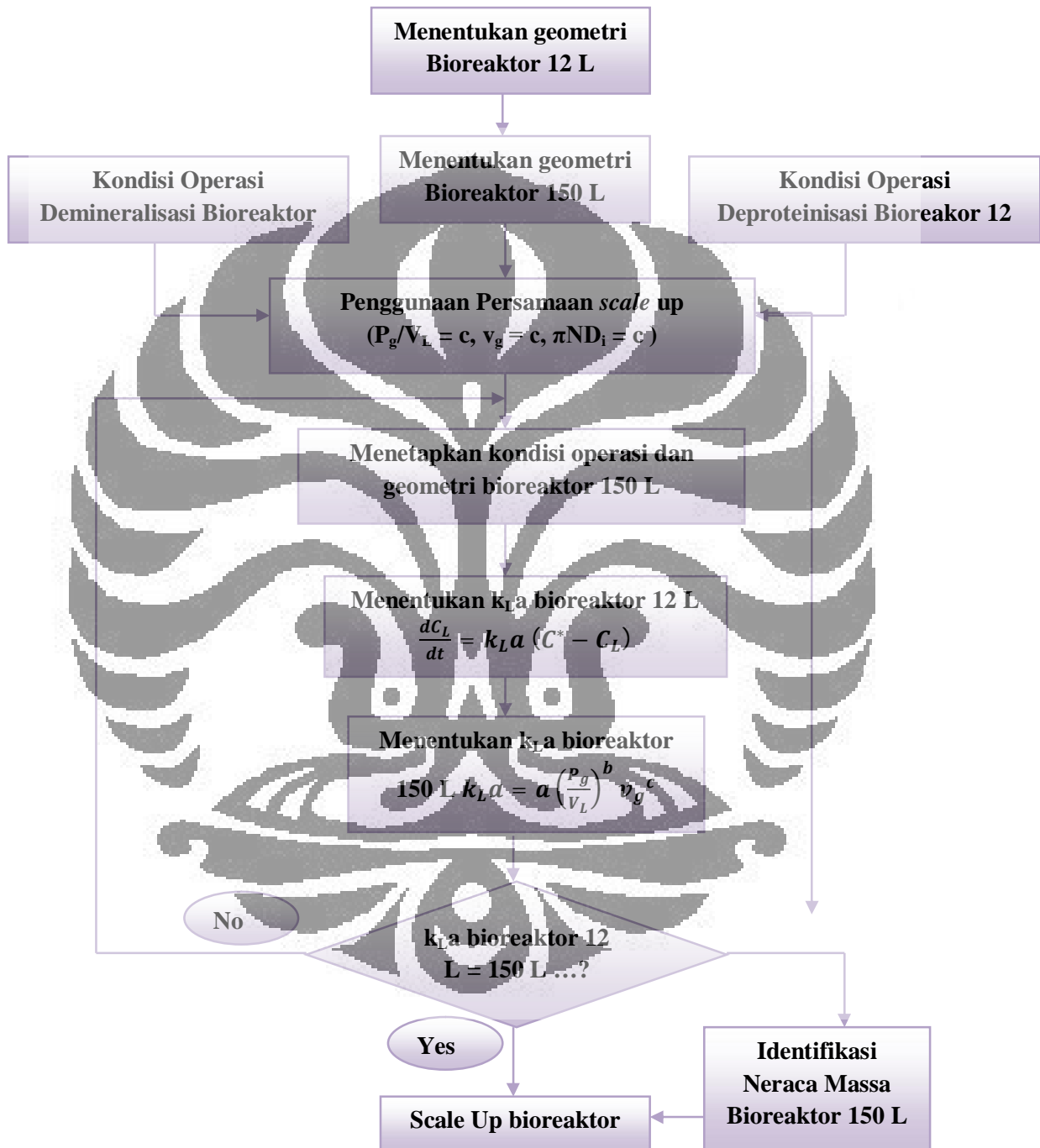
$d =$  ketebalan kuvet (1 cm)

### 3.6.5 Penentuan Jumlah Sel Mikroba

Penghitungan jumlah sel bakteri dilakukan menggunakan metode ALT (Angka Lempeng Total). Sebanyak 100  $\mu$ L kultur bakteri diencerkan dalam 900  $\mu$ L akuades steril secara bertingkat dengan faktor pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ . Setiap pengenceran diambil sebanyak 100  $\mu$ L dan disebar di atas permukaan media MRS agar (untuk *L. acidophilus FNCC116*) dan LB agar (untuk *B. Licheniformis F11.11*) dengan menggunakan spatel gelas kemudian diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  sampai tumbuh koloni. Petri yang dapat dilakukan perhitungan yaitu petri yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 koloni. Hasil yang diperoleh dari *total plate count* merupakan sel mikroba yang masih aktif tumbuh yang membentuk koloni disebut sebagai *colony forming unit* (CFU) (Brock *et al.* 1994), jumlah sel bakteri dihitung dengan menggunakan persamaan 3.5 :

$$\frac{CFU}{mL} = \frac{\text{Jumlah koloni pada cawan petri}}{\text{Pengenceran terakhir} \times \text{Volume yang disebar}} \quad (3.5)$$

### 3.7 Metode Penelitian Proses Scale Up



**Gambar 3.3** Metode penelitian *scale up* kapasitas bioreaktor 150 L

### 3.8 Desain Scale Up

Untuk menentukan kondisi operasi *scale up* pada fermentor bioreaktor 150 L maka ditentukan suatu variabel yang dibuat konstan yang digunakan sebagai basis persamaan untuk *scale up*, yaitu Daya yang dikonsumsi per Volume liquid ( $P_g/V_L$ ), kecepatan *impeller tip* ( $\pi ND_i$ ) dan kecepatan superficial gas/udara ( $v_g$ ). Persamaan yang digunakan pada *scale up* adalah :

1. Daya yang dikonsumsi per Volume liquid ( $P_g/V_L$ ) konstan, pada persamaan 12.15.b dan kecepatan superficial gas/udara ( $v_g$ ) konstan, pada persamaan 2.16.b.

$$Q_2 = Q_1 \left( \frac{D_{T2}}{D_{T1}} \right)^2 \quad (3.6)$$

$$N_2 = \frac{[(N_1^{3.15} D_{i1}^{5.85} Q_2^{0.252} D_{T2}^2 H_2)]^{\left(\frac{1}{3.15}\right)}}{(D_{i2}^{5.85} Q_1^{0.252} D_{T1}^2 H_1)} \quad (3.7)$$

2. Daya yang dikonsumsi per Volume liquid ( $P_g/V_L$ ), pada persamaan 12.15.c dan kecepatan *impeller tip* ( $\pi ND_i$ ) konstan, pada persamaan 12.18.

$$N_2 = N_1 \left( \frac{D_{i1}}{D_{i2}} \right) \quad (3.8)$$

$$Q_2 = \frac{[(N_2^{3.15} D_{i2}^{5.85} C_1^{0.252} D_{T1}^2 H_1)]^{\left(\frac{1}{0.252}\right)}}{(D_{i1}^{5.85} N_1^{3.15} D_{T2}^2 H_2)} \quad (3.9)$$

3. Menentukan nilai koefisien transfer oksigen pada Fermentor. Koefisien transfer oksigen menggunakan persamaan 2.10. Nilai konstanta yang digunakan adalah menurut Moo Young dan Blanch, 1981, untuk bioreaktor yang menggunakan jenis *impeller six bladed Rushton* dengan sistem media non-coalescing, yaitu nilai a, b dan c secara berturut-turut adalah 0,0018; 0,7 dan 0,3 (Tabel 2.5). Sehingga persamaan 2.12 akan menjadi persamaan di bawah ini:

$$k_L a = 0,0018 \left( \frac{P_g}{V_L} \right)^{0,7} v_g^{0,3} \quad (3.10)$$

#### 4. Menentukan Daya

Untuk menghitung *power number* menggunakan persamaan 2.6.

$$N_p = \left( \frac{P_o}{\rho_L N^3 D_i^5} \right) \quad (3.11)$$

Untuk menghitung *reynold number* menggunakan persamaan 2.5.

$$N_{RE} = \left( \frac{ND_i^2 \rho_L}{\mu_L} \right) \quad (3.12)$$

Untuk menghitung daya yang dikonsumsi menggunakan persamaan 2.7.

$$P_g = \left( \frac{NP_o^2 D_i^3}{Q^{0.56}} \right)^{0.45} \quad (3.13)$$

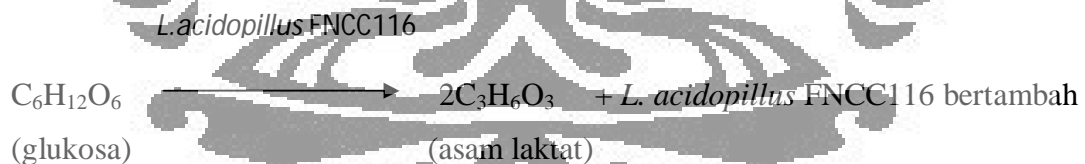
#### 5. Menentukan kecepatan *superficial gas*

Persamaan 2.8 digunakan untuk menentukan kecepatan *superficial gas*.

$$V_g = \frac{Q}{\pi D_t^2} \quad (3.14)$$

### 3.9 Kinetika Proses Demineralisasi

Persamaan reaksi untuk proses demineralisasi:



Pertumbuhan bakteri secara umum dijelaskan menurut persamaan yang diturunkan oleh Jacques Monod secara empiris menurut tersedianya substrat untuk dikonsumsi (Monod, 1949). Dengan mengikuti persamaan monod maka laju pertumbuhan *L. acidophilus* FNCC116 adalah:

$$r_{X_{LA}} = \mu_{LA} X_{LA} \quad (3.15)$$

Keterangan:  $X_{LA}$  = konsentrasi bakteri *L. acidophilus* FNC116 (g/L);  $\mu$  = laju spesifik pertumbuhan maksimum *L. acidophilus* FNC116 (1/s)



dengan laju spesifik pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* FNC116 adalah

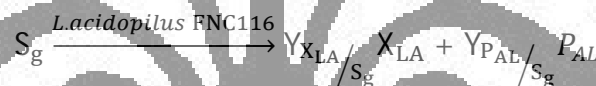
$$\mu_{LA} = \frac{\mu_{LAmax} S_g}{K_S + S_g} \quad (3.16)$$

Keterangan:  $S_g$  = konsentrasi glukosa (g/L);  $\mu_{LAmax}$  = laju spesifik pertumbuhan maksimum *L. acidophilus* FNC116 (1/s)

dengan mensubstitusikan persamaan 3.15 dan 3.16, maka laju pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* FNC116 adalah:

$$r_{X_{LA}} = \frac{\mu_{LAmax} S_g}{K_S + S_g} X_{LA} \quad (3.17)$$

Hubungan antara substrat glukosa yang dikonsumsi bakteri *L. acidophilus* FNCC116 untuk menghasilkan bakteri yang makin banyak dan konsumsi substrat glukosa menjadi produk asam laktat berdasarkan persamaan stoikiometri menjadi:



Keterangan:  $P_{AL}$  = produk asam laktat (g/L),

$$Y_{S_g/X_{LA}} = \frac{\text{jumlah glukosa yang dikonsumsi membentuk } L. acidophilus \text{ FNCC116}}{\text{jumlah } L. acidophilus \text{ FNCC116 yang terbentuk}}$$

$$Y_{S_g/P_{AL}} = \frac{\text{jumlah glukosa yang dikonsumsi membentuk asam laktat}}{\text{jumlah } L. acidophilus \text{ FNCC116 yang terbentuk}}$$

Konsumsi glukosa menghasilkan bakteri *L. acidophilus* FNCC116, secara simultan bakteri tersebut juga menghasilkan produk asam laktat sehingga laju konsumsi glukosa adalah:

$$-\frac{dS_g}{dt} = Y_{S_g/X_{LA}} r_{X_{LA}} \quad (3.18)$$

Dengan *maintenance* aktivitas jumlah bakteri pada persamaan 2.25, maka laju konsumsi glukosa adalah

$$-r_{S_g} = Y_{S_g/X_{LA}} r_{X_{LA}} + m X_{LA} \quad (3.19)$$

pembentukan produk terbentuk akibat aktivitas pertumbuhan sel bakteri, selama sel bakteri pada fase pertumbuhan eksponensial, secara stoikiometrik:

$$r_{P_{AL}} = Y_{P_{AL}/X_{LA}} r_{X_{LA}} \quad (3.20)$$

$$Y_{P_{AL}/X_{LA}} = \frac{\text{jumlah produk asam laktat terbentuk}}{\text{jumlah } L. \text{ acidophilus FNCC116 yang terbentuk}}$$

Pembentukan produk asam laktat (Shuller and Kargi, 2002) tidak hanya terbentuk pada fase pertumbuhan bakteri saja tetapi juga pada fase bakteri tumbuh, sehingga laju pembentukan produk asam laktat mengikuti persamaan dari Luedeking-Piret pada persamaan 2.33 menjadi:

$$r_{P_{AL}} = \alpha r_{X_{LA}} + \beta X \quad (3.21)$$

### Neraca Massa Bioreaktor Batch

#### Neraca massa sel bakteri

Dengan menggunakan persamaan 2.36 maka laju pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* FNCC116 pada bioreaktor batch adalah:

$$\frac{dX_{LA}}{dt} = r_{X_{LA}} = \frac{\mu_{LA_{max}} S_g}{K_{S_g} + S_g} X_{LA} \quad (3.22)$$

Dengan mengintegalkan persamaan 3.22 maka didapatkan Jumlah bakteri *L. acidophilus* FNCC116 :

$$X_{LA} = X_{LA0} + \frac{\mu_{LAmax} S_g}{K_S + S_g} (t - t_0) \quad (3.23)$$

### Neraca massa substrat

Dengan menggunakan persamaan 2.39 maka konsumsi glukosa pada proses batch adalah:

$$-\frac{dS_g}{dt} = r_{S_g} = Y_{S_g/X_{LA}} \frac{dX_{LA}}{dt} + m X_{LA} \quad (3.24)$$

Dengan mengintegalkan persamaan 3.24 maka didapatkan jumlah glukosa:

$$-S_g = S_{g0} - Y_{S_g/X_{LA}} (X_{LA} - X_{LA0}) + m X_{LA} (t - t_0) \quad (3.25)$$

### Neraca massa produk

Dengan menggunakan persamaan 2.42 maka kinetika laju pembentukan produk pada proses batch adalah:

$$\frac{dP_{AL}}{dt} = \alpha \frac{dX_{LA}}{dt} + \beta X_{LA} \quad (3.26)$$

Dengan mengintegalkan persamaan 3.26 maka didapatkan jumlah asam laktat:

$$P_{AL} = P_{AL0} + \alpha (X_{LA} - X_{LA0}) + \beta X_{LA} (t - t_0) \quad (3.27)$$

### Neraca Massa Bioreaktor Kontinu

#### Neraca massa sel bakteri

Dengan menggunakan persamaan 2.44 maka laju pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* FNCC116 pada bioreaktor kontinu adalah:

$$\frac{dX_{LA}}{dt} = r_{X_{LA}} = \frac{\mu_{LAmax} S_g}{K_{S_g} + S_g} X_{LA} \quad (3.28)$$

Dengan mengintegalkan persamaan 3.28 maka didapatkan Jumlah bakteri *L. acidophilus* FNCC116 :

$$X_{LA} = X_{LA0} + \frac{\mu_{LAmax} S_g}{K_s + S_g} (t - t_0) \quad (3.29)$$

### Neraca massa substrat glukosa

Dengan menggunakan persamaan 2.46 maka konsumsi glukosa pada proses kontinu adalah:

$$\frac{dS_g}{dt} = \frac{F}{V} (S_{g0} - S_g) - Y_{S_g/X_{LA}} \frac{dX_{LA}}{dt} + m X_{LA} \quad (3.30)$$

Dengan mengintegalkan persamaan 3.30 maka didapatkan jumlah glukosa :

$$S_g = S_{g0} + \frac{F}{V} (S_{g-aliran} - S_g)(t - t_0) - Y_{S_g/X_{LA}} (X_{LA} - X_{LA0}) + m X_{LA} (t - t_0) \quad (3.31)$$

### Neraca massa produk

Dengan menggunakan persamaan 2.48 maka laju pembentukan asam laktat pada proses kontinu adalah:

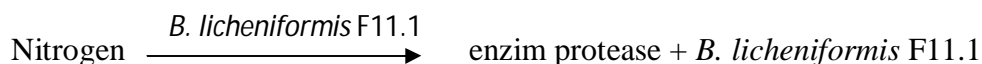
$$\frac{dP_{AL}}{dt} = \alpha \frac{dX_{LA}}{dt} + \beta X_{LA} - \frac{F}{V} P_{AL0} \quad (3.32)$$

Dengan mengintegalkan persamaan 3.32 maka didapatkan jumlah asam laktat :

$$P_{AL} = P_{AL0} + \alpha (X_{LA} - X_{LA0}) + \beta X_{LA} (t - t_0) - \frac{F}{V} P_{AL0} (t - t_0) \quad (3.33)$$

## 3.10 Penentuan data Kinetika Proses Deproteinisasi

Persamaan reaksi untuk Proses Deproteinisasi :



Dengan mengikuti persamaan monod maka laju pertumbuhan *B. licheniformis* F11.1 adalah:

$$r_{X_{BL}} = \mu_{BL} X_{BL} \quad (3.34)$$

Keterangan:  $X_{BL}$  = konsentrasi bakteri *B. licheniformis* F11.1 (g/L);  $\mu$  = laju spesifik pertumbuhan maksimum *B. licheniformis* F11.1 (1/s)

dengan laju spesifik pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* F11.1 adalah

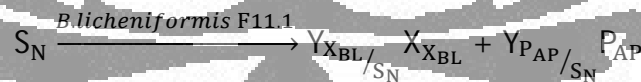
$$\mu_{BL} = \frac{\mu_{BLmax} S_N}{K_N + S_N} \quad (3.35)$$

Keterangan:  $S_N$  = konsentrasi glukosa (g/L);  $\mu_{BLmax}$  = laju spesifik pertumbuhan maksimum *B. licheniformis* F11.1 (1/s)

dengan mensubstitusikan persamaan 3.34 dan 3.35, maka laju pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* F11.1 adalah:

$$r_{X_{BL}} = \frac{\mu_{BLmax} S_N}{K_N + S_N} X_{BL} \quad (3.36)$$

Hubungan antara substrat glukosa yang dikonsumsi bakteri *B. licheniformis* F11.1 untuk menghasilkan bakteri yang makin banyak dan konsumsi substrat nitrogen menjadi produk aktivitas protease berdasarkan persamaan stoikiometri menjadi:



Keterangan:  $P_{AP}$  = aktivitas protease (U/L),

$$Y_{X_{SN}/BL} = \frac{\text{jumlah nitrogen yang dikonsumsi membentuk } B. licheniformis}{\text{jumlah } B. licheniformis \text{ F11.1 yang terbentuk}}$$

$$Y_{SN/PAP} = \frac{\text{jumlah nitrogen yang dikonsumsi membentuk aktivitas protease}}{\text{jumlah } B. licheniformis \text{ F11.1 yang terbentuk}}$$

Konsumsi glukosa menghasilkan bakteri *B. licheniformis* F11.1, secara simultan bakteri tersebut juga menghasilkan aktivitas enzim sehingga laju konsumsi nitrogen adalah:

$$-\frac{dS_N}{dt} = Y_{S_N/X_{BL}} r_{X_{BL}} \quad (3.37)$$

Dengan *maintenance* aktivitas jumlah bakteri pada persamaan 2.25, maka laju konsumsi nitrogen adalah

$$-r_{S_N} = Y_{S_N/X_{BL}} r_{X_{BL}} + m X_{BL} \quad (3.38)$$

pembentukan produk terbentuk akibat aktivitas pertumbuhan sel bakteri, selama sel bakteri pada fase pertumbuhan eksponensial, secara stoikiometrik:

$$r_{P_{AP}} = Y_{P_{AP}/X_{BL}} r_{X_{BL}} \quad (3.39)$$

$Y_{P_{AP}/X_{BL}}$  =  $\frac{\text{jumlah produk aktivitas protease terbentuk}}{\text{B. licheniformis F11.1 yang terbentuk}}$

Pembentukan produk aktivitas protease diasumsikan mengikuti persamaan dari Luedeking-Piret pada persamaan 2.33 menjadi:

$$r_{P_{AP}} = \alpha \frac{dX_{BL}}{dt} + \beta X_{BL} \quad (3.40)$$

### Neraca Massa Bioreaktor Batch

#### Neraca massa sel bakteri

Dengan menggunakan persamaan 2.36 maka laju pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* F11.1 pada bioreaktor batch adalah:

$$\frac{dX_{BL}}{dt} = r_{X_{BL}} = \frac{\mu_{BL_{max}} S_N}{K_{S_N} + S_N} X_{BL} \quad (3.41)$$

Dengan mengintegrasikan persamaan 3.41 maka didapatkan Jumlah bakteri *B. licheniformis* F11.1 :

$$X_{BL} = X_{BL0} + \frac{\mu_{BLmax} S_N}{K_{S_N} + S_N} (t - t_0) \quad (3.42)$$

### Neraca massa substrat

Dengan menggunakan persamaan 2.39 maka konsumsi nitrogen pada proses batch adalah:

$$-\frac{dS_N}{dt} = r_{S_N} = Y_{S_N/X_{BL}} \frac{dX_{BL}}{dt} + m X_{BL} \quad (3.43)$$

Dengan mengintegrasikan persamaan 3.43 maka didapatkan jumlah nitrogen:

$$-S_g = S_{g0} - Y_{S_N/X_{BL}} (X_{BL} - X_{BL0}) + m X_{BL} (t - t_0) \quad (3.44)$$

### Neraca massa produk

Dengan menggunakan persamaan 2.42 maka kinetika laju pembentukan aktivitas protease pada proses batch adalah:

$$\frac{dP_{AP}}{dt} = \alpha \frac{dX_{BL}}{dt} + \beta X_{BL} \quad (3.45)$$

Dengan mengintegrasikan persamaan 3.45 maka didapatkan jumlah aktivitas protease:

$$P_{AP} = P_{AP0} + \alpha (X_{BL} - X_{BL0}) + \beta X_{BL} (t - t_0) \quad (3.46)$$

### Neraca Massa Bioreaktor Kontinu

#### Neraca massa sel bakteri

Dengan menggunakan persamaan 2.44 maka laju pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* F11.1 pada bioreaktor kontinu adalah:

$$\frac{dX_{BL}}{dt} = r_{X_{BL}} = \frac{\mu_{BLmax} S_N}{K_{S_N} + S_N} X_{BL} \quad (3.47)$$

Dengan mengintegrasikan persamaan 3.47 maka didapatkan Jumlah bakteri *B. licheniformis* F11.1:

$$X_{BL} = X_{BL_0} + \frac{\mu_{BL_{max}} S_N}{K_{S_N} + S_N} (t - t_0) \quad (3.48)$$

### Neraca massa substrat glukosa

Dengan menggunakan persamaan 2.46 maka konsumsi nitrogen pada proses kontinu adalah:

$$\frac{dS_N}{dt} = \frac{F}{V} (S_{NA} - S_N) - Y_{S_N/X_{BL}} \frac{dX_{BL}}{dt} + m X_{BL} \quad (3.49)$$

Dengan mengintegrasikan persamaan 3.49 maka didapatkan jumlah nitrogen :

$$S_N = S_{N_0} + \frac{F}{V} (S_{NA} - S_N)(t - t_0) - Y_{S_N/X_{BL}} (X_{BL} - X_{BL_0}) + m X_{BL} (t - t_0) \quad (3.50)$$

### Neraca massa produk

Dengan menggunakan persamaan 2.48 maka laju pembentukan aktivitas protease pada proses kontinu adalah:

$$\frac{dP_{AP}}{dt} = \alpha \frac{dX_{BL}}{dt} + \beta X_{BL} - \frac{F}{V} P_{AL_0} \quad (3.51)$$

Dengan mengintegrasikan persamaan 3.51 maka didapatkan jumlah aktivitas protease:

$$P_{AP} = P_{AP_0} + \alpha (X_{BL} - X_{BL_0}) + \beta X_{BL} (t - t_0) - \frac{F}{V} P_{AP_0} (t - t_0) \quad (3.52)$$



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Fermentasi Demineralisasi Kontinu *High Cell Density* Pada Bioreaktor 12 L

Kondisi optimal pada penelitian sebelumnya (Deden, 2009) pada proses fermentasi demineralisasi kontinu menggunakan bioreaktor 12 L adalah menggunakan aliran kontinu konsentrasi glukosa sebesar 6,5 %, tidak diperlukan adanya aerasi dan kecepatan agitasi yang digunakan adalah 50 rpm. Kondisi optimal tersebut digunakan pada penelitian ini. Yaitu demineralisasi kontinu bioreaktor 12 L *high cell density* dengan menggunakan membran mikrofiltrasi. Jenis bakteri yang digunakan adalah sama pada penelitiann sebelumnya yaitu bakteri *Lactobacillus acidopilus* FNCC116, sehingga karakteristik proses dalam bioreaktor adalah sama. Fase eksponensial bakteri dimulai pada jam ke 12 sampai jam ke 16, sehingga proses fermentasi akan dimulai pada jam ke 12 dan waktu tinggal media selama 16 jam (Deden, 2009). Dengan menggunakan persamaan 4.1 digunakan laju media glukosa 5,21 mL/ menit. Menurut Juaninto, 2008, bakteri tersebut mengalami fase eksponensial dari jam ke 12 sampai jam ke 24. Oleh karena itu akan di lakukan variasi penelitian proses fermentasi akan dimulai pada jam ke 12 dan waktu tinggal media selama 24 jam, dengan menggunakan persamaan 4.1 digunakan laju media glukosa 3,47 mL/ menit.

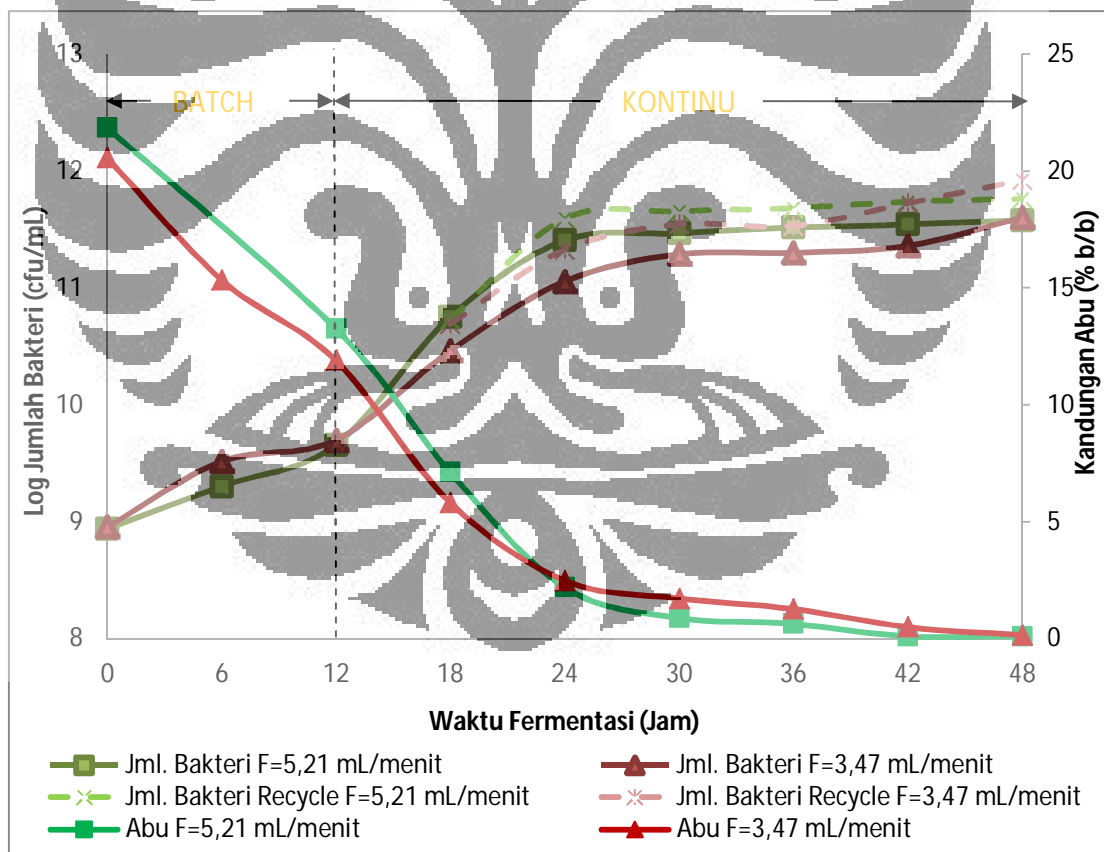
$$F = \frac{V}{t} \quad (4.1)$$

Keterangan: F = laju alir media (mL/ menit); V = volume kerja bioreaktor (5000 mL); T = waktu tinggal media dalam bioreaktor (16 jam)

Hubungan antara jumlah konsentrasi bakteri dan penurunan kandungan abu (mineral) ditunjukkan pada grafik Gambar 4.1. Pada percobaan fermentasi yang ditunjukkan pada grafik tersebut menunjukkan bahwa jumlah bakteri akan terus meningkat dari jam ke 0 hingga jam ke 12 secara batch. Kenaikan jumlah konsentrasi bakteri tersebut karena masih terdapat cukup substrat glukosa untuk konsumsi,

sehingga bakteri mengikuti fenomena pertumbuhan bakteri yang memasuki fase eksponensial (Deden, 2009).

Pada penelitian sebelumnya, kontinu *non-high cell density* setelah jam ke 12 dan dialiri substrat glukosa secara kontinu menunjukkan jumlah bakteri yang tidak menaik atau konstan hingga jam ke 48 (Deden, 2009). Pada penelitian kontinu *high cell density* ini, setelah jam ke 12 aliran kontinu diberikan maka jumlah bakteri akan naik secara signifikan hingga jam ke 24, sekitar  $1,14 \cdot 10^{11}$ -  $2,55 \cdot 10^{11}$  cfu/mL, kemudian naik secara tidak signifikan atau hampir konstan hingga jam ke 48, sekitar  $2,29 \cdot 10^{11}$ -  $3,81 \cdot 10^{11}$  cfu/mL. Kenaikan bakteri yang terjadi karena adanya tambahan bakteri pada aliran keluar yang tersaring (*retentate*) membran dan dialirkan kembali menuju bioreaktor. Jumlah konsentrasi bakteri yang makin banyak tersebut masih dapat tumbuh karena tersedianya substrat glukosa dari aliran kontinu yang diberikan.



**Gambar 4.1** Fenomena jumlah konsentrasi bakteri di dalam bioreaktor, *recycle* bakteri tidak tersaring ke dalam bioreaktor dan penurunan kandungan abu pada demineralisasi kontinu *high cell density*

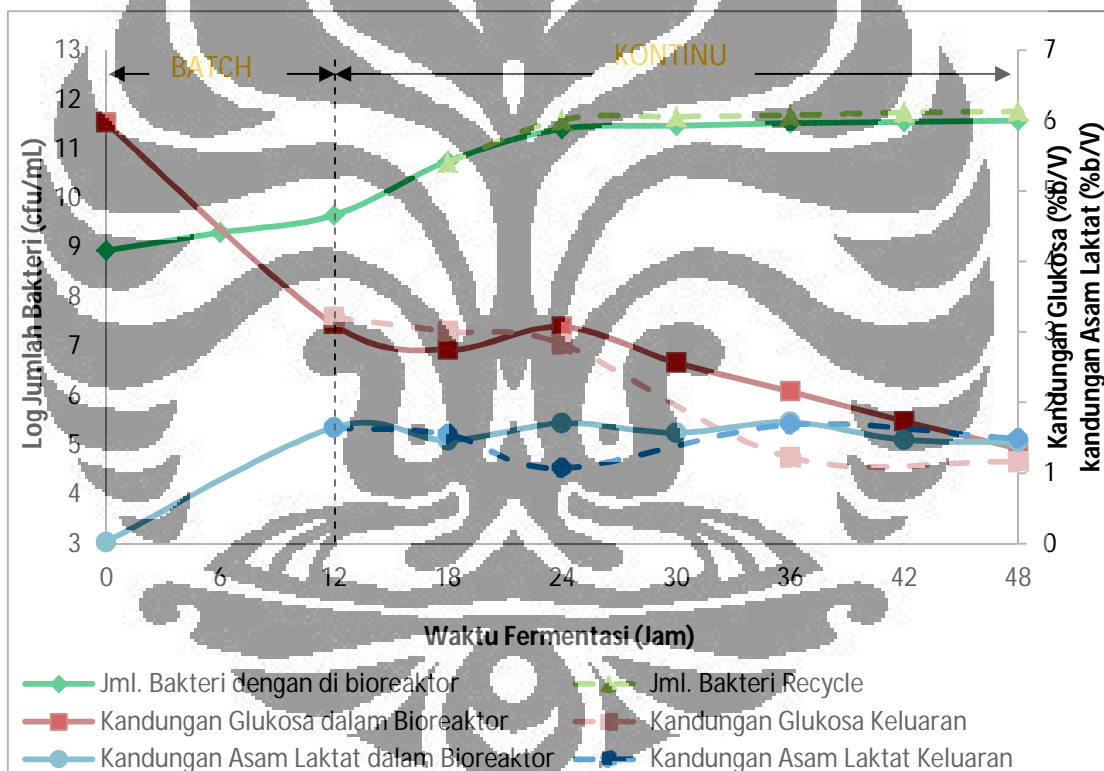
Gambar 4.1 juga menunjukkan bahwa jumlah bakteri yang di alirkan kembali menuju bioreaktor lebih banyak dibandingkan dengan di dalam bioreaktor, sekitar 1,7 – 2 kali per mili Liter. Hal tersebut karena sebagian media seperti glukosa dan produk asam laktat yang terlarut di dalam bioreaktor tidak tersaring membran mikrofiltrasi sedangkan bakteri tersaring. Sehingga jumlah konsentrasi bakteri per mili Liter lebih banyak dibandingkan sebelumnya.

Setelah jam ke 24 kenaikan jumlah bakteri tidak signifikan, hal tersebut dipengaruhi oleh adanya akumulasi produk samping kalsium laktat, sisa glukosa dan sisa asam laktat, fenomena ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Shuller dan Kargi (2002) bahwa terjadi akumulasi produk samping dan substrat secara berlebihan dalam sistem fermentasi yang dapat menghambat laju reaksi. Dari variasi laju alir media glukosa 6,5% didapatkan jumlah bakteri lebih banyak baik di dalam bioreaktor dan *recycle* dengan menggunakan laju alir glukosa 5,21 mL/ menit dibandingkan 4,37 mL/ menit. Hal tersebut menunjukkan dibutuhkan jumlah substrat glukosa yang lebih banyak seiring dengan bertambah banyaknya jumlah bakteri dan dengan laju yang lebih besar memudahkan proses konsumsi substrat glukosa.

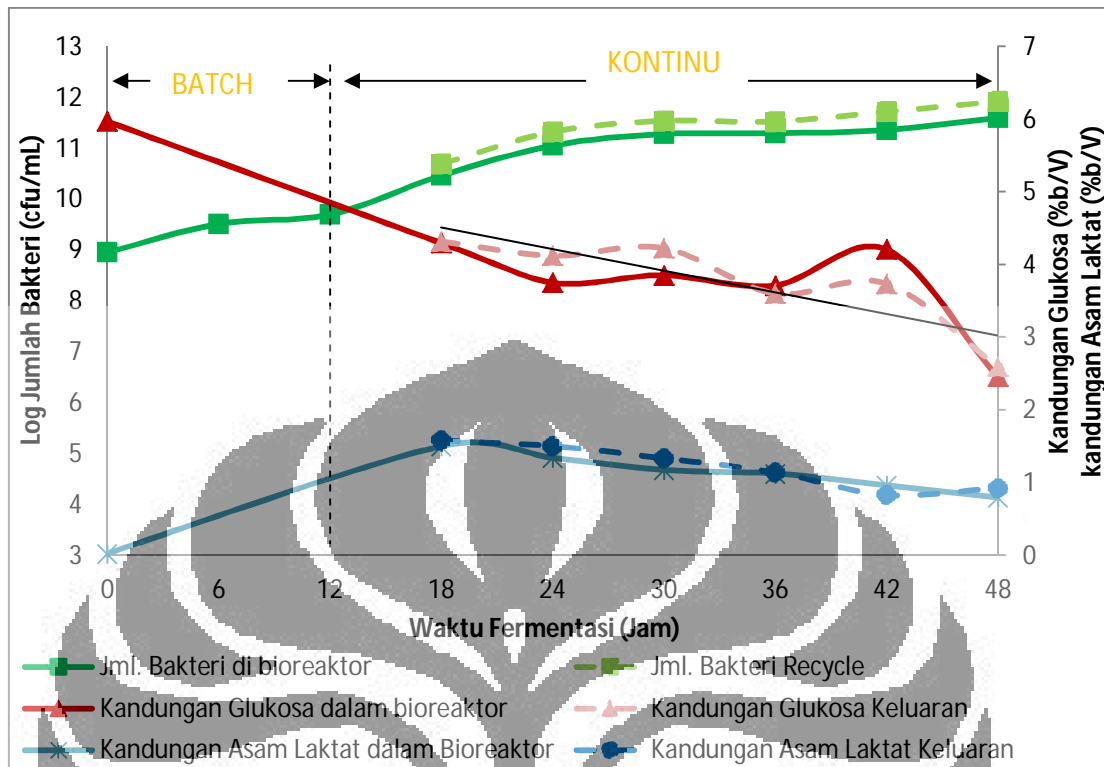
Membran mikrofiltrasi yang memiliki ukuran pori sebesar 0,3  $\mu\text{m}$  lebih kecil dibandingkan dengan ukuran bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 sekitar 0,6-6  $\mu\text{m}$ . Pada proses keluaran, filtrat pada membran tidak ada bakteri (jumlahnya 0), dan filtrat hanya mengandung cairan media glukosa dan produk asam laktat terlarut yang memiliki ukuran partikel  $<0,3 \mu\text{m}$ . Hal tersebut terlihat bahwa hasil keluaran filtrat yang warnanya menjadi bening dibandingkan media sebelum masuk membran.

Pada Gambar 4.2 dan 4.3 menunjukkan substrat glukosa dan produk asam laktat tidak hanya terdapat didalam bioreaktor tetapi juga pada media keluaran membran mikrofiltrasi yang tidak tersaring. Adanya produksi asam laktat yang bertambah banyak sebanding dengan jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 yang menghasilkan asam laktat. Pada Gambar 4.2 fenomena kenaikan produk asam laktat secara signifikan naik setelah proses kontinu dimulai pada jam ke 12 hingga jam ke 36, mencapai 1,726 (% b/v) atau sekitar 17,26 g/L. Setelah itu kenaikan kandungan asam laktat naik tidak terlalu signifikan hampir konstan karena

adanya asam laktat yang keluar secara kontinu pada proses kontinu. Pada Gambar 4.3 produk asam laktat yang terbentuk menunjukkan penurunan setelah jam ke 18, mencapai 1,501 (% b/v) atau sekitar 15,01 g/L, hal tersebut menunjukkan jumlah produk asam laktat pada variasi laju alir media 3,47 mL/ menit lebih rendah dibandingkan laju alir 5,21 sehingga adanya proses keluaran yang mengandung asam laktat membuat jumlah asam laktat di dalam bioreaktor menurun. Perbedaan kandungan asam laktat di dalam bioreaktor dan keluaran menunjukkan pada proses tersebut adanya proses mixing oleh agitator bioreaktor yang kurang sempurna dan waktu *loading* di dalam membran mikrofiltrasi.

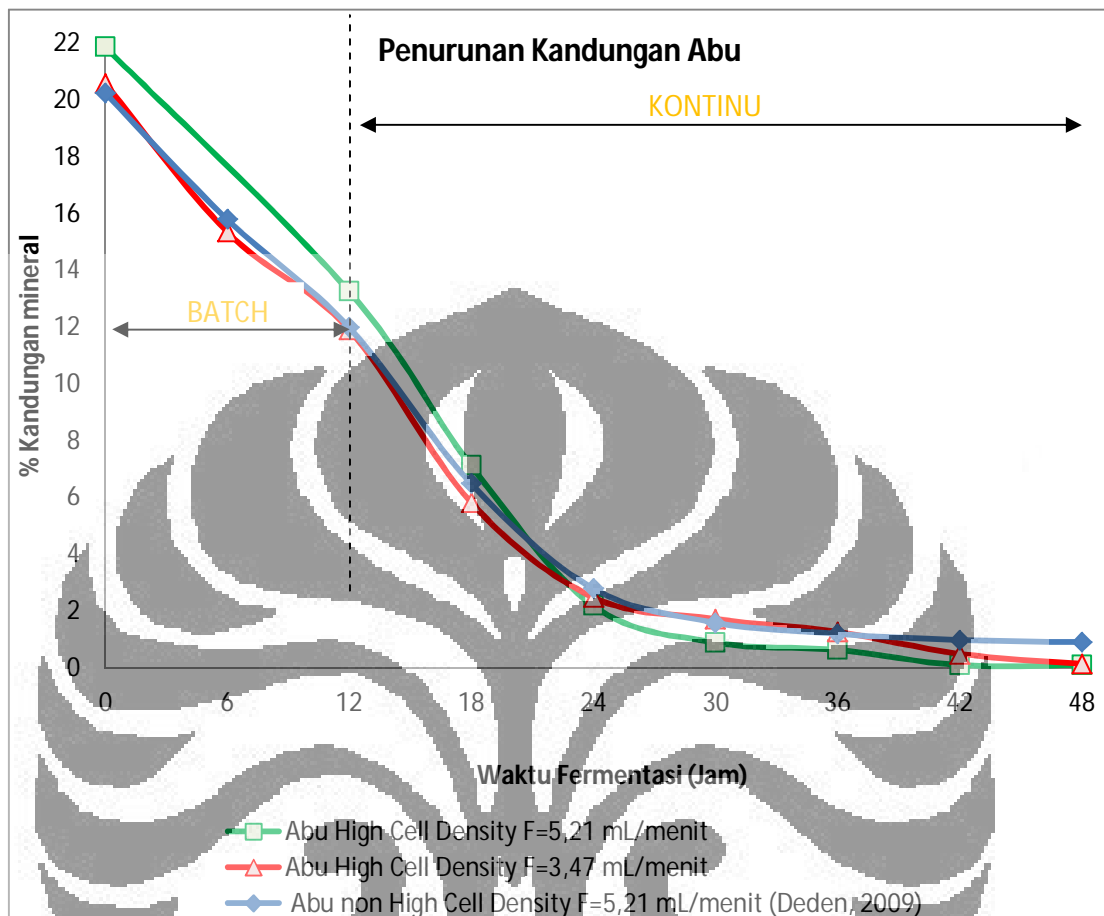


**Gambar 4.2** Grafik jumlah bakteri, kandungan glukosa dan asam laktat pada proses fermentasi demineralisasi kontinu *high cell density* waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor 16 jam (laju alir media substrat 5,21 mL/menit)



**Gambar 4.3** Grafik jumlah bakteri, kandungan glukosa dan asam laktat pada proses fermentasi demineralisasi kontinu *high cell density* waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor 24 jam (laju alir media substrat 3,47 mL/menit)

Pada Gambar 4.2 menunjukkan kenaikan kandungan glukosa hingga jam ke 24 setelah dilakukan aliran media glukosa pada jam ke 12, selanjutnya terjadi penurunan kadungan glukosa. Pada Gambar 4.3 kenaikan glukosa hingga jam ke 42, setelah itu mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan konsumsi glukosa oleh bakteri dengan waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor media di dalam bioreaktor selama 16 jam (laju media 5,21 mL/menit) lebih cepat dibandingkan 24 jam (laju media 3,47 mL/ menit), karena jumlah bakteri pada waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor 16 jam lebih banyak sehingga mengkonsumsi jumlah substrat glukosa yang banyak.



**Gambar 4.4** Penurunan kandungan abu proses demineralisasi kontinu berbagai kondisi waktu tinggal media substrat glukosa di dalam bioreaktor media

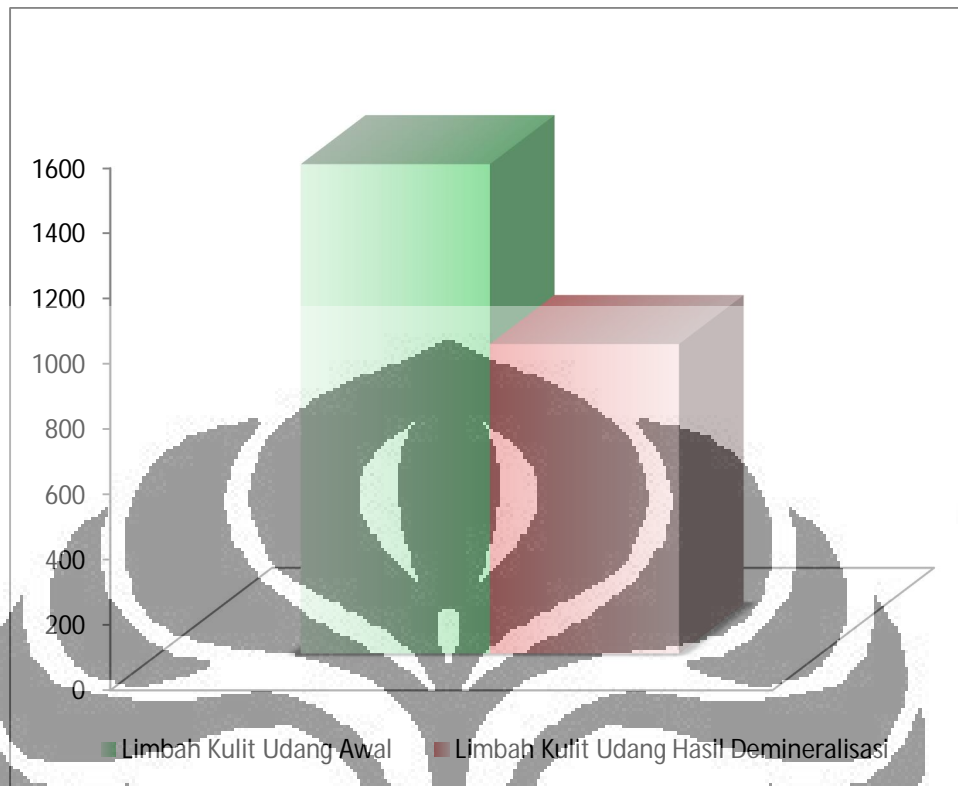
Hasil penurunan kandungan abu dengan menggunakan sistem kontinu *high cell density* dan penelitian sebelumnya *non-high cell density* ditunjukkan pada Gambar 4.4. Keberadaan asam laktat yang dihasilkan bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 berpengaruh terhadap kandungan mineral kulit udang, seperti beberapa hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lee dan tan (2002), Beaney et al (2005), Mahmoud et al (2007), Khanafari et al (2008), Juaninto (2008), Deden (2009) menyatakan bahwa mineral kulit udang dapat bereaksi dengan asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat membentuk produk samping mineral- laktat.

Pada Gambar 4.4 tersebut menunjukkan Penurunan kandungan abu lebih cepat jika menggunakan sistem kontinu *high cell density* dibandingkan penelitian

sebelumnya *non-high cell density*. Variasi waktu tinggal yang dilakukan pada percobaan ini didapatkan kondisi optimum pada waktu tinggal media glukosa selama 16 jam dengan laju 5,21 mL/menit. Hal tersebut karena waktu tinggal 24 jam dialirkan jumlah substrat glukosa yang lebih kecil yaitu 3,47 mL/menit sedangkan jumlah bakteri dalam fermentasi banyak jumlahnya, sehingga kecepatan pertumbuhan bakteri dengan laju alir substrat glukosa 5,21 mL lebih cepat dan asam laktat yang dihasilkan lebih banyak.

Dari data tersebut terlihat bahwa dengan laju alir glukosa sebesar 5,21 mL/menit (waktu tinggal media selama 16 jam) dapat menurunkan kandungan abu hingga 0,9 % (b/b) dengan tingkat penghilangan 96,5% sedangkan waktu tinggal media selama 24 jam hingga 1,7 % (b/b), tingkat penghilangan 93% selama 30 jam. Dengan waktu tinggal media selama 16 jam kandungan abu dapat hilang hingga mendekati 0,1 % (b/b) pada jam ke 42, sehingga pada proses produksi kitin untuk mencapai kualitas tinggi cukup hingga jam ke 30, karena pada jam tersebut kandungan abu komersialisasi 1% (<http://www.indiaagar.com>) telah dicapai dan setelah itu tingkat penghilangan sudah tidak signifikan sehingga keekonomisan proses dapat diperoleh.

Produk limbah kulit udang yang digunakan memiliki berat awal 1,5 kg. Pada proses demineralisasi terjadi penghilangan mineral pada kulit udang dan hancurnya kulit udang akibat agitasi pada bioreaktor, sehingga setelah proses demineralisasi dilakukan penyaringan produk menggunakan saringan biasa didapatkan berat limbah kulit udang menjadi 0,95 kg. Konversi produk demineralisasi adalah sebesar 63,3 % ditunjukkan pada Gambar 4.5.



**Gambar 4.5** Konversi hasil berat limbah kulit udang hasil demineralisasi kontinu *high cell density*

#### 4.2 Fermentasi Deproteinisasi Kontinu *High Cell Density* Pada Bioreaktor 12 L

Kondisi optimal pada penelitian sebelumnya (Deden, 2009) pada proses fermentasi deproteinisasi kontinu menggunakan bioreaktor 12 L adalah menggunakan aliran kontinu konsentrasi media substrat (NaCl 10 g/L, yeast extract 10 g/L, Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 g/L, CaCl<sub>2</sub> 2 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10 g/L), aerasi 2 vvm dan kecepatan agitasi yang digunakan adalah 250 rpm. Kondisi optimal tersebut digunakan pada penelitian ini, demineralisasi kontinu bioreaktor 12 L *high cell density* dengan menggunakan membran mikrofiltrasi. Jenis bakteri yang digunakan adalah sama yaitu bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1. Fase eksponensial bakteri dimulai pada jam ke 24 dan dengan kondisi optimal dengan waktu tinggal media selama 12 jam (Deden, 2009), sehingga proses fermentasi percobaan ini akan dimulai pada jam ke 24 dan waktu

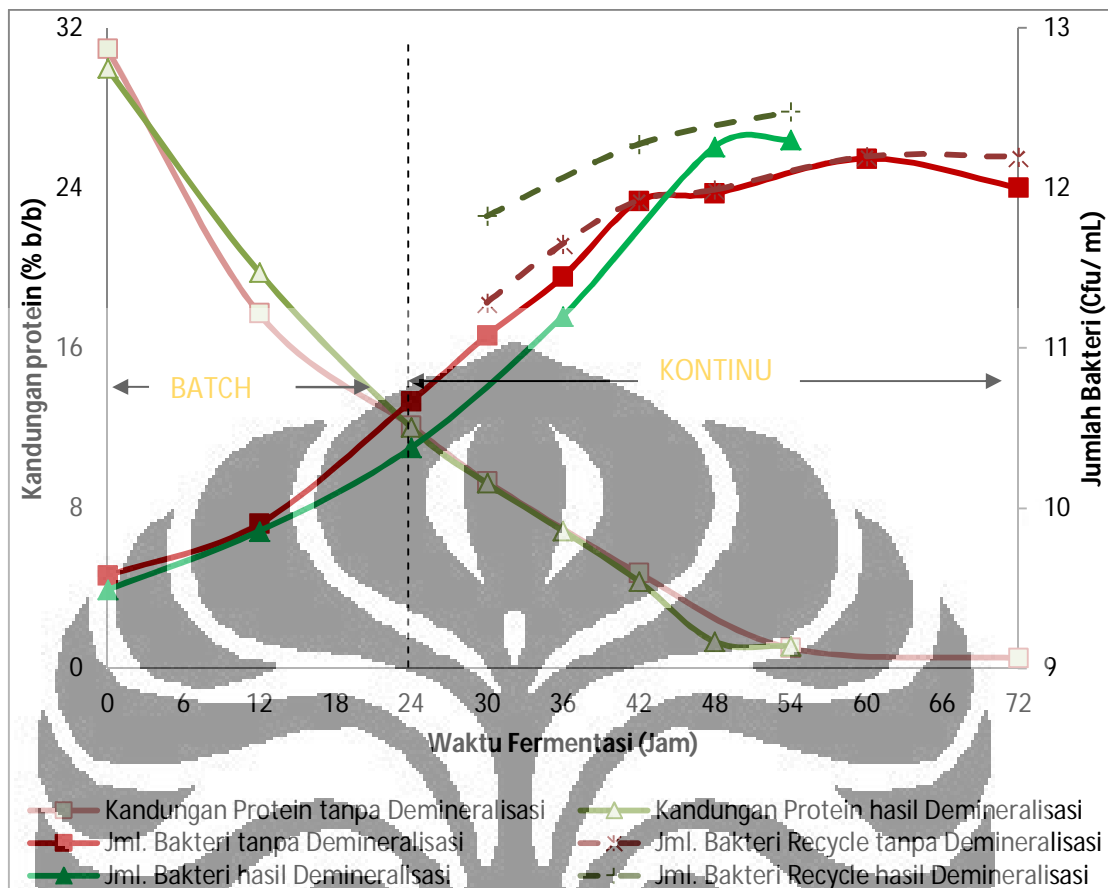


tinggal media selama 12 jam, dengan menggunakan persamaan 4.1 digunakan laju media 7 mL/ menit.

Penelitian sebelumnya pada bioreaktor dengan volume kerja yang kecil 1 L didapatkan bahwa pada ekstraksi kitin optimal digunakan limbah kulit udang hasil demineralisasi (Juaninto, 2008). Untuk skala yang lebih besar diperlukan fleksibilitas proses produksi kitin tanpa harus terlebih dahulu melakukan proses demineralisasi untuk selanjutnya melakukan proses deproteinisasi. Oleh karena itu untuk mengetahui pengaruh tersebut pada deproteinisasi kontinu *high cell density* akan dilakukan variasi percobaan pada limbah kulit udang yang digunakan, yaitu hasil demineralisasi dan tanpa demineralisasi.

Hubungan antara jumlah bakteri dan penurunan penurunan protein ditunjukkan pada grafik Gambar 4.6. Pada percobaan fermentasi yang ditunjukkan pada grafik tersebut menunjukkan bahwa jumlah bakteri akan terus meningkat dari jam ke 0 hingga jam ke 12 secara batch. Kenaikan jumlah bakteri tersebut karena masih terdapat cukup substrat glukosa untuk konsumsi, sehingga bakteri mengikuti fenomena pertumbuhan bakteri yang memasuki fase eksponensial (Deden, 2009).

Pada penelitian sebelumnya, kontinu *non-high cell density* setelah jam ke 24 dan dialiri substrat glukosa secara kontinu menunjukkan jumlah bakteri yang tidak menaik atau konstan hingga jam ke 96 (Deden, 2009). Pada penelitian kontinu *high cell density* ini, setelah jam ke 12 aliran kontinu diberikan maka jumlah bakteri akan naik secara signifikan hingga jam ke 42, sekitar  $3,28 \cdot 10^{11}$  -  $8,28 \cdot 10^{11}$  cfu/mL kemudian naik secara tidak signifikan pada jam selanjutnya, sekitar  $2,12 \cdot 10^{12}$  cfu/mL. Kenaikan bakteri yang terjadi karena adanya tambahan bakteri pada aliran keluar yang tersaring (*retentate*) membran dan dialirkan kembali menuju bioreaktor. Dari grafik menunjukkan bahwa jumlah bakteri yang di alirkan kembali menuju bioreaktor lebih banyak sekitar 1– 1,6 kali per miliLiter. Pada percobaan ini juga tidak terdapat bakteri pada keluaran *filtrate* membran, karena ukuran bakteri *licheniformis* F11.1 sekitar 0,6- 3  $\mu\text{m}$  jauh lebih besar daripada pori membran 0,3  $\mu\text{m}$ .

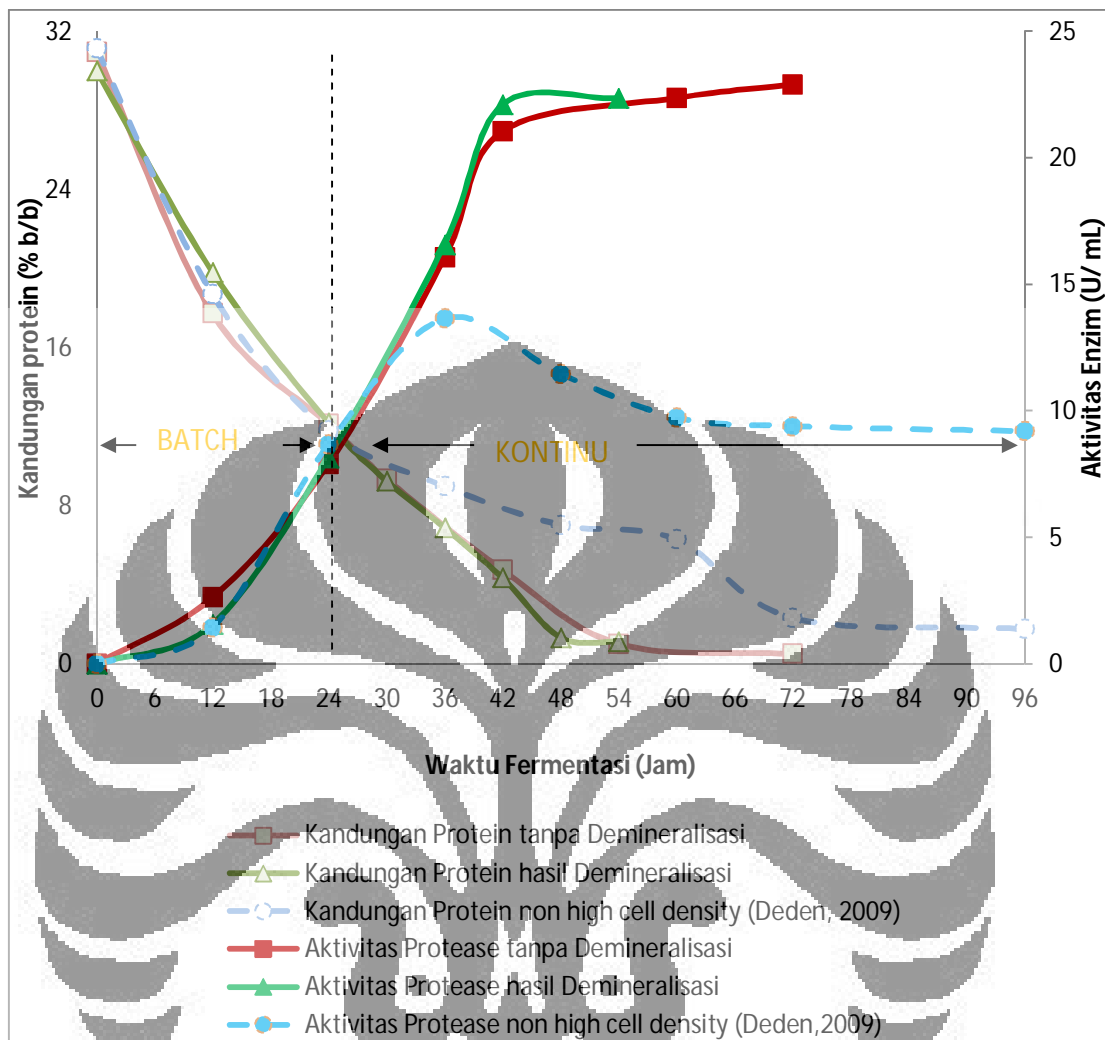


**Gambar 4.6** Fenomena pertumbuhan jumlah konsentrasi bakteri di dalam bioreaktor, *recycle* bakteri tidak tersaring ke dalam bioreaktor dan penurunan protein deproteinisasi kontinu *high cell density*

Penurunan kandungan protein pada kulit udang terjadi akibat enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri. Kulit udang memiliki lapisan yang tersusun dari beberapa lapisan *cuticle*, yang terdiri atas serat (fibril) kitin protein yang membentuk lapisan- lapisan horizontal silang- silang, pada awal fermentasi yang terhidrolisis adalah protein pada lapisan terluar, untuk memecah lapisan protein yang lebih dalam diperlukan jumlah enzim lebih banyak. Enzim protease yang dihasilkan tergantung jumlah bakteri, semakin banyak jumlah bakteri maka enzim protease yang dihasilkan juga banyak.

Pada Gambar 4.7 menunjukkan bahwa jumlah aktivitas enzim protease dan penurunan protein pada kulit udang, pada proses fermentasi kontinu *high cell density* lebih tinggi di dibandingkan dengan *non high cell density*, sehingga penurunan

kandungan protein lebih cepat. Pada percobaan sebelumnya deproteinisasi kontinu *non high cell density* dapat menghilangkan protein hingga 1,78% (b/b) selama 96 jam. Percobaan ini kandungan protein mencapai 1,12% (b/b) dengan aktivitas enzim sebesar 22,3 U/mL selama 54 jam pada deproteinisasi dengan tidak menggunakan hasil demineralisasi terlebih dahulu, sedangkan jika menggunakan hasil demineralisasi penurunan kandungan protein mencapai 1% (b/b) dengan aktivitas enzim sebesar 21,6 % U/mL selama 54 jam. Setelah jam ke 54 penurunan protei kulit udang tidak lagi turun secara signifikan sampai pada jam ke 72 protein turun hingga 0,5% (b/b). Pada produksi kapasitas besar secara ekonomis akan dilakukan selama 54 jam karena sudah mencapai kualitas komersial <1,5% (<http://alibaba.co>). Dari percobaan tersebut terlihat bahwa penggunaan limbah kulit udang hasil demineralisasi pada proses deproteinisasi memberikan penurunan protein tercepat. Hal tersebut karena karakter fisik dari kulit udang hasil demineralisasi yang tidak keras sehingga mudah untuk bereaksi dengan enzim.



Gambar 4.7 Hubungan aktivitas enzim dan penurunan kandungan protein berbagai kondisi deproteinisasi kontinu

Pada percobaan ini terlihat bahwa waktu fermentasi dengan menggunakan limbah kulit udang hasil demineralisasi berlangsung selama 54 jam, hal tersebut karena kondisi kulit udang yang lunak sehingga dalam proses fermentasi mudah untuk hancur dengan kecepatan agitasi yang tinggi dan mencapai kondisi jenuh pada membran dan pada jam tersebut aliran kontinu tidak dapat lagi berjalan. Dengan menggunakan limbah kulit udang tanpa demineralisasi kondisi fisiknya masih keras sehingga mencapai kondisi jenuh pada membran pada waktu jam ke 78. Kondisi jenuh tersebut akan menjadi perhatian dalam pelaksanaannya untuk menghasilkan kitin dalam kapasitas yang besar.

Produk limbah kulit udang yang digunakan memiliki berat awal 1,5 kg. Pada proses deproteinisasi terjadi penghilangan protein pada kulit udang dan hancurnya kulit udang akibat agitasi pada bioreaktor, sehingga setelah proses deproteinisasi dilakukan penyaringan produk menggunakan saringan biasa didapatkan berat limbah kulit udang menjadi 0,6 kg. Konversi produk demineralisasi adalah sebesar 40 % yang ditunjukkan pada Gambar 4.8.



**Gambar 4.8** Konversi hasil berat limbah kulit udang hasil deproteinisasi kontinu *high cell density*

### 4.3 Desain *Scale Up* Bioreaktor 150 L

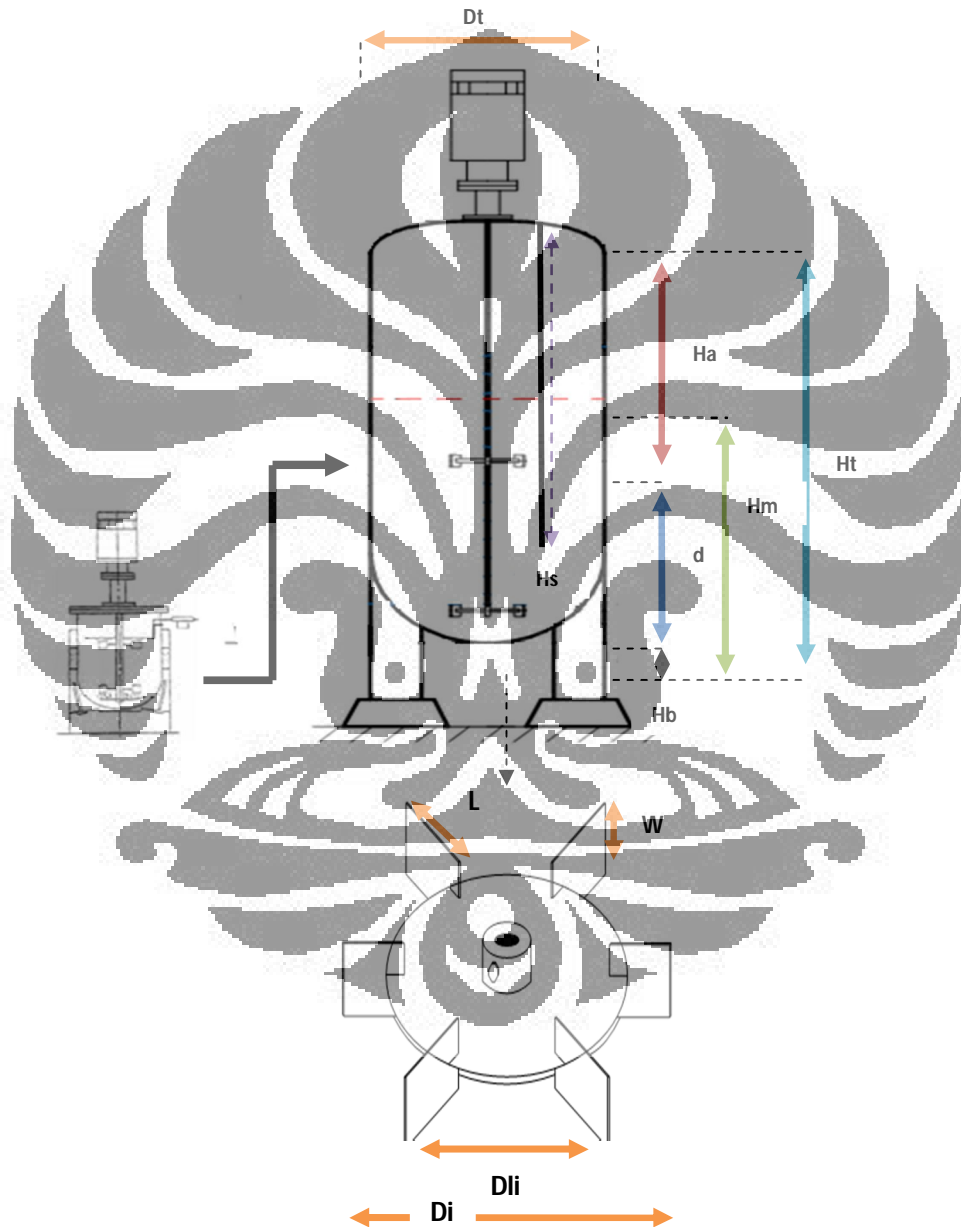
Bentuk Geometri bioreaktor ditunjukkan pada Gambar 4.9.

Keterangan:

$D_T$  = diameter vessel (cm);  $H_m$  = tinggi cairan liquid (cm);  $d$  = jarak antara impeller (cm);  $H_T$  =Tinggi Vessel bioreaktor (cm);  $H_b$  =Tinggi impeller ke-1 ke dasar bioreaktor (cm);  $H_a$  = Tinggi Impeller ke-2 ke bioreaktor (cm);  $D_i$  = diameter

impeller (cm);  $D_{ii}$  = internal impeller diameter (cm);  $W$  = Lebar impeller blade (cm)  
 $L$  = Panjang blade (cm);  $B$  = Jumlah blade pada turbin;  $n_r$  = Jumlah rushton turbin,  
 $H_s$  = Tinggi sparger (cm);  $D_s$  = Diameter sparger (cm);  $V_k$  = Volume kerja (Liter)

Parameter- Parameter geometri bioreaktor ditunjukkan Pada Gambar 4.9.



**Gambar 4.9** Dimensi Geometrik Bioreaktor

Ukuran Geometri bioreaktor bioreaktor 12 L Pada Proses Demineralisasi dan Deproteinisasi ditunjukkan pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Geometri bioreaktor 12 L demineralisasi dan deproteinisasi kontinu

Dimensi	Bioreaktor 12 L	
	Demineralisasi	Deproteinisasi
Total Volume, $V_T$ (L)	12	12
Volume Kerja, $V_L$ (L)	6	6
Tinggi Vessel, $H_T$ (cm)	40	40
Tinggi Liquid, $H_L$ (cm)	19,7	23
Diameter Vessel, $D_T$ (cm)	20	20
Jenis Impeller	<i>six bladed disc turbine</i>	<i>six bladed disc turbine</i>
Jumlah Impeller	3	3
Diameter Impeller, $D_i$ (cm)	16,2	10
Diameter internal impeller, $D_{li}$ (cm)	5,8	7
Lebar Impeller, $W_i$ (mm)	1,4	1,4
Jarak Impeller dari atas Bioreaktor, $H_a$ (cm)	23	23
Jarak impeller dari bawah, $H_b$ (cm)	1	1
Jarak antara impeller, $d$ (cm)	7,3	7,3
Diameter <i>Sparger</i> , $D_s$ (cm)	-	0,6
Panjang <i>sparger</i> $H_s$ (cm)	-	28
<i>Baffle</i>	-	-

Untuk mendapatkan prediksi ukuran bentuk geometri bioreaktor 150 L maka digunakan perbandingan yang dibuat sama dengan bioreaktor 12 L (González-Sáiz, 2009) sebagai dasar geometri hasil *scale up* bioreaktor 150 L. Tabel 4.2 menunjukkan perbandingan parameter geometri pada bioreaktor 12 L.

Tabel 4.2 Perbandingan parameter bioreaktor 12 L

BIOREAKTOR 12 L					
Vessel	Impeller		Sparger (untuk deproteinisasi)		
$H_T/D_T$	2	$D_T/D_i$	2	$H_S/D_T$	1.4
$H_m/D_T$	0.985	$D_{Li}/D_i$	0.7	$D_S/D_T$	0.03
$H_a/D_T$	1.15	W/Di	0.14		
$H_b/D_T$	0.05	L/Di	0.15		
		B	6		
		$n_r$	3		

#### 4.3.1 Desain Geometri *Scale Up* 150 L Bioreaktor Demineralisasi dan Deproteinisasi

Dalam desain geometri bioreaktor 150 L beracuan pada geometri bioreaktor 12 L dengan membuat perbandingan parameter geometrinya sama. Bioreaktor yang akan digunakan pada *scale up* 150 L mempunyai tinggi dan diameter vessel 90 cm dan 50 cm. Dari data tersebut maka dengan mengikuti perbandingan parameter geometri yang dibuat sama untuk proses demineralisasi seperti pada Tabel 4.2 maka akan didapatkan perbandingan parameter geometri bioreaktor 150 L untuk proses demineralisasi yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. Perbandingan parameter geometri bioreaktor 150 L untuk proses deproteinisasi yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.3 Perbandingan parameter bioreaktor 12 L demineralisasi kontinu

BIOREAKTOR 150 L					
Vessel	Impeller		Sparger		
$H_T/D_T$	2	$D_T/D_i$	1.234	$H_S/D_T$	0
$H_m/D_T$	0.985	$D_{Li}/D_i$	0.358	$D_S/D_T$	0
$H_a/D_T$	0.05	W/Di	0.0864		
$H_b/D_T$	1.15	L/Di	0.327		
		B	6		
		$n_r$	3		



**Tabel 4.4** Perbandingan parameter bioreaktor 12 L deproteinisasi kontinu

<b>BIOREAKTOR 150 L</b>					
<b>Vessel</b>		<b>Impeller</b>		<b>Sparger</b>	
$H_T/D_T$	2	$D_T/D_i$	2	$H_S/D_T$	1.4
$H_m/D_T$	0.985	$D_{Li}/D_i$	0.7	$D_S/D_T$	0.03
$H_a/D_T$	1.15	W/Di	0.14		
$H_b/D_T$	0.05	L/Di	0.15		
		B	6		
		$n_r$	3		

Dari perbandingan parameter geometri tersebut dapat diketahui geometri bioreaktor 150 L yang akan digunakan dalam proses *scale up* secara eksperimental dengan cara mengalikannya dengan parameter tinggi dan diameter vessel 150 L yang digunakan, geometri bioreaktor bioreaktor 150 L pada proses demineralisasi dan deproteinisasi ditunjukkan pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5** Geometri bioreaktor 150 L demineralisasi dan deproteinisasi kontinu

<b>Dimensi</b>	<b>Bioreaktor 150 L</b>	
	<b>Demineralisasi</b>	<b>Deproteinisasi</b>
Total Volume, $V_T$ (L)	150	150
Volume Kerja, $V_L$ (L)	97	97
Tinggi Vessel, $H_T$ (cm)	90	90
Tinggi Liquid, $H_L$ (cm)	49,25	49,25
Diameter Vessel, $D_T$ (cm)	50	50
Jenis Impeller	six bladed disc turbine	disc turbine
Jumlah Impeller	3	3
Diameter Impeller, $D_i$ (cm)	40,5	31
Diameter internal impeller, $D_{li}$ (cm)	14,5	17,5
Lebar Impeller, $W_i$ (mm)	3,5	3,5
Jarak Impeller dari atas Bioreaktor, $H_a$ (cm)	57,5	57,5
Jarak impeller dari bawah, $H_b$ (cm)	2,5	2,5
Jarak antara impeller, $d$ (cm)	18,3	18,3
Diameter Sparger, $D_s$ (cm)	-	1,5
Panjang sparger $H_s$ (cm)	-	70
Baffle	-	-

### 4.3.2 Desain Kondisi Operasi Bioreaktor Scale Up 150 L

Proses demineralisasi menggunakan bakteri mikroaerofilik yaitu *Lactobacillus acidophilus FNCC 116*, pada proses pertumbuhannya memerlukan sedikit sekali oksigen. Fermentasi pada bioreaktor 12 L tidak diperlukan adanya aerasi, karena kebutuhan oksigen yang sangat kecil dapat tercukupi dari lingkungan sekitar. Berdasarkan perlakuan tersebut maka pada fermentasi pada bioreaktor 150 L tidak memerlukan adanya aerasi. Proses fermentasi yang terjadi tidak akan dipengaruhi oleh koefisien transfer oksigen (tanpa aerasi). Kondisi proses demineralisasi pada proses *scale up* 150 L akan didapatkan dengan mengetahui agitasi yang diperlukan sehingga kondisi optimal bioreaktor 150 L didapatkan.

Penentuan agitasi pada proses *scale up* digunakan kriteria kecepatan *impeller tip* ( $\pi ND_i$ ) yang dibuat tetap antara bioreaktor 12 L dan 150 L. Dengan menggunakan perbandingan antara tinggi vessel bioreaktor dengan diameter impeller bioreaktor 12 L (González-Sáiz, 2009) yang dibuat sama maka dengan menggunakan persamaan didapatkan diameter impeller sebesar 31 cm, maka dari persamaan 12.18 tersebut didapatkan nilai agitasi sebesar 24 rpm. Prediksi agitasi yang digunakan pada bioreaktor 150 L lebih rendah dari 12 L karena ukuran impeller yang lebih besar (diameter), sebagai agitator akan mempercepat proses pencampuran (*mixing*).

Pada proses deproteinisasi menggunakan bakteri aerob, *Bacillus licheniformis F11.1*, pertumbuhan bakteri ini sangat dipengaruhi tersedianya oksigen. Faktor keberadaan oksigen merupakan salah satu faktor penting dari proses fermentasi bioreaktor 12 L selain pengaruh agitasi, sehingga diberikan aerasi. Pada saat penerapan kondisi optimal yang didapatkan pada proses fermentasi bioreaktor 12 L pada proses *scale up* 150 L, faktor transfer oksigen pada bakteri merupakan kriteria utama dalam prediksi kondisi bioreaktor *scale up* (Hubbard et al, 1994).

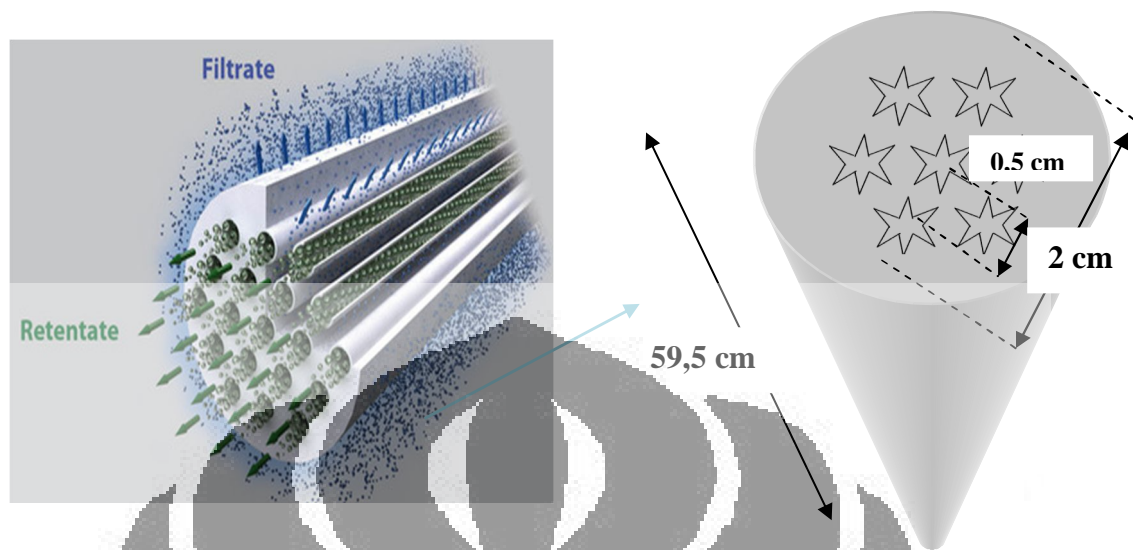
Penggunaan diameter impeller 25 cm berdasarkan perbandingan geometrik 12 L (González-Sáiz, 2009) maka dari persamaan 12.13.2 dan persamaan 2.15 berdasarkan Daya yang dikonsumsi per Volume liquid ( $P_g/V_L$ ) dan kecepatan superfisial gas udara ( $v_g$ ) yang dibuat tetap, didapatkan nilai agitasi sebesar 123 rpm dengan laju aerasi sekitar 75 Liter/ menit. Dengan menggunakan persamaan *scale up*

pada persamaan 2.10, kemudian mensubstitusikan nilai konstanta a,b dan c berdasarkan tabel sesuai karakteristik proses fermentasi menggunakan jenis impeller *six bladed rushton turbine* dengan asumsi media *non-coalescing* (Moo Young and Blanch, 1981) maka didapatkan nilai koefisien transfer massa oksigen ( $k_La$ ) sebesar  $0,022 \text{ s}^{-1}$ . Dengan Menggunakan kriteria Daya yang dikonsumsi per Volume liquid ( $P_g/V_L$ ) dan kecepatan *impeller tip* ( $\pi ND_i$ ) yang dibuat tetap didapatkan nilai agitasi sebesar 100 rpm dan laju aerasi 75 Liter/ menit dan nilai koefisien transfer massa oksigen adalah  $0,0179 \text{ s}^{-1}$ . Kondisi tersebut merupakan acuan sebagai basis untuk mendapatkan koefisien transfer oksigen yang akan dibuat tetap antara bioreaktor 12 L dan 150 L.

Menurut Juaninto, 2008 didapatkan nilai koefisien transfer oksigen pada proses deproteinisasi sebesar  $0,02182 \text{ h}^{-1}$ . Perhitungan kondisi operasi kriteria tersebut belum menghasilkan koefisien transfer massa oksigen yang sama, sehingga dalam prediksi kondisi *scale up* perlu dilakukan variasi kecepatan impeller antara 105 - 115 rpm dengan laju aerasi 75 Liter/menit untuk mendapatkan nilai koefisien transfer massa oksigen yang sama yaitu sekitar 0,02182. Nilai tersebut tidak terlalu jauh dari kondisi kriteria sebelumnya karena nilai  $k_La$  hanya berselisih sedikit. Sehingga ketiga kriteria parameter yang digunakan hampir memiliki kesamaan kondisi operasi yang hampir sama, namun kondisi operasi berdasarkan nilai koefisien transfer oksigen menjadi prioritas utama dalam eksperimen penentuan keberhasilan proses *scale up* kapasitas 150 L.

#### 4.4 Desain *Scale Up* Membran Keramik Mikrofiltrasi

Membran keramik mikrofiltrasi yang digunakan pada proses demineralisasi dan deproteinisasi untuk menyaring bakteri dan mengembalikannya kedalam bioreaktor 12 L memiliki ukuran pori- pori rata- rata  $0,3 \mu\text{m}$ , berbentuk tabung dengan panjang 59,5 cm, diameter channel 0,5 cm dan jumlah *channel* sebanyak 7 buah, ditunjukkan Gambar 4.10.



**Gambar 4.10** Deskripsi Ukuran Membran Keramik Mikrofiltrasi

Spesifikasi membran keramik yang digunakan memiliki kapasitas chanel 1,1 Liter dengan luas area tiap chanel adalah  $1,76 \text{ cm}^2$ . Dari proses bioreaktor 12 Liter volume kerja 6 L tersebut didapatkan laju alir filtrat berdasarkan waktu tinggal media 16 jam sebesar  $5,21 \text{ mL/menit}$ , waktu tinggal media 24 jam sebesar  $3,47 \text{ mL/menit}$  dan waktu tinggal media 12 jam sebesar  $7 \text{ mL/menit}$ . Untuk mendapatkan laju alir tersebut maka laju alir masukan ke dalam membran diatur dan dikontrol antara  $15-105 \text{ mL/menit}$ . Dengan laju alir tersebut maka waktu tinggal umpan adalah antara 10-30 menit di dalam membran dan dari data pada gambar diatas akan didapatkan luas area filtrasi untuk 21 channel adalah  $29,17 \text{ dm}^2$ .

Pada proses *scale up* bioreaktor 150 L volume kerja 97 L, laju alir keluaran filtrat akan menjadi  $65,3 \text{ mL/menit}$  berdasarkan waktu tinggal media 24 jam,  $98 \text{ mL/menit}$  berdasarkan waktu tinggal media 16 jam dan  $131 \text{ mL/menit}$  berdasarkan waktu tinggal media 12 jam. Untuk mendapatkan laju filtrat tersebut, maka diasumsikan laju masukan ke dalam membran hasil *scale up* adalah antara  $564-1974 \text{ mL/menit}$  berdasarkan perbandingan laju masukan sebelum dan sesudah *scale up*.

Dengan asumsi fluks  $1,061 \text{ mL/menit dm}^2$  maka luas area filtrasi yang dibutuhkan menjadi  $122,9 \text{ dm}^2$ , luas area tersebut adalah 18,8 kali lebih besar dibandingkan luas permukaan membran sebelum di *scale up*. Karena luas area yang

terlalu besar maka dengan laju yang diperbesar dua kali sehingga tekanan pada membran akan meningkat dan laju filtrat akan meningkat, sehingga pada proses *scale up* maka akan di dapatkan luas permukaan menjadi 10 kali semula. Selain meningkatkan laju umpan pada membran dapat pula meningkatkan tinggi membran menjadi 2 kali lebih tinggi, menjadi 119 cm. Luas permukaan filtrasi yang dibuat menjadi 10 kali semula maka membutuhkan 66 channel dengan spesifikasi diameter channel dan tinggi membran adalah 1,5 cm dan 29,5 cm dengan laju yang diperbesar dua kali (Tabel 4.6)

**Tabel 4.6** Spesifikasi *scale up* membran keramik mikrofiltrasi

Spesifikasi Membran	Sebelum <i>Scale Up</i>	Hasil <i>Scale Up</i>	
Diameter channel (cm)	0,5	0,5	0,5
Jumlah channel	7	132	65
Ukuran Pori ( $\mu\text{m}$ )	0,3	0,3	0,3
Tinggi membran (cm)	59,5	29,5	119

#### 4.5 Prediksi Model Kinetika

Percobaan fermentasi kontinu secara eksperimental akan ditentukan parameter kinetika pertumbuhan bakteri, konsumsi substrat dan pembentukan produk. Prediksi *scale up* bioreaktor 150 L dengan cara membuat hasil simulasi kinetika bioreaktor 150 L mendekati bioreaktor 12 L. Dari prediksi kinetika tersebut akan ditentukan neraca massa yang akan diterapkan.

##### 4.5.1 Model Kinetika Demineralisasi Kontinu *High Cell Density*

Data eksperimen percobaan batch (Deden, 2009) yang menjadi acuan dimulainya percobaan secara kontinu, digunakan untuk menentukan data kinetika proses fermentasi secara batch. Untuk Mendapatkan data kinetika tersebut maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

1. Menentukan nilai kecepatan pertumbuhan spesifik bakteri *Lactobacillus licheniformis* FNCC116 ( $\mu_{LA_{max}}$ ) dan Konsentrasi saturasi untuk Substrat ( $K_{Sg}$ )

Dari data percobaan batch maka dibuat hubungan antara konsumsi substrat glukosa ( $1/S_g$ ) pada sumbu x grafik dengan laju pertumbuhan spesifik bakteri ( $1/\mu_{LA_{max}}$ ) pada sumbu y grafik, berdasarkan persamaan 2.36 akan dibentuk persamaan 4.1.

$$\frac{1}{\mu_{LA}} = \frac{K_{Sg}}{\mu_{LA_{max}}} \frac{1}{S_g} + \frac{1}{\mu_{LA_{max}}} \quad (4.1)$$

Dari persamaan tersebut diubah menjadi persamaan garis linear berdasarkan data eksperimen, sehingga didapatkan  $y = 147x + 3,539$ . Dari persamaan garis linear tersebut didapatkan nilai  $\mu_{LA_{max}} = 0,282$  per jam dan konstanta saturasi untuk substrat  $K_S = 41,53$  gram/ Liter.

2. Menentukan nilai koefisien *yield* ( $Y_{X/S_g}$ ) dan koefisien *maintenance* substrat ( $m$ )

Data kinetika tersebut diperoleh dengan membuat hubungan laju pertumbuhan bakteri ( $r_{X_{LA}}/X_{LA}$ ) pada sumbu x grafik dengan laju konsumsi substrat ( $r_{S_g}/X_{LA}$ ) pada sumbu y grafik, berdasarkan persamaan 2.40 maka akan dibentuk persamaan 4.2.

$$\frac{-r_{S_g}}{X_{LA}} = \frac{1}{Y_{X_{LA}}/S_g} \frac{r_{X_{LA}}}{X_{LA}} + m \quad (4.2)$$

Dari data eksperimen didapatkan persamaan garis linear  $y = 6,398x + 0,092$ , sehingga diperoleh nilai  $Y_{X/S_g} = 0,156$  gram bakteri/ gram glukosa dan  $m = 0,092$

3. Menentukan nilai konstanta pembentukan produk  $\alpha$  dan  $\beta$

Data kinetika tersebut diperoleh dengan membuat hubungan laju pertumbuhan bakteri ( $r_{X_{LA}}/X_{LA}$ ) pada sumbu x grafik dengan laju pembentukan produk ( $r_{PAL}/X_{LA}$ ) pada sumbu y grafik, berdasarkan persamaan 2.47 maka akan dibentuk persamaan 4.3

$$\frac{r_{PAL}}{X_{LA}} = \alpha \frac{r_{X_{LA}}}{X_{LA}} + \beta \quad (4.3)$$

Dari data eksperimen didapatkan persamaan garis linear  $y = 1,845x + 0,095$ , sehingga diperoleh nilai  $\alpha = 1,845$  dan  $\beta = 0,095$ .

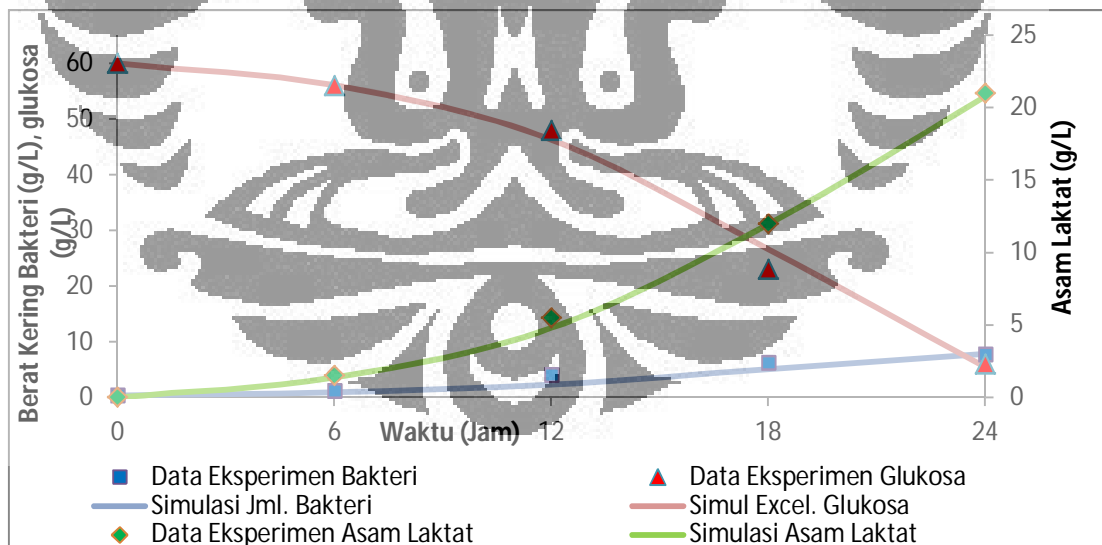
data kinetika untuk sel bakteri, substrat glukosa dan produk asam laktat yang ditunjukkan pada Tabel 4.7.

**Tabel 4.7** Data kinetika fermentasi demineralisasi batch

$\mu_{LAmax}$	$K_{Sg}$	$Y_{X_{LA}/S_g}$	$m$	$\alpha$	$B$
0,282 /jam	41,53 g/L	0,156 g/g	0.092 g/g.jam	1,845	0,095

Keterangan:  $\mu_{LAmax}$  = laju pertumbuhan spesifik maksimum bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 (1/jam),  $X_{LA}$  = konsentrasi *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 (g/L),  $Y_{X_{LA}/S_g}$  = koefisien yield bakteri/ glukosat (g/g)

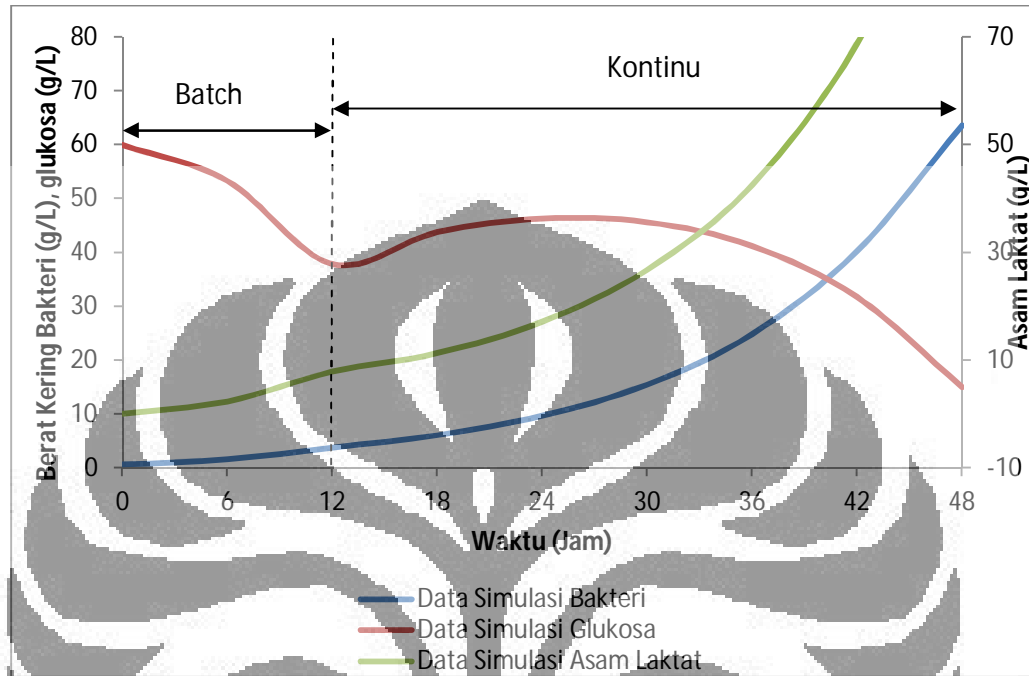
Jumlah awal sel bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 adalah 0,336 gram/Liter, substrat glukosa adalah 60 gram/Liter dan belum ada produk asam laktat yang terbentuk (Lampiran 4), maka dengan menggunakan persamaan neraca massa didapatkan hasil proses deproteinisasi secara batch pada Gambar 4.11.



**Gambar 4.11** Simulasi demineralisasi menggunakan sistem batch

Proses Demineralisasi kontinu *high cell density* selama 12 jam pertama menggunakan proses batch dan kemudian setelah jam ke 12 proses kontinu dimulai,

dengan menggunakan data kinetika pada Tabel 4.7 maka di dapatkan hasil simulasi yang ditunjukkan pada Gambar 4.12.



**Gambar 4.12** Simulasi demineralisasi kontinu *high cell density* laju media substrat 5,21 mL/menit

Asumsi fenomena karakteristik pertumbuhan bakteri, substrat dan produk yang digunakan pada simulasi pada sistem kontinu *high cell density culture* dengan menggunakan membran adalah sama dengan sistem batch yang menjadi dasar sistem ini, perbedaannya hanya neraca massa yang akan diterapkan. Neraca massa dan kinetika transfer oksigen tidak diterapkan karena fermentasi ini tidak menggunakan aerasi.

Setelah jam ke 12 proses kontinu dimulai pada awal proses tersebut memiliki jumlah bakteri sebanyak 3,93 g/L, kandungan glukosa 34,35 g/L dan produk asam laktat sebanyak 8,9 g/L. Pada hasil simulasi tersebut menunjukkan jumlah bakteri dan produk asam laktat akan cenderung naik, sedangkan substrat konsumsi bakteri akan mengalami kenaikan saat dialirkan media secara kontinu pada jam ke 12 hingga jam ke 36, kemudian akan turun akibat jumlah bakteri yang naik secara signifikan.



#### 4.5.2 Prediksi Proses Demineralisasi pada Bioreaktor 150 L

Untuk memprediksi kinetika yang terjadi pada proses demineralisasi proses *scale up* menggunakan bioreaktor 150 L, asumsi yang digunakan adalah kinetika proses yang terjadi pada bioreaktor 12 L akan sama dengan data kinetika bioreaktor 150 L, sehingga kondisi optimal yang telah dilakukan pada bioreaktor 12 L juga di dapatkan pada bioreaktor 150 L dengan membuat hasil simulasi bioreaktor 12 L sebelumnya sama dengan hasil simulasi bioreaktor 150 L.

Pada simulasi akan digunakan data sama dengan Tabel 4.7. Data awal yang digunakan pada simulasi *scale up* bioreaktor 150 L pada proses batch dan kontinu menggunakan data awal jumlah bakteri, kandungan glukosa dan asam laktat pada simulasi bioreaktor 12 L. Volume kerja adalah 97 L (berdasarkan perbandingan geometri antara bioreaktor 12 L dan 150 L), sehingga pada proses kontinu akan dialirkan media substrat glukosa 6,06 L/jam (waktu tinggal media 16 jam). Hasil simulasi kinetika pada hasil *scale up* bioreaktor 150 L akan sama dengan hasil simulasi sebelumnya bioreaktor 12 L.

#### 4.5.3 Kinetika Deproteinisasi Kontinu *High Cell Density*

Data eksperimen percobaan batch (Deden, 2009) yang menjadi acuan dimulainya percobaan secara kontinu digunakan untuk menentukan data kinetika proses fermentasi secara batch, ditunjukkan pada Tabel 4.8. Untuk Mendapatkan data kinetika tersebut maka dilakukan perhitungan sebagai berikut.:

1. Menentukan nilai kecepatan pertumbuhan spesifik bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1 ( $\mu_{BLmax}$ ) dan Konsentrasi saturasi untuk Substrat ( $K_{SN}$ ).

Seperti perhitungan sebelumnya dengan menggunakan persamaan 4.1. didapatkan Dari data eksperimen didapatkan persamaan garis linear  $y = 5,47x + 2,003$ , sehingga nilai  $\mu_{BLmax} = 0,499$  per jam dan konstanta saturasi untuk substrat  $K_{SN} = 2,73$  gram/ Liter.

2. Menentukan nilai koefisien *yield* ( $Y_{X_{BL}/S_N}$ ) dan koefisien *maintenance* substrat (m)

Data kinetika tersebut diperoleh persamaan 4.2, seperti perhitungan sebelumnya.

Dari data eksperimen didapatkan persamaan garis linear  $y = 0,055x + 0,001$ , sehingga diperoleh nilai  $Y_{X_{BL}/S_N} = 18,18$  gram bakteri/ gram nitrogen dan  $m = 0,001$  gram nitrogen/ gram bakteri. jam

3. Menentukan nilai konstanta pembentukan produk  $\alpha$  dan  $\beta$

Berdasarkan persamaan 4.4 didapatkan persamaan garis linear  $y = 1190x + 32,37$ , sehingga diperoleh nilai  $\alpha = 1190$  dan  $\beta = 32,37$ .

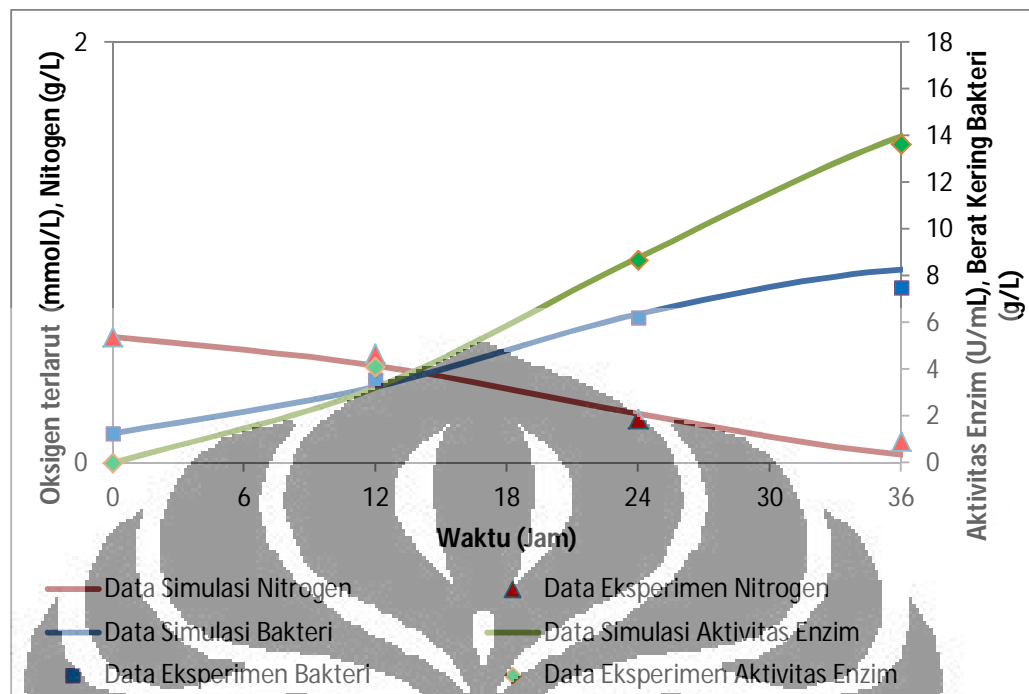
Data kinetika untuk sel bakteri, substrat glukosa dan produk asam laktat yang ditunjukkan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Data kinetika deproteinisasi batch

$\mu_{BL_{max}}$	$K_{S_N}$	$Y_{X_{BL}/S_N}$	M	$\alpha$	$\beta$
0,499./jam	2,48 g/L	18,8 g/g	0.001 g/g.jam	1190	32,37

Keterangan:  $\mu_{BL_{max}}$  = laju pertumbuhan spesifik maksimum bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1 (1/jam),  $X_{BL}$  = konsentrasi *Bacillus licheniformis* F11.1 (g/L),  $Y_{X_{BL}/S_N}$  = koefisien *yield* bakteri/ glukosat (g/g)

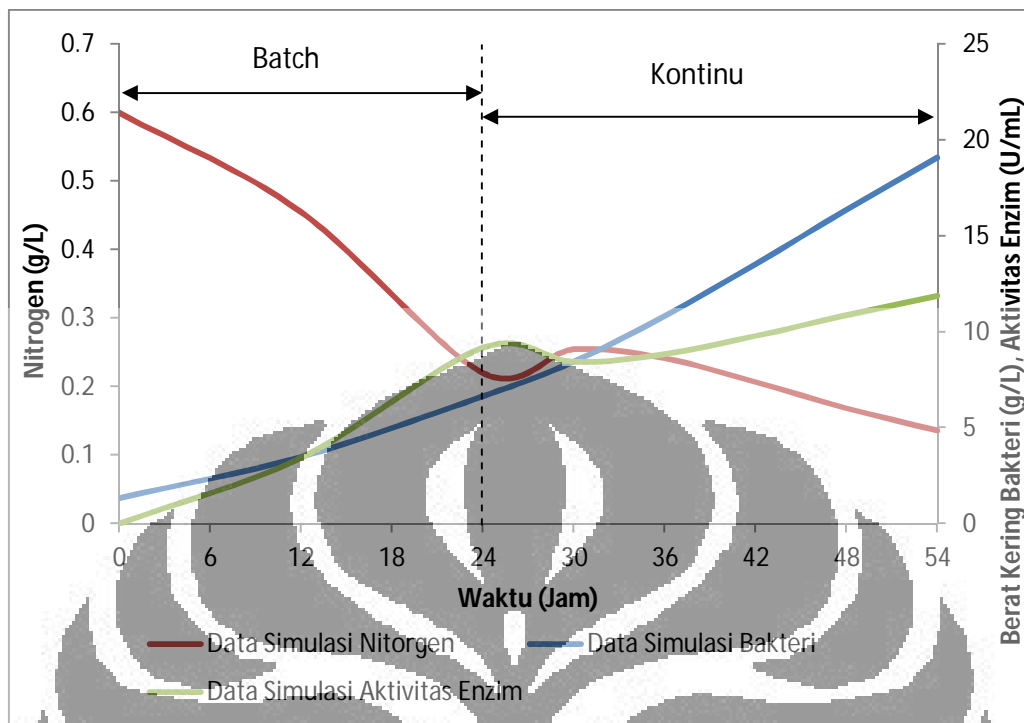
Jumlah awal sel bakteri adalah 1,25 gram, substrat nitrogen adalah 0,6 gram dan belum ada produk aktivitas enzim yang terbentuk (Lampiran 4), maka dengan menggunakan persamaan neraca massa didapatkan hasil proses deproteinisasi secara batch yang ditunjukkan pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13 Simulasi deproteinisasi menggunakan sistem batch

Pada proses deproteinisasi kontinu *high cell density* selama 24 jam pertama dilakukan selama *batch* selanjutnya proses kontinu dengan adanya aliran umpan dimulai. Fenomena kinetika proses pertumbuhan yang terjadi mengikuti data kinetika sebelumnya yang ditunjukkan pada Tabel 4.8. Awal jumlah bakteri yang digunakan adalah 1,339 gram, substrat nitrogen adalah 0,6 gram dan belum ada produk aktivitas enzim yang terbentuk.

Setelah 24 jam aliran media dilakukan secara kontinu dengan laju alir 7 mL/menit. Pada keadaan tersebut didapatkan jumlah bakteri sebanyak 6,2 gram, substrat nitrogen adalah 0,22 gram dan aktivitas enzim 9164,16 U/L, maka dari persamaan neraca massa kontinu didapatkan fenomena kinetika proses deproteinisasi pada percobaan ini ditunjukkan pada Gambar 4.14.



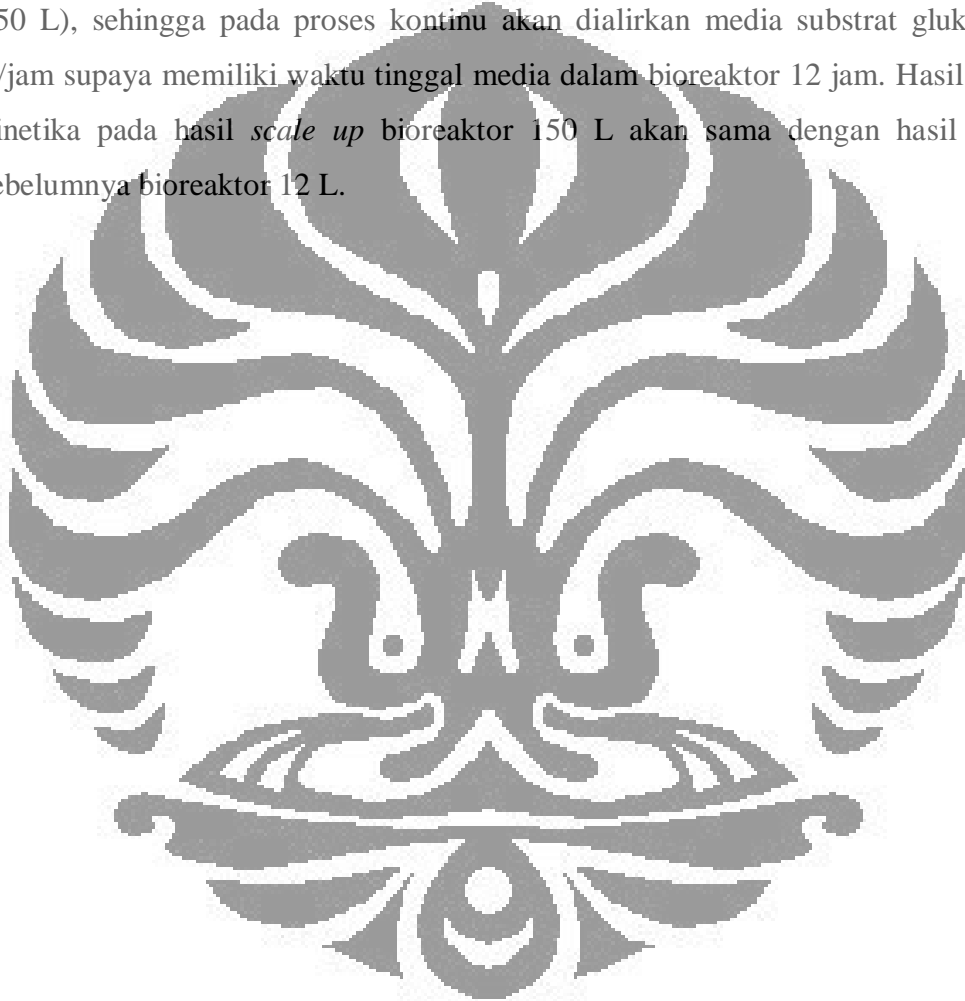
**Gambar 4.14** Simulasi deproteinisasi kontinu *high cell density* menggunakan limbah kulit udang hasil demineralisasi

Dari data simulasi pada Gambar 4.14, jumlah bakteri dan produk, aktivitas enzim akan cenderung naik, sedangkan substrat konsumsi bakteri akan mengalami kenaikan saat dialirkan media secara kontinu pada jam ke 24 hingga jam ke 30, kemudian akan turun akibat jumlah bakteri yang naik secara signifikan.

#### 4.5.4 Prediksi Proses Deproteinisasi pada Bioreaktor 150 L

Untuk memprediksi kinetika yang terjadi pada proses deproteinisasi proses *scale up* menggunakan bioreaktor 150 L, asumsi yang digunakan adalah kinetika proses yang terjadi pada bioreaktor 12 L akan sama dengan data kinetika bioreaktor 150 L, sehingga kondisi optimal yang telah dilakukan pada bioreaktor 12 L juga di dapatkan pada bioreaktor 150 L dengan membuat hasil simulasi bioreaktor 12 L sebelumnya sama dengan hasil simulasi bioreaktor 150 L.

Pada simulasi akan digunakan data sama dengan Tabel 4.8 untuk 24 jam pertama secara batch dan setelah jam ke 24, proses kontinu dimulai digunakan data sama dengan Tabel 4.8. Data awal yang digunakan pada simulasi *scale up* bioreaktor 150 L pada proses batch dan kontinu menggunakan data awal jumlah bakteri, kandungan glukosa dan asam laktat pada simulasi bioreaktor 12 L. Volume kerja adalah 97 L (berdasarkan perbandingan geometri antara bioreaktor 12 L dan 150 L), sehingga pada proses kontinu akan dialirkan media substrat glukosa 8,08 L/jam supaya memiliki waktu tinggal media dalam bioreaktor 12 jam. Hasil simulasi kinetika pada hasil *scale up* bioreaktor 150 L akan sama dengan hasil simulasi sebelumnya bioreaktor 12 L.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada percobaan demineralisasi dan deproteinisasi sistem *high cell density* menggunakan membran keramik 12 L dan desain *scale up* pada bioreaktor 150 L, menggunakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 dan *Bacillus licheniformis* F11.1, dapat disimpulkan:

1. Proses eksperimen demineralisasi kulit udang pada bioreaktor kapasitas 12 L secara kontinu *high cell density* menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116, didapatkan kondisi optimal dengan agitasi 50 rpm, tanpa aerasi, konsentrasi umpan glukosa 6,5 % dan waktu tinggal media 16 jam. Proses ini dapat menurunkan kandungan abu dari 21,8 % (b/b) menjadi 0,9 % (b/b) pada jam ke 30 dan mencapai 0,1 % pada jam ke 48. Sistem kontinu *high cell density* pada proses ini menurunkan kandungan abu lebih cepat dua kali dibandingkan penelitian sebelumnya *non-high cell density*.
2. Proses eksperimen deproteinisasi kulit udang pada bioreaktor kapasitas 12 L secara kontinu *high cell density* menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1, didapatkan kondisi optimal dengan agitasi 250 rpm, aerasi 2 vvm (12 L/menit), menggunakan limbah kulit udang hasil demineralisasi dan waktu tinggal media 12 jam. Proses ini dapat menurunkan kandungan protein dari 30 % (b/b) menjadi 1,12 % (b/b) pada jam ke 54. Sistem kontinu *high cell density* pada proses ini menurunkan kandungan protein lebih cepat dua kali dibandingkan penelitian sebelumnya *non-high cell density*.

3. Prediksi kondisi operasi demineralisasi pada bioreaktor *scale up* kapasitas 150 L akan digunakan agitasi 24 rpm dan tanpa aerasi dengan diameter impeller 31 cm (kriteria kecepatan *impeller tip* ( $\pi ND_i$ ) yang dibuat konstan). Laju umpan glukosa yang diberikan pada proses kontinu adalah 6,06 L/jam (101 mL/menit) dengan asumsi waktu tinggal media pada pada proses *scale up* sama dengan bioreaktor kapasitas 12 L selama 16 jam, sehingga lama proses fermentasi adalah 30 jam untuk menurunkan kandungan abu hingga 0,9% (b/b).
4. Desain bioreaktor *scale up* ditunjukkan pada Tabel 5.1 dibawah ini:

Tabel 5.1 Geometri bioreaktor 150 L demineralisasi dan deproteinisasi kontinu

Dimensi	Bioreaktor 150 L	
	Demineralisasi	Deproteinisasi
Total Volume, $V_T$ (L)	150	150
Volume Kerja, $V_L$ (L)	97	97
Tinggi Vessel, $H_T$ (cm)	90	90
Tinggi Liquid, $H_L$ (cm)	49,25	49,25
Diameter Vessel, $D_T$ (cm)	50	50
Jenis Impeller	six bladed disc turbine	six bladed disc turbine
Jumlah Impeller	3	3
Diameter Impeller, $D_i$ (cm)	40,5	31
Diameter internal impeller, $D_{li}$ (cm)	14,5	17,5
Lebar Impeller, $W_i$ (mm)	3,5	3,5
Jarak Impeller dari atas Bioreaktor, $H_a$ (cm)	57,5	57,5
Jarak impeller dari bawah, $H_b$ (cm)	2,5	2,5
Jarak antara impeller, $d$ (cm)	18,3	18,3
Diameter <i>Sparger</i> , $D_s$ (cm)	-	1,5
Panjang <i>sparger</i> $H_s$ (cm)	-	70
<i>Baffle</i>	-	-

5. Prediksi kondisi operasi deproteinisasi pada bioreaktor *scale up* kapasitas 150 L akan digunakan agitasi 123 rpm dan aerasi 75 L/ menit (kriteria daya yang dikonsumsi per volume liquid ( $P_g/V_L$ ) dan kecepatan superficial gas udara ( $v_g$ ) yang dibuat konstan), agitasi 100 rpm dan aerasi 75 L/ menit (Daya yang dikonsumsi per Volume liquid ( $P_g/V_L$ ) dan kecepatan *impeller tip* ( $\pi ND_i$ ) yang dibuat konstan), agitasi 105-115 rpm dan aerasi 75 L/ menit (kriteria koefisien transfer oksigen ( $k_L a$ ) dibuat konstan) dengan diameter impeller 25 cm. Dari pilihan agitasi tersebut akan dilakukan eksperimen penggunaan agitasi antara 105-123 rpm. Laju umpan glukosa yang diberikan pada proses kontinu adalah 8,08 L/jam (135 mL/menit) dengan asumsi waktu tinggal media pada pada proses *scale up* sama dengan bioreaktor kapasitas 12 L selama 12 jam, sehingga lama proses fermentasi adalah 54 jam untuk menurunkan kandungan protein hingga 1,12% (b/b).
6. Desain membran keramik mikrofiltrasi pada proses *scale up* ditunjukkan pada Tabel 5.2 dibawah ini:

Tabel 5.2 Spesifikasi *scale up* membran keramik mikrofiltrasi

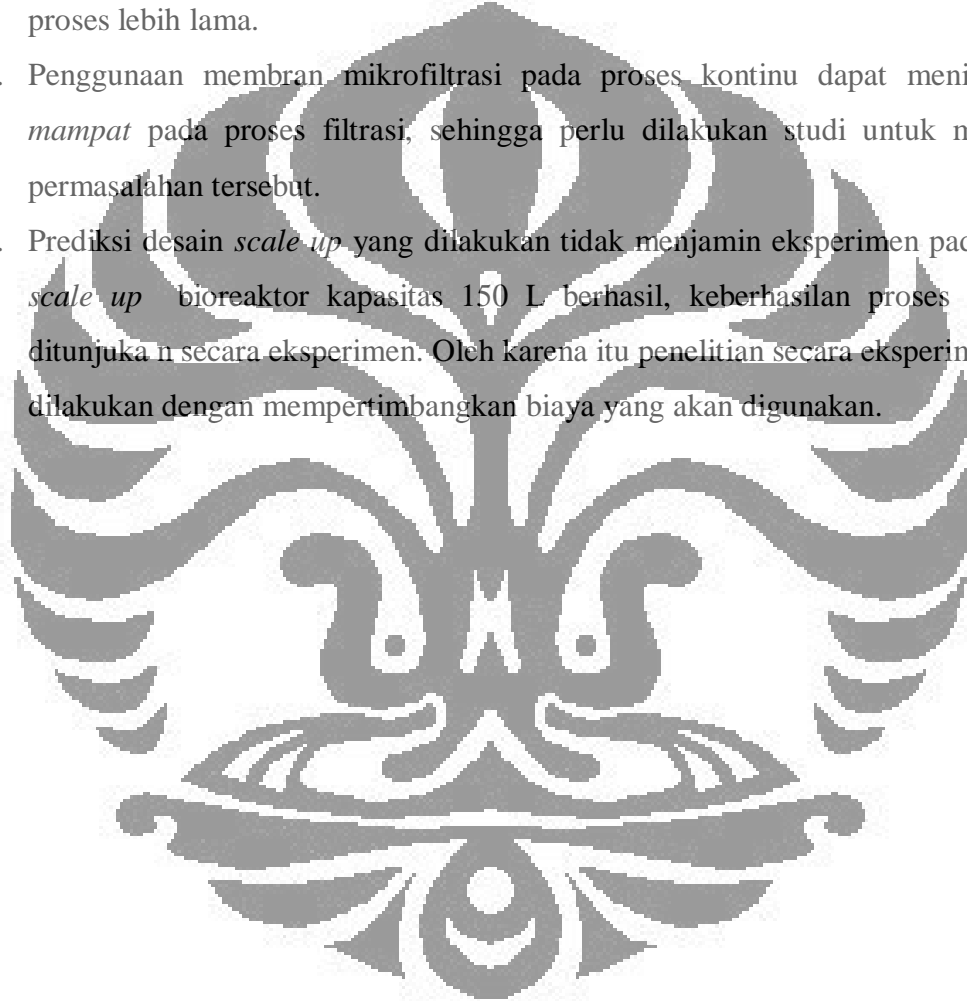
Spesifikasi Membran	Sebelum <i>Scale Up</i>	Hasil <i>Scale Up</i>	
Diameter channel (cm)	0,5	0,5	0,5
Jumlah channel	7	132	65
Ukuran Pori ( $\mu\text{m}$ )	0,3	0,3	0,3
Tinggi membran (cm)	59,5	29,5	119



## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh disarankan antara lain

1. Proses fermentasi pada *scale up* kapasitas bioreaktor menggunakan membran keramik mikrofiltrasi dengan kapasitas besar membutuhkan biaya investasi yang sangat mahal, sehingga diperlukan tinjauan tekno-ekonomi kelayakan ekonomi penggunaan membran mikrofiltrasi atau tidak menggunakannya dengan waktu proses lebih lama.
2. Penggunaan membran mikrofiltrasi pada proses kontinu dapat menimbulkan *mampat* pada proses filtrasi, sehingga perlu dilakukan studi untuk mengatasi permasalahan tersebut.
3. Prediksi desain *scale up* yang dilakukan tidak menjamin eksperimen pada proses *scale up* bioreaktor kapasitas 150 L berhasil, keberhasilan proses *scale up* ditunjukkan secara eksperimen. Oleh karena itu penelitian secara eksperimen perlu dilakukan dengan mempertimbangkan biaya yang akan digunakan.



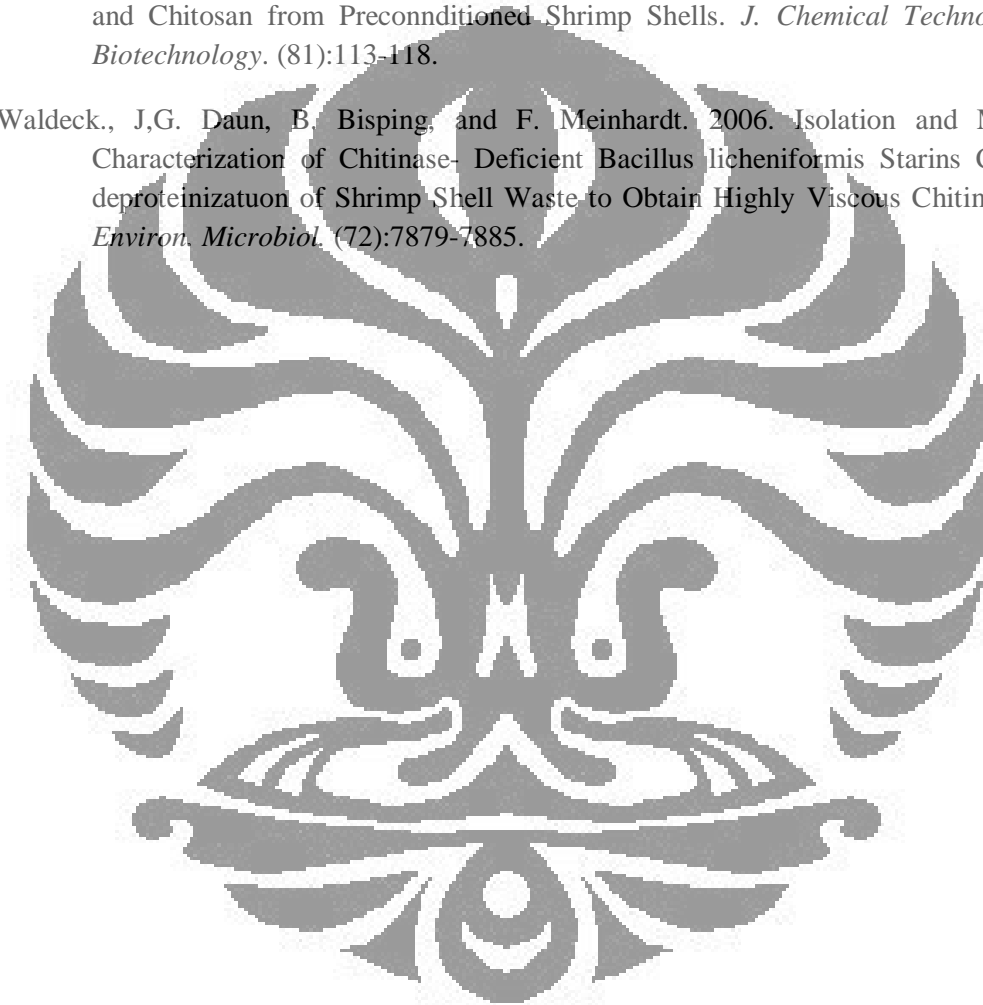
## DAFTAR PUSTAKA

- Badino Jr, A. C., Facciotti, M. C. R., and Schmidell, W. (2001). Volumetric oxygen Transfer Coefficients ( $k_La$ ) in Batch Cultivations involving Non-Newtonian Broths. *Biochem. Eng.* 8: 111-119.
- Bailey, J., and Ollis, O. (1986). *Biochemical Engineering Fundamental*. 2nd ed. New York: Mc Graw-Hill.
- Chia-Hua Hsu (2003). *Characterization of a Centrifugal, Packed-bed Reactor for Xanthan Gum Production*. University of Maryland: Ph.D. Thesis.
- Cooper, C. M., Fernstrom, G. A., and Miller, S. A. (1944). Performance of Agitated Gas-Liquid Contactors. *Ind. Eng. Chem.* 36: 504-509.
- Deden, 2009. Tesis Program Pasca Sarjana, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- Dunn, I.J., Heninze, E., Ingham, J., and Prenosil. *Biological Reaction Engineering*. 2<sup>nd</sup> ed. 2003. Switzerland: Wiley-VCH.
- Frazier, W.B., and D.C Westhoff. 1988. Food Microbiology. McGraw-Hill, Inc. New York. 539 pp.
- Geankoplis, C. J. (1993). *Transport Processes and Unit Operations*. 3rd ed. New York: Prentice Hall.
- González-Sáiz, J.M., Pizarro, C., Garrido-Vidal, D., 2008. Modelling gas-liquid and liquid-gas transfers in vinegar production by genetic algorithms. *Journal of Food Engineering* 87, 136-147.
- González-Sáiz, J.M., Pizarro, C., Garrido-Vidal, D., 2009. Modelling the industrial production of vinegar in aerated-stirred fermenters in terms of process variables. *Journal of Food Engineering* 91, 183-196.
- González-Sáiz, J.M., Pizarro, C., Garrido-Vidal, D., 2009. Scale up and design of processes in aerated-stirred fermenters for the industrial production of vinegar. *Journal of Food Engineering* 93, 89-100.
- Herbst, H., and Schumpe, A. (1992). Xanthan Production in Stirred Tank Fermentation: Oxygen Transfer and Scale-up. *Chem. Eng. Technol.* 15: 425-434.

- Hubbard, D. W., Ledger, S. E., and Hoffman, J. A. (1994). *Scaling-up Aerobic Fermentation which Produce non-Newtonian and Viscoelastic Broths*. Netherlands: Klover Academic Publishers.
- Juaninto, 2008. Peningkatan skala produksi kitin dari kulit udang secara biologis, Disertasi Program Pascasarjana, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Pertanian, IPB.
- Jung, W.J., Kuk, J.H., Kim, K.Y., and park, R.D., 2005, Demineralization of red crab shell waste by lactic acid fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol. (Environmental Biotechnology)*, (67):851-654.
- Jung, W.J., Jo G.H., Kuk J.H., Kim K.Y., and Park R.D. 2005. Extraction of Chitin from Red Crab Shell Waste by Cofermentation with *Lactobacillus paracasei* subsp KCTC-3074 and *Serratia marcescens* FS-3. *Appl. Microbiol Biotechnol* (3): 253-255.
- Jung, W.J., G.H. Jo, J.H. Kuk, Y.J. Kim, K.T. Oh and R.D. Park. 2007. Production of chitin from red crab shell waste by successive fermentation with *Lactobacillus paracasei* KCTC-3074 and *Serratia marcescens* FS-3. *Journal of Carbohydrate Polymers*. 68(4): 746-750.
- Karna, B.K.L., Emata, O.C. and Barraquio, V.L. 2007. Lactic Acid and probiotic bacteria from Fermented and Probiotic Dairy Products. *Science Diliman*. 19(2): 23-24.
- Kao et al., 2006, Development of continuous chitinase production process in a membrane bioreactor by *Paenibacillus* sp. CHE-N1. *Process Biochemistry*), (42):606-611.
- Khanafari, A., Marandi, R., and Sanatei Sh., 2008, Recovery of chitin and chitosan from shrimp waste by chemical and microbial methods. *J. Environ. Health. Sci. Eng.*, (5):19-24.
- Lee, B.B., Tham, H.J., and Cham, E.S. 2007. Fed-batch Fermentation of Lactic Acid Bacteria to Improve Biomass Production: A Theoretical Approach. *Journal of Applied Sciences* 7(15):2211-2215.
- Lowry.O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Rundall. 1954. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Bio.Chem.* (193): 265-275.
- Mahmoud, N.S., Ghaly, A.E., and Arab, F., 2007, Unconventional approach for Demineralization of Deproteinized chrustacean shell for chitin production, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3(1): 1-9.

- Martinov, M., and Vlaev, S. D. (2002). Increasing Gas-Liquid Mass Transfer in Stirred Power Law Fluids by Using a New Saving Energy Impeller. *Chem. Biochem. Eng.* 16: 1-6.
- McNeil, B., and Harvey L.M. *Practical Fermentation Technology*. UK: Wiley.
- Moo-young, M., and Blanch, H. W. (1981). *Advance in Biochemical Engineering*. 3rd ed. New York: Springer-Verlay.
- Mohamad, R., Ariff, A., Mohd. Yusoff, H., and Kamal, M. N. (2001). *Fermenter Design and Scale-up*. University Putra Malaysia: Fermentation Unit Technology. Bioscience Institute.
- Nazrul, M.H., 2006. Scale Up Strategies in Stirred and Aerated Bioreactor. Tesis Program Pasca Sarjana, Jurusan Teknik Bioproses, Fakultas Teknik, Universitas Teknologi Malaysia.
- Norwood, K. W., and Metzner, A. B. (1960). *AIChE*. 6: 432.
- Perry, R. H., and Green, D. W. (1997). *Perry's Chemical Engineers Handbook*. 7<sup>th</sup> ed. New York: Mc Graw-Hill.
- Rao, M.S. J. Munoz and W.F. Stevens. 2000. Critical Factors in Chitin Production by Fermentation of Shrimp Biowaste. *J. Appl Microbiol Biotechnol.* (54):808-813.
- Rao, M.S. and W.F. Stevens. 2005. Chitin Production by *Lactobacillus* Fermentation of Shrimp Biowaste in a Drum Reactor and Its Chemical Converion to Chitosan.. *J.Chemical Technology and Biotechnol.* (80):1080-1087.
- Rao, M.S. and W.F. Stevens. 2005. Fermentation of Shrimp Biowaste under Different Salt Concentration with Amylolytic and Non Amylolytic *Lactobacillus Strains* for Chitin Production.. *J Food Technology and Biotechnol.* (44):83-87.
- Shuler, M.L., and Kargi, F. 2002. *Bioprocess Engineering: Basic Concepts*. Second Ed. Pearson Educational International. Prentice hall, Inc., USA.
- Stevens, W.F, Cheypratub, P., Haiqing, S., Lertsutthiwong, P., How, N.C., and Chandrkranchang S. 1998. Alternatives in Shrimp Biotechnology, *Proceeding Shrimp Biotechnology 5<sup>th</sup> Asian Fisheries Forumi, Thailand*.
- Shukla, V. B., Parasu, U., Kulkarni, P. R., and Pandit, A. B. (2001). Scale-up Biotransformation Process in Stirred Tank Reactor using Dual Impeller Bioreactor. *Biochem. Eng.* 8: 19-29.

- Shynowieki, J and Al-Khateeb N. 2003. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition. ProQuest Medical Library*. 43(2):145-171.
- Teknologi-dkp.go.id, 2006, Industri Kitin: Dari Limbah Menjadi bernilai tambah, <http://ikanmania.wordpress.com/2007/12/30/Industri-kitin-dari-limbah-menjadi-bernilai-tambah/>. Diakses: Juni 2010
- Toan, NV., Ng-How, C., Aye KY., and Trang TS. 2006. Production of High Quality Chitin and Chitosan from Preconditioned Shrimp Shells. *J. Chemical Technology and Biotechnology*. (81):113-118.
- Waldeck., J.G. Daun, B. Bisping, and F. Meinhardt. 2006. Isolation and Molecular Characterization of Chitinase- Deficient *Bacillus licheniformis* Strains Capable of deproteinization of Shrimp Shell Waste to Obtain Highly Viscous Chitin. *J. Appl. Environ. Microbiol.* (72):7879-7885.



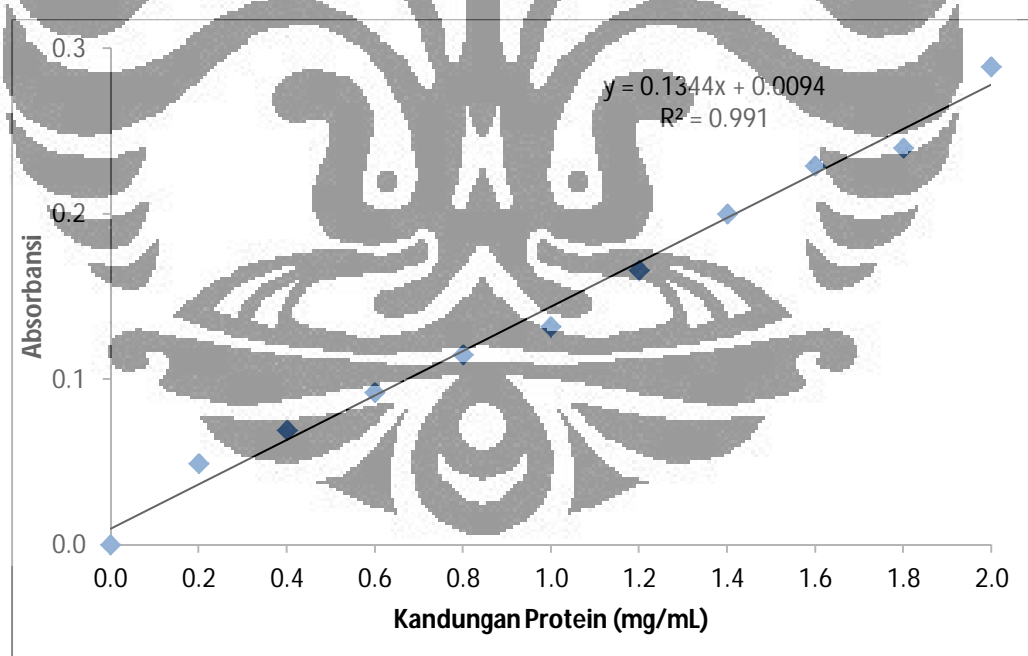
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Kurva standar protein BSA (Bovine Serum Albumin)

Tabel L1.1. Data Pengukuran absorbansi standar protein

Konsentrasi Protein (mg/mL)	Absorbansi ( $\lambda = 750 \text{ nm}$ )		Rata-rata Absorbansi
	I	II	
0.0	0.000	0.000	0.000
0.2	0.049	0.048	0.049
0.4	0.068	0.069	0.069
0.6	0.090	0.093	0.092
0.8	0.114	0.115	0.115
1.0	0.132	0.132	0.132
1.2	0.165	0.167	0.166
1.4	0.201	0.119	0.200
1.6	0.229	0.229	0.229
1.8	0.247	0.232	0.240
2.0	0.286	0.292	0.289

(Sumber: Metode Lowry)



Gambar L1.1 Grafik hubungan antara absorbansi dan konsentrasi standar protein BSA

### Lampiran 3. Demineralisasi dan Deproteinisasi Kontinu *High Cell Density*

Tabel L3.1 Data demineralisasi kontinu *high cell density* dengan waktu tinggal media selama 16 jam pada bioreaktor

Waktu (Jam)	Jumlah Sel (cfu/mL)	Jumlah Sel recycle (cfu/mL)	Kandungan Abu (% b/b)
0	8.70E+08		21.864
6	2.01E+09		
12	4.53E+09		13.271
18	5.64E+10	5.36E+10	7.127089246
24	2.55E+11	3.92E+11	2.2
30	2.94E+11	4.52E+11	0.9
36	3.30E+11	4.84E+11	0.636
42	3.50E+11	5.48E+11	0.1
48	3.81E+11	5.80E+11	0.1

Tabel L3.2 Data demineralisasi kontinu *high cell density* dengan waktu tinggal media selama 16 jam pada bioreaktor

Waktu (Jam)	Jumlah Sel (cfu/mL)	Jumlah Sel recycle (cfu/mL)	Kandungan Abu (% b/b)	pH
0	9.00E+08		20.583	6
6	3.28E+09		15.361	5.25
12	4.99E+09		11.916	5
18	2.90E+10	4.93E+10	5.831	4.33
24	1.14E+11	2.12E+11	2.493	4.15
30	1.94E+11	3.50E+11	1.723	4
36	2.00E+11	3.40E+11	1.274	3.98
42	2.29E+11	5.30E+11	0.5	3.9

Tabel L3.3 Data deproteinisasi kontinu *high cell density* menggunakan limbah kulit udang tanpa proses demineralisasi terlebih dahulu

Waktu (Jam)	Jumlah Sel (cfu/mL)	Jumlah Sel Recycle (cfu/mL)	protein (% b/b)	Aktivitas Protease (U/mL)
0	3.80E+09		30.95	0
12	8.00E+09		17.74	2.63
24	4.65E+10		12.13	7.89
30	1.2E+11	1.92E+11	9.35	14.47
36	2.8E+11	4.5E+11	-	16.05
42	8.28E+11	8.4E+11	4.77	21.05
48	9.26E+11	9.8E+11	-	18.68
60	1.53E+12	1.58E+12	1.23	22.36
72	1.01E+12	1.57E+12	0.51	22.89

Tabel L3.4 Data deproteinisasi kontinu *high cell density* menggunakan limbah kulit udang hasil proses demineralisasi terlebih dahulu

Waktu (Jam)	Jumlah Sel (cfu/mL)	Jumlah Sel Recycle (cfu/mL)	protein (% b/b)	Aktivitas Protease (U/mL)
0	3.10E+09		30	0
12	7.20E+09		19.1	1.57
24	2.39E+10		12.05	8.15
30	3.57E+11	6.7E+11	9.26	-
36	1.59E+11		6.89	16.57
42	3.28E+11	1.88E+12	4.37	22.1
48	1.81E+12	1.85E+12	1.34	18.4
54	2.01E+12	3E+12	1.12	22.36

### Lampiran 3. Penentuan nilai koefisien transfer massa oksigen pada proses deproteinisasi

Persamaan untuk aerasi sebelum dijalankan:

$$\frac{dCl}{dt} = -Q_{O_2} X$$



Persamaan untuk aerasi setelah dijalankan:

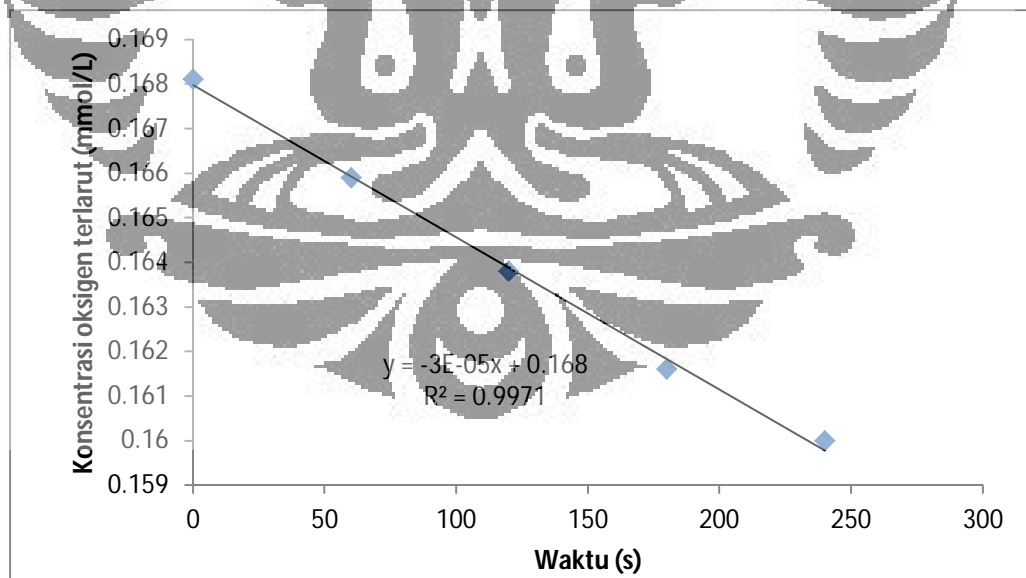
$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (C^* - C_L) - Q_{O_2} X$$

$$C_L = C^* - \frac{1}{k_L a} \left( \frac{dC_L}{dt} + Q_{O_2} X \right)$$

Tabel L4.1 Data konsentrasi oksigen terlarut pada bioreaktor sebelum dan sesudah aerasi dijalankan (Juaninto, 2008)

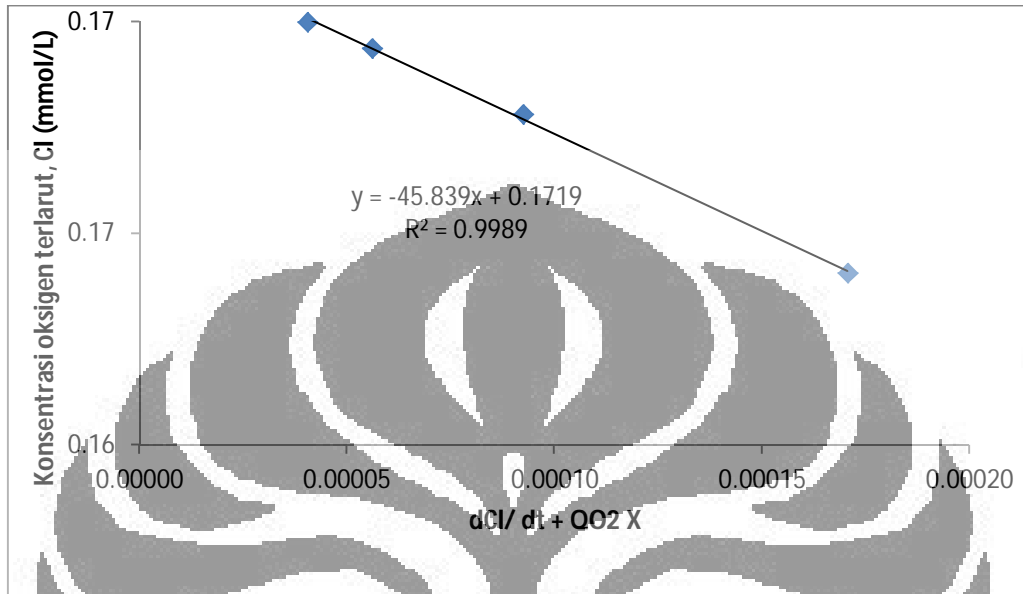
Waktu (s)	Aerasi belum dijalankan	Aerasi dijalankan
	$C_L$ (mmol/L)	$C_L$ (mmol/L)
0	0.1681	
60	0.1659	0.164063
120	0.1638	0.167813
180	0.1616	0.169375
240	0.16	0.17

Dengan membuat grafik hubungan konsentrasi oksigen terlarut dengan waktu sebelum diberikan aerasi maka akan didapatkan nilai konsumsi oksigen terhadap waktu sesuai dengan persamaan aerasi belum dijalankan adalah 0,00003 mmol/ L.



Gambar L4.1 Grafik hubungan oksigen terlarut dan waktu untuk menentukan konsumsi oksigen oleh bakteri

Untuk menentukan koefisien transfer massa oksigen maka akan digunakan data dan persamaan hubungan konsentrasi oksigen terlarut dan waktu setelah aerasi dijalankan, sehingga didapatkan nilai koefisien transfer massa oksigen ( $k_L a$ ) 0,02182/ detik.



Gambar L4.1 Grafik hubungan perubahan oksigen terlarut per waktu ditambah konsumsi oksigen dan waktu untuk menentukan koefisien transfer oksigen ( $k_L a$ ) berdasarkan persamaan aerasi yang telah dijalankan

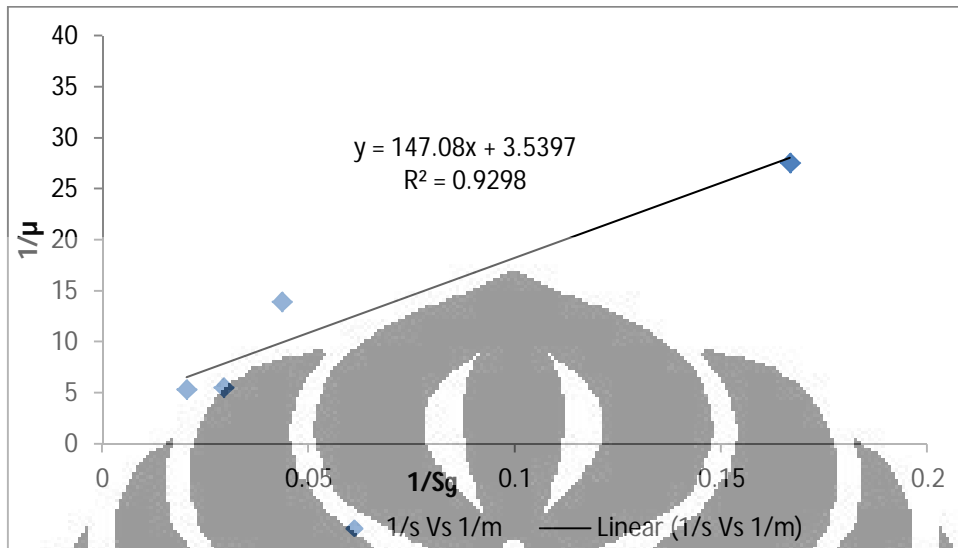
#### Lampiran 4. Penentuan data kinetika proses menggunakan

##### Penentuan Data Kinetika Demineralisasi dan Deproteinisasi

##### Data Batch Demineralisasi oleh *Lactobacillus acidophilus* FNCC116

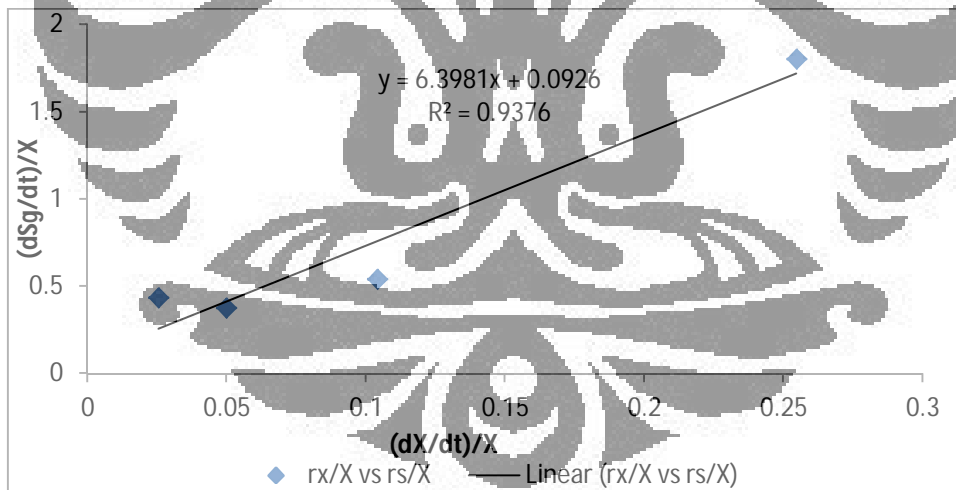
t (h)	(X) cfu/mL	OD	X (g/L)	Glukosa (g/L)	Asam Laktat (g/L)
0	2.51E+07	0.09048	0.336	60	0
6	3.16E+08	0.3232	1.202	56	1.503
12	1.26E+09	1.0784	4.013	48	5.51
18	2.00E+09	1.6704	6.216	23	12
24	2.51E+09	2.0784	7.734	6	21

**Grafik Hubungan  $1/S_g$  dan  $1/\mu$**



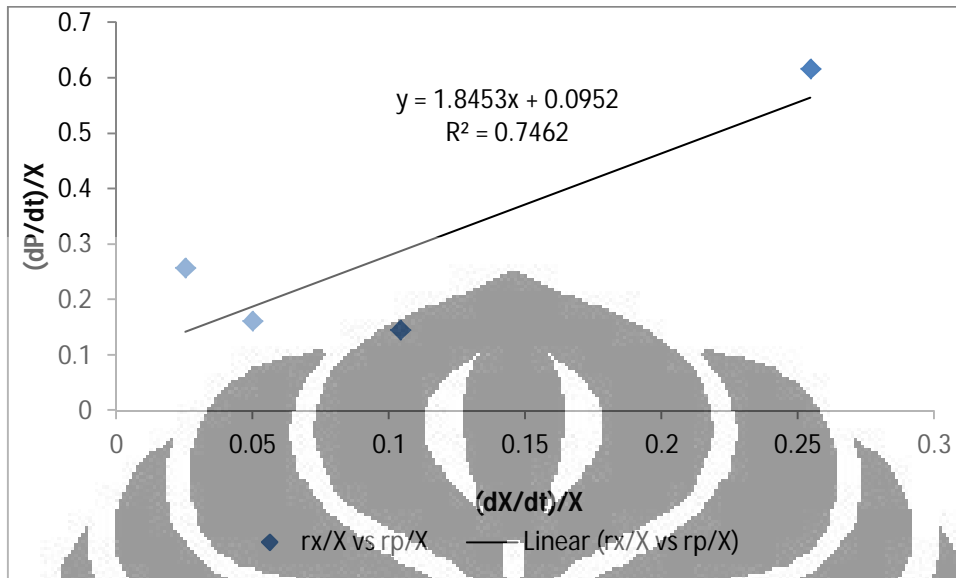
Dari grafik tersebut didapatkan nilai  $\mu_m = 0,282$  dan  $K_S = 41,53$

**Grafik Hubungan  $(dX/dt)/X$  dan  $(dS_g/dt)/X$**



Dari grafik tersebut didapatkan nilai  $Y_{X/S_g} = 0,156$  dan  $m = 0,092$

Grafik Hubungan  $(dX/dt)/X$  dan  $(dP/dt)/X$

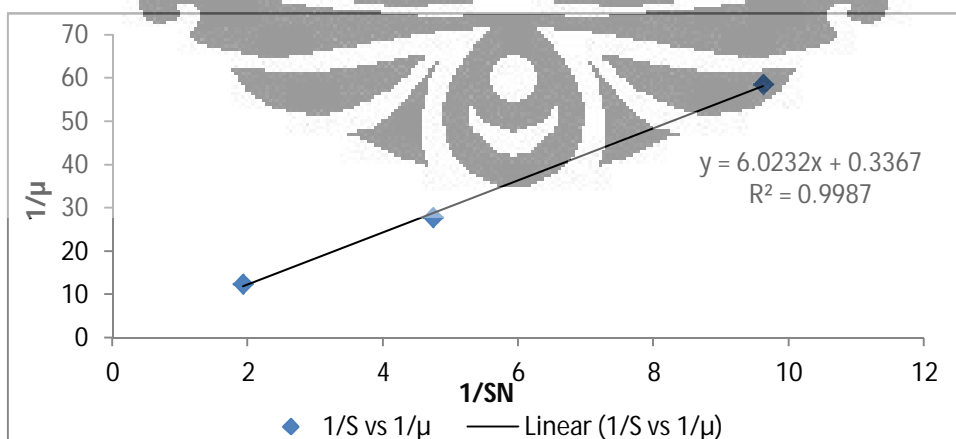


Dari grafik tersebut didapatkan nilai  $\alpha=1,845$  dan  $\beta=0,095$

Data Batch Demineralisasi oleh *Bacillus Licheniformis*

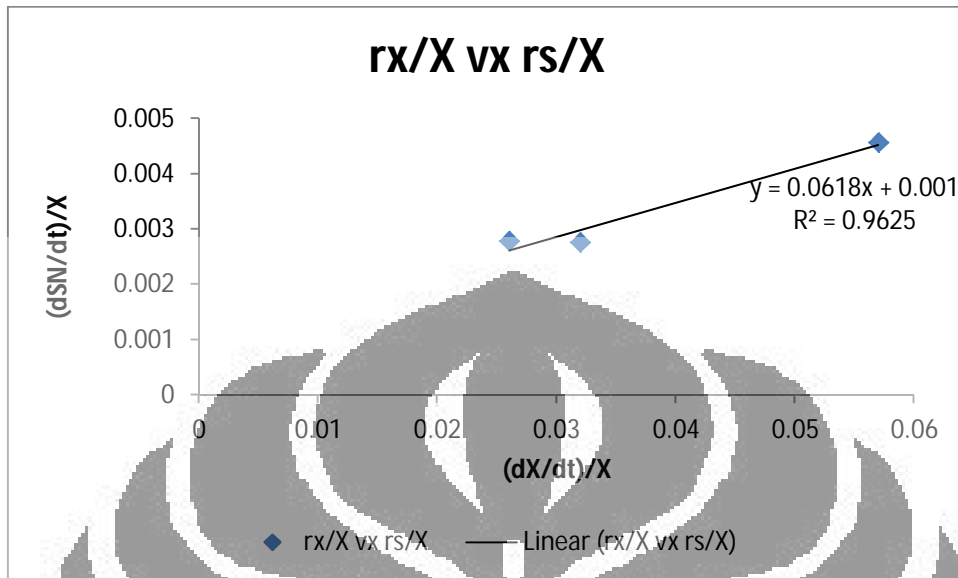
t (h)	X (cfu/mL)	OD	X (g/L)	Nitrogen(g/L)	Akt. protease (U/mL)
0	5.25E+09	4.7699	1.25	0.6	0
12	8.30E+09	7.5149	3.55	0.52	4.105
24	1.46E+10	13.1849	6.23	0.2112	8.685
36	1.76E+10	15.8849	7.50	0.104	13.651

Grafik Hubungan  $1/S_0$  dan  $1/\mu$



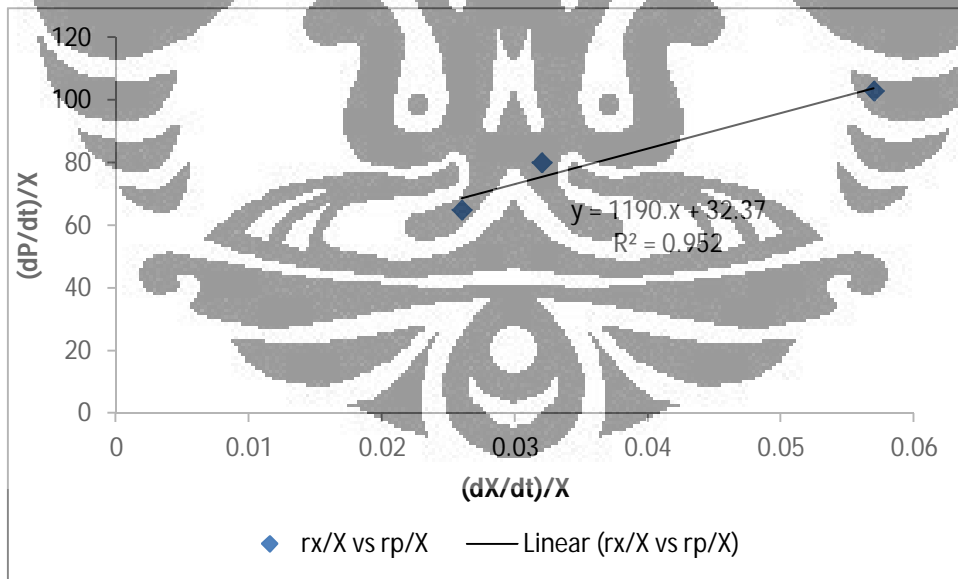
Dari grafik tersebut didapatkan nilai  $\mu_m=0,499$  dan  $K_S= 2,73$

Grafik Hubungan  $(dX/dt)/X$  dan  $(dS_N/dt)/X$



Dari grafik tersebut didapatkan nilai  $Y_{X/SN} = 18,18$  dan  $m = 0,001$

Grafik Hubungan  $(dX/dt)/X$  dan  $(dP/dt)/X$



Dari grafik tersebut didapatkan nilai  $\alpha = 1190$  dan  $\beta = 32,37$