

# PENGARUH UMPAN TAMBAHAN PADA AKUMULASI POLIHIDROKSIBUTIRAT (PHB) OLEH *Bacillus cereus* IFO 13690 MENGGUNAKAN SUBSTRAT TAPIOKA

The Effects of Feeding on Accumulation of Polyhydroxybutyrate (PHB) from Tapioca by *Bacillus cereus* IFO 13690

Margono<sup>1,2</sup>, Rochmadi<sup>3</sup>, Siti Syamsiah<sup>3</sup>, Muhammad Nur Cahyanto<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta; <sup>2</sup>Pusat Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Utara, Yogyakarta 55281; <sup>3</sup>Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Utara, Yogyakarta 55281; <sup>4</sup>Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta 55281  
Email: mrgono04@yahoo.com

## ABSTRAK

*Bacillus cereus* IFO 13690 adalah bakteri Gram positif penghasil polihidroksibutirat (PHB) yang bersifat amilolitik sehingga dapat dikulturkan dalam substrat pati. Penelitian ini dimaksudkan untuk melaporkan kemampuan *B. cereus* IFO 13690 dalam mengakumulasi PHB pada proses batch dan pengaruh penambahan pati serta amonium terhadap produktivitas sel dan PHB pada proses fed batch. Percobaan proses batch dilaksanakan pada konsentrasi pati awal 18 g/l, pH medium 5,6 dan suhu medium 30 °C. Percobaan proses fedbatch dilaksanakan seperti pada proses batch optimum kemudian ditambahkan medium umpan pada saat pertumbuhan eksponensial, yaitu 2,1 l/jam pada saat pertumbuhan eksponensial berlangsung pada jam ke-7-7,65 dan 1,86 l/jam pada saat pertumbuhan eksponensial berlangsung pada jam ke-10-10,8. Komposisi umpan terdiri dari pati 70 g/l dan amonium sulfat 20 g/l. Hasil percobaan proses batch menunjukkan bahwa akumulasi PHB paling tinggi dicapai pada percobaan dengan konsentrasi amonium awal 1,20 g/l dan konsentrasi oksigen terlarut 5 % jenuh. Akumulasi PHB tertinggi mencapai 0,13 g/l dalam waktu fermentasi 29 jam. Produksi tersebut setara dengan produktivitas 0,005 g/l.jam dan kadar PHB dalam sel sebesar 2,42 %. Produktivitas sel dan PHB pada proses fedbatch bisa menjadi 2 kali lebih besar dibandingkan dengan proses batch, yaitu 0,39 g/l.jam dan 0,01 g/l.jam. Kadar PHB dalam sel pada proses fedbatch sedikit lebih tinggi dibandingkan pada proses batch, yaitu 2,50 %.

**Kata kunci:** Polihidroksibutirat, *Bacillus cereus* IFO 13690, batch, fedbatch, tapioka

## ABSTRACT

*Bacillus cereus* IFO 13690 is Gram positive bacteria that produces polyhydroxybutyrate (PHB). It has amylolytic characteristic that can be cultured using cassava starch. This research reported the ability of *B. cereus* IFO 13690 on accumulating PHB and the effects of starch and ammonium feeding on cell and PHB productivity. Batch process was conducted with initial starch of 18 g/l, medium pH of 5.6 and medium temperature of 30 °C. Fed batch process was conducted in the same conditions of the optimum batch process with feeding of 2.1 l/hat 7<sup>th</sup>-7.65<sup>th</sup> hours of exponential growth and 1.86 l/hat 10<sup>th</sup>-10.8<sup>th</sup> hours of exponential growth. The feeding compositions were starch of 70 g/l and ammonium sulfate of 20 g/l. The results of batch process showed that the highest accumulation of PHB was achieved with initial ammonium of 1.20 g/l and dissolved oxygen of 5 % air saturation. The highest PHB accumulation of 0.13 g/l was achieved after 29 hours of fermentation. It was similar to 0.005 g/l.h productivity and the PHB content was 2.42 %. The productivity of cell and PHB in fed batch process was double compared to the batch process, i.e. 0.39 g/l.h and 0.01 g/l.h, respectively. The PHB content in cell dry weight was relatively higher in the fed batch compared to batch process, i.e. 2.50 %.

**Keywords:** Polyhydroxybutyrate, *Bacillus cereus*, batch, fed batch, tapioca

## PENDAHULUAN

*Polyhydroxyalkanoate* (PHA) adalah poliester 3-, 4-, 5-, dan 6-asam hidroksialkanoat yang diproduksi oleh berbagai spesies bakteri dan digolongkan sebagai poliester biodegradabel dan biokompatibel (Chen dan Wu, 2005). Bakteri biasanya mensintesis PHA pada fase pertumbuhan dalam keadaan substrat karbon berlebihan dan keterbatasan nutrisi esensial (N, P, S, O, atau Mg) (Lee dkk., 1999). Diantara berbagai jenis PHA yang telah dikenal, *polyhydroxybutyrate* (PHB) merupakan poliester yang paling umum dikenal dan diproduksi oleh berbagai macam bakteri. Polimer plastik ini maupun komposisinya banyak digunakan dalam bidang pengepakan, kedokteran, farmasi, pertanian, industri makanan, dan industri cat (Anderson dan Dawes, 1990).

Beberapa hasil penelitian tentang PHB telah banyak dipublikasikan, umumnya PHB disintesis oleh bakteri Gram negatif seperti *Alcaligenes eutrophus* (Kim dkk., 1994; Shang dkk., 2003), *Alcaligenes latus* (Wang dan Lee, 1997; Grothe dan Chisti, 2000), dan *Escherichia coli* rekombinan (Ahn dkk., 2000; Ahn dkk., 2001; Park dkk., 2002). PHB yang diproduksi menggunakan bakteri Gram negatif mengandung membran luar *lipopolysaccharide* (LPS) *endotoxin* yang menyatu dalam polimer (Valappil dkk., 2007). Kehadiran LPS akan memicu reaksi imunogenik yang sangat tidak diharapkan dalam bidang aplikasi biomedikal. Dengan demikian, PHB yang diproduksi dari bakteri Gram negatif kurang bersifat biokompatibel. Berbeda dengan bakteri Gram negatif, bakteri Gram positif tidak memiliki membran LPS, sehingga PHB yang disintesis oleh bakteri Gram positif lebih potensial untuk aplikasi biomedikal.

Beberapa bakteri dari genus *Bacillus* sp. telah diteliti dan terbukti potensial dalam mensintesis PHB. Beberapa bakteri tersebut antara lain *Bacillus mycoides* RLJ B-017 mampu mengakumulasi PHB 55-81,6 % (Borah dkk., 2002), *Bacillus* sp. JMa5 mampu mensintesis PHB 25-35 % (Wu dkk., 2001), *B. cereus* UW85 mampu memproduksi 2,32-24,6 % (Labuzek dan Radecka, 2001), dan *B. cereus* SPV yang mengakumulasi PHB sampai 38 % (Valappil dkk., 2007).

Salah satu hambatan komersialisasi secara massal produk PHB adalah tingginya harga plastik berbasis PHB dibandingkan dengan plastik berbasis minyak bumi. Harga bahan baku berpengaruh cukup signifikan terhadap harga produk karena porsi biaya bahan baku dalam proses produksi cukup tinggi, yaitu 40 % biaya produksi (Kim dan Chang, 1998) atau 50 % total biaya produksi (Halami, 2008). Salah satu alternatif bahan baku murah yang banyak didapat di Indonesia adalah tapioka. Indonesia adalah negara penghasil ubi kayu dan 19,8 % produksinya diolah menjadi tapioka (Romli, 2003). Penggunaan tapioka sebagai bahan baku pem-

buatan plastik biodegradabel akan meningkatkan diversifikasi produk turunan tapioka.

Sebagian bakteri anggota genus *Bacillus* sp. memiliki kemampuan amilolitik, sehingga dapat digunakan untuk produksi PHB dengan substrat pati yang merupakan substrat murah. *B. cereus* IFO 13690 adalah salah satu galur dari bakteri *Bacillus* sp. yang bersifat amilolitik dan memiliki kemampuan mensintesis PHB.

Faktor lain yang berpengaruh pada biaya produksi adalah produktivitas proses produksi PHB. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa produktivitas proses produksi PHB lebih tinggi jika dijalankan pada proses *fedbatch* dibandingkan dengan proses *batch* (Kim dkk., 1994; Wang dan Lee, 1997; Ahn dkk., 2000; Ahn dkk., 2001; Shang dkk., 2003). Hanya saja, konsentrasi amonium awal dan kadar oksigen terlarut (DO) optimum yang diperlukan dalam produksi PHB menggunakan bahan baku tapioka oleh *B. cereus* IFO 13690 belum diketahui sehingga percobaan mencari kondisi optimum tersebut harus dilakukan dan hal ini lebih tepat jika dilakukan melalui proses *batch*. Artikel ini melaporkan kemampuan *B. Cereus* IFO 13690 dalam mengakumulasi PHB yang ditumbuhkan dalam medium tapioka. Penelitian juga menampilkan pengaruh penambahan umpan pati dan amonium dalam proses *fedbatch* terhadap produktivitas sel dan PHB.

## METODE PENELITIAN

### Bakteri dan Medium Fermentasi

Bakteri *Bacillus cereus* IFO 13690 diperoleh dari *Food and Nutritional Culture Collection* (FNCC), Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Komposisi medium fermentasi merujuk pada medium yang digunakan oleh Ramsay dkk. (1990) dengan sedikit modifikasi. Komposisi medium terdiri atas (1/l): tapioka, 20 g;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 5 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,5 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 5 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,01 g;  $\text{FeSO}_4$ , 28,5 mg; KCl, 3 g; dan unsur kelumit, 1 ml. Komposisi unsur kelumit (1/l):  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0,3 g;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 g;  $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 30 mg;  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 20 mg;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 10 mg; dan  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 10 mg.

### Pengembangan Inokulum

Inokulum disiapkan dengan cara menginokulasikan 2 ose bakteri *B. Cereus* yang diambil dari kultur agar miring ke dalam 20 ml medium yang mengandung *nutrient broth* 8 g/l dan glukosa 5 g/l. Kemudian medium diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu ruang ( $\pm 30^\circ\text{C}$ ) dan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Inokulum umur 24 jam tersebut selanjutnya diinokulasikan ke dalam 180 ml medium fermentasi, kemudian diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu ruang ( $\pm 30^\circ\text{C}$ ) dan kecepatan 150 rpm selama 48 jam.

**Fermentasi**

**Fermentasi batch.** Fermentasi dilakukan dalam fermentor volume 5 L. Fermentor yang berisi 1,8 l medium disterilisasi pada 121 °C selama 20 menit. Derajat keasaman (pH) medium awal fermentasi diatur sekitar 6,8 menggunakan larutan NaOH 2 N. Oksigen terlarut (DO) pada awal fermentasi diatur sekitar 70 % jenuh. Inokulum 2 sebanyak 0,2 L diinokulasikan ke dalam medium fermentasi secara aseptik dan fermentasi dijalankan pada suhu 30±1°C dengan kecepatan pengaduk 500 rpm. Pada awal fermentasi, suplai oksigen, kontrol pH, dan DO dimatikan sehingga pH dan DO turun seiring dengan pertumbuhan bakteri. Saat pH turun mencapai 5,6 maka kontrol pH diaktifkan dan pH dijaga pada 5,6 menggunakan larutan HCl 2 N dan NaOH 5 N. Kontrol oksigen terlarut diaktifkan saat DO mencapai 5 % jenuh. Sampel diambil secara periodik sebanyak 15 ml untuk keperluan analisis konsentrasi sel, pati, PHB, glukosa, dan amonium. Fermentasi batch dilakukan sampai terjadi pertumbuhan negatif/ fase kematian (berkisar 34-40 jam fermentasi).

**Fermentasi fedbatch.** Fermentasi diawali dengan cara seperti yang dilakukan pada fermentasi batch kemudian ditambahkan medium umpan pada jam ke-7 dan ke-10 setelah pertumbuhan eksponensial berlangsung, yaitu kecepatan alir 2,1 l/jam dari jam ke-7 sampai 7,65 dan kecepatan alir 1,86 l/jam dari jam ke-10 sampai 10,8. Percobaan fedbatch dilakukan menggunakan fermentor volume 20 l dengan volume medium awal 10 l, terdiri dari 9 l medium fermentasi dan 1 l inokulum. Komposisi umpan tambahan terdiri dari pati 70 g/l dan amonium 5,44 g/l (setara dengan 20 g/l amonium sulfat). Kondisi operasi fermentasi meliputi pH 5,6 dan DO 5 % jenuh. Fermentasi ini dilaksanakan selama 36 jam.

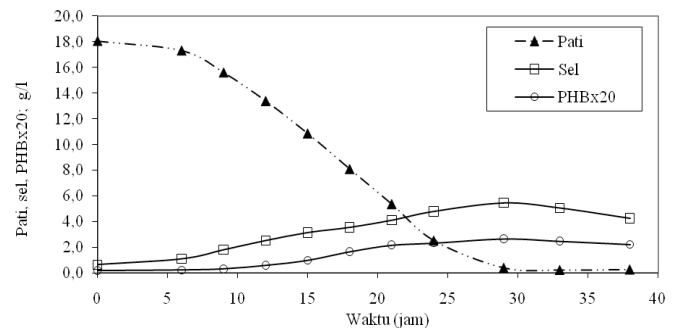
**Analisis Kimiawi**

Konsentrasi sel kering diukur sebagai densitas optik menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Konsentrasi PHB dianalisis menggunakan metode yang digunakan oleh Senior dkk. (1972) dan dinyatakan sebagai % berat sel kering. Konsentrasi pati diukur dalam konsentrasi gula total menggunakan metode Dubois (1956). Konsentrasi glukosa diukur menggunakan kit Glucose GOD 10<sup>7</sup> FS (produk Diasys, Jerman). Konsentrasi amonium dianalisis menggunakan metode fenat (APHA, AWWA, dan WPCF, 1976).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

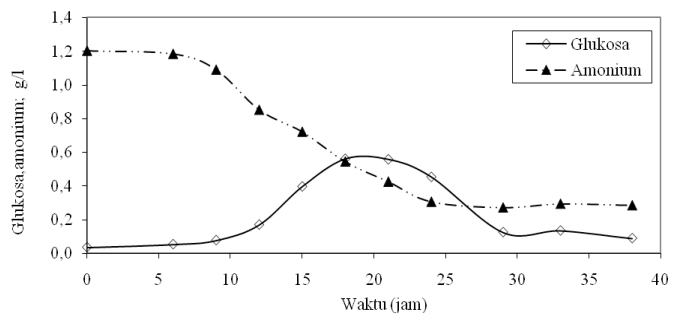
Tiga parameter kondisi operasi selalu diamati, yaitu pH, DO, dan suhu medium. Gambar 1 menunjukkan hasil pengamatan pH, DO, dan suhu selama fermentasi dengan konsen-

trasi amonium awal 1,20 g/l. Suhu fermentasi dikontrol pada 30 ± 1 °C sejak awal fermentasi dan tidak ada fluktuasi suhu selama fermentasi. Derajat keasaman (pH) awal percobaan sebesar 6,76 dan DO awal percobaan sebesar 71,6 % jenuh. Kondisi operasi fermentasi, pH medium 5,6 dan DO ± 5 % jenuh, tercapai pada jam ke 12. Turunnya pH dan DO dari kondisi awal berlangsung akibat senyawa bersifat asam hasil metabolisme sel. Percobaan pendahuluan menunjukkan bahwa jika pH diatur menggunakan larutan asam (HCl) sejak awal fermentasi maka produktivitas sel dan PHB rendah, yaitu 0,082 g/l.jam dan 0,0008 g/l.jam (data tidak ditampilkan).

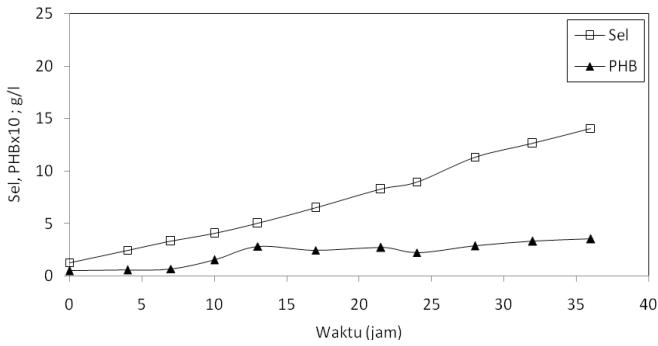


Gambar 1. Profil pH, DO dan suhu medium selama fermentasi batch (kadar amonium awal 1,20 g/l dan kecepatan pengaduk 500 rpm)

Pertumbuhan sel sudah berlangsung sejak awal inokulasi, namun belum mampu tumbuh secara eksponensial (Gambar 2). Pertumbuhan eksponensial berlangsung setelah 6 jam fermentasi dan berlangsung sampai sekitar jam ke-30. Setelah itu pertumbuhan sel memasuki fase stasioner kemudian berlanjut pada fase kematian. Berkurangnya pati dalam medium disertai oleh akumulasi glukosa dalam medium (Gambar 3). Fenomena ini menunjukkan bahwa mekanisme pemanfaatan pati oleh sel melewati proses sakarifikasi ekstra seluler sebelum konsumsi glukosa dan akumulasi PHB secara intraseluler.



Gambar 2. Konsentrasi pati, berat kering sel, dan PHB fungsi waktu pada fermentasi batch (kadar amonium awal 1,20 g/l, kecepatan pengaduk 500 rpm, DO 5 % jenuh, dan suhu 30 °C)



Gambar 3. Konsentrasi glukosa dan amonium fungsi waktu pada fermentasi batch (kadar amonium awal 1,20 g/l, kecepatan pengaduk 500 rpm, DO 5 % jenuh, dan suhu 30 °C)

Gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa pada saat konsentrasi pati berkurang terjadi proses akumulasi glukosa dalam medium. Peristiwa tersebut berarti bahwa pati mengalami proses sakarifikasi membentuk glukosa secara ekstraseluler dan glukosa tersebut dikonsumsi oleh sel. Ketika konsentrasi pati turun sampai 7-8 g/l setelah 18 jam fermentasi maka kecepatan sakarifikasi turun di bawah kecepatan konsumsi glukosa oleh sel dengan ditandai oleh penurunan konsentrasi glukosa dalam medium. Namun demikian, pada tahapan tersebut pertumbuhan sel masih berlangsung secara eksponensial dan baru masuk fase stasioner pada konsentrasi pati sekitar 5 g/l. Oleh karena itu, atas dasar pertimbangan data tersebut maka umpan tambahan pada proses fedbatch harus ditambahkan ketika konsentrasi pati masih di atas 5 g/l (Gambar 4a).

Akumulasi PHB berlangsung seiring dengan pertumbuhan sel (Gambar 2). Keadaan ini berarti bahwa hubungan pertumbuhan dengan produksi PHB berjalan secara berasosiasi (*growth associated product*). Pola pertumbuhan bera-

sosiasi dengan produk juga ditunjukkan oleh *B. cereus* SPV (Valappil dkk., 2007) dan *B. mycooides* RLJ B-017 (Borah dkk., 2002). Disamping itu, ion amonium masih tampak tersisa pada akhir fermentasi. Hal ini berarti bahwa konsentrasi amonium awal 1,20 g/l merupakan konsentrasi berlebihan dan *B. cereus* IFO 13690 mengakumulasi PHB dalam keadaan amonium tersedia berlebihan. Bahkan akumulasi PHB terjadi lebih baik pada keadaan amonium berlebihan dibandingkan kondisi stoikiometris (0,57 g/l) maupun konsentrasi terbatas (0,29g/l). Perbandingan produktivitas sel dan PHB dengan berbagai variasi konsentrasi amonium awal dan DO ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan produktivitas sel dan PHB pada beberapa kondisi proses fermentasi. Waktu pada Tabel 1 merupakan lama waktu fermentasi saat produksi PHB dan konsentrasi sel mencapai maksimum. Perbedaan waktu tersebut menunjukkan pengaruh perubahan konsentrasi amonium awal atau DO terhadap pertumbuhan sel maupun produksi PHB. Akumulasi PHB paling tinggi dicapai pada percobaan dengan konsentrasi amonium awal 1,20 g/l dan DO 5 % jenuh. Akumulasi PHB tertinggi mencapai 0,13 g/l dalam waktu fermentasi 29 jam. Produksi tersebut setara dengan produktivitas PHB 0,005 g/l.jam dan konsentrasi PHB dalam sel sebesar 2,42 %. Percobaan ini menunjukkan bahwa *B.cereus* IFO 13690 mengakumulasi PHB lebih tinggi pada kondisi amonium berlebihan. Hasil ini sejalan dengan yang ditunjukkan oleh *B. cereus* SPV (Valappil dkk., 2007).

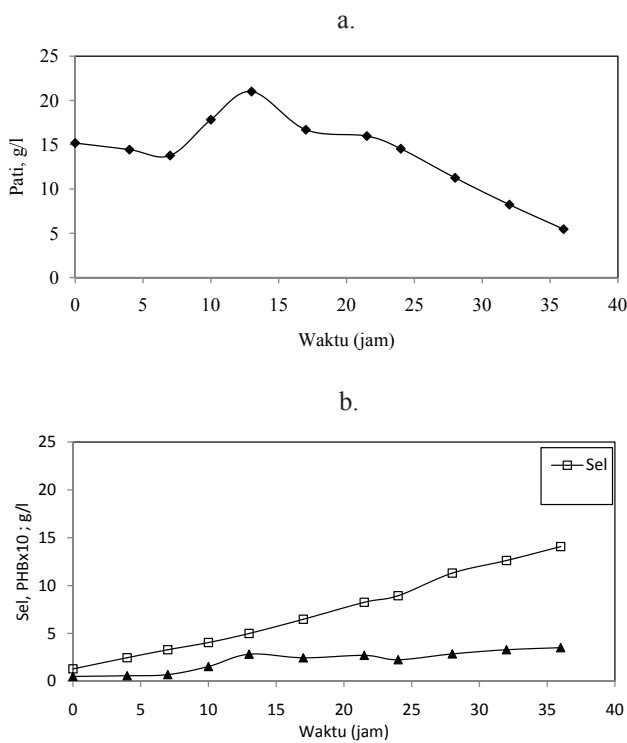
Percobaan 3, 4 dan 5 dilaksanakan pada konsentrasi amonium awal yang hampir sama dan dilakukan pada variasi konsentrasi oksigen terlarut (DO) sebesar 1, 5, dan 10 % jenuh (Tabel 1). Produktivitas PHB tertinggi dihasilkan pada DO 5 % jenuh dengan kadar PHB dalam sel sebesar 2,42 %. Pertumbuhan sel tertinggi dihasilkan pada DO 10 % jenuh tetapi kadar dan produktivitas PHB jauh dibawah proses de-

Tabel 1. Produktivitas sel dan PHB pada fermentasi batch (kecepatan pengaduk 500 rpm dan suhu medium 30 °C)

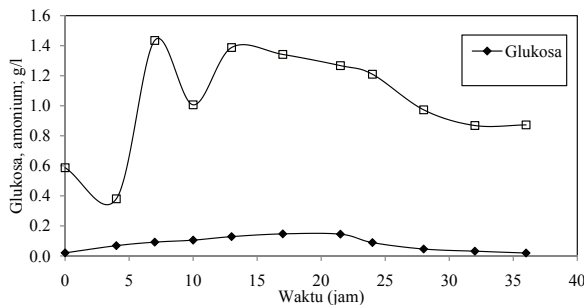
No.	Waktu (jam)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> awal (g/l)	DO (%jenuh)	Sel (g/l)	PHB (g/l)	Produktivitas (g/l.jam)		PHB (%)
						Sel	PHB	
1	32	0,29	5	2,09	0,028	0,065	0,001	1,36
2	25	0,57	5	4,53	0,060	0,181	0,002	1,33
3	29	1,20	5	5,46	0,132	0,188	0,005	2,42
4	30	1,27	10	7,99	0,064	0,266	0,002	0,80
5	35	1,30	1	4,93	0,097	0,141	0,003	1,97

ngan DO 5 % jenuh. Oleh karena itu, DO 5 % jenuh merupakan kondisi terbaik bagi *B. cereus* IFO 13690 dalam memproduksi PHB dan dipilih untuk digunakan dalam proses fermentasi *fedbatch*.

Gambar 4 dan 5 menunjukkan bahwa kecepatan umpan pati dan amonium lebih tinggi dibandingkan dengan kecepatan konsumsinya oleh bakteri. Hal ini ditandai oleh peningkatan konsentrasi pati dan amonium selama umpan tambahan berlangsung. Konsentrasi pati selama umpan tambahan meningkat sampai 21,0 g/l dan konsentrasi amonium meningkat sampai 1,39 g/l. Konsentrasi tersebut sudah cukup memenuhi kebutuhan karbon dan amonium sehingga bakteri dapat tumbuh pada fase eksponensial.



Gambar 4. Konsentrasi pati (a) dan berat kering sel dan PHB (b) selama proses fermentasi *fedbatch* (pH 5,6, DO 5 % jenuh, suhu 30 °C, awal umpan jam ke-7, dan kadar pati awal 70 g/l)



Gambar 5. Konsentrasi glukosa dan amonium selama proses fermentasi *fedbatch* (pH 5,6, DO 5 % jenuh, suhu 30 °C, awal umpan jam ke-7, dan kadar ammonium awal 5,44 g/l)

Dalam proses *fedbatch*, volume umpan total yang ditambahkan sebesar 2,85, sedangkan jumlah pati tambahan sebesar 199,71 g dan amonium tambahan sebesar 15,52 g. Berdasarkan data dalam Tabel 2, konsumsi pati dalam proses *fedbatch* sebesar 281,39 g dalam waktu 36 jam dan menghasilkan 4,51 g PHB serta 180,89 g sel kering. Hal ini berarti *yield* PHB dan sel pada proses *fedbatch* adalah 0,02 g PHB/g pati dan 0,64 g sel/g pati. *Yield* PHB proses *fedbatch* 2 kali lebih tinggi dibandingkan dengan *yield* PHB pada proses *batch* (0,01 g PHB/g pati), sedangkan *yield* sel (g sel/g pati) proses *fedbatch* 2 kali lebih tinggi dibandingkan *yield* sel pada proses *batch* (0,32 g sel/g pati).

Tabel 2. Perbandingan produktivitas proses *fedbatch* dan *batch*

No.	Proses	Waktu (jam)	Volume (l)	Konsumsi pati (g)	Produksi (g)		Produktivitas (g/l.jam)	
					Sel	PHB	Sel	PHB
1	Batch	29	2	33,85	10,92	0,26	0,19	0,005
2	Fedbatch	36	12,85	281,39	180,89	4,51	0,39	0,01

Jika dilihat dalam satuan waktu, yaitu produktivitas sel dan PHB, maka proses *fedbatch* memiliki produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan proses *batch*. Produktivitas sel PHB proses *fedbatch* mencapai 0,39 g/l.jam dan 0,01 g/l.jam (Tabel 2). Produktivitas tersebut 2 kali lebih besar dibandingkan produktivitas proses *batch*. Konsentrasi PHB dalam sel pada proses *fedbatch* juga mengalami peningkatan, yaitu 2,50 % (sedikit lebih tinggi dibandingkan konsentrasi PHB dalam sel pada proses *batch*). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa proses *fedbatch* memiliki kinerja proses yang lebih baik dibandingkan kinerja proses *batch*.

Proses *fedbatch* memiliki kinerja yang lebih baik dibandingkan proses *batch* karena konsentrasi pati dan amonium pada proses *fedbatch* dapat dipertahankan berada pada konsentrasi yang mendukung pertumbuhan eksponensial dan kecepatan produksi PHB maksimum. Namun demikian penambahan umpan dibatasi oleh kapasitas fermentor sehingga umpan harus disesuaikan dengan kapasitas fermentor. Peningkatan produktivitas PHB pada proses *fedbatch* dibandingkan dengan proses *batch* bervariasi pada beberapa bakteri. *B. cereus* SPV mengalami peningkatan 1,5 kali, *B. cereus* IFO 13690 mengalami peningkatan 2 kali, dan *Azotobacterchroococcum* mengalami peningkatan 2,1 kali. Data selengkapnya perbandingan proses *batch* dan *fedbatch* ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan produktivitas proses *batch* dan *fedbatch* beberapa bakteri

No	Bakteri	Substrat	Prod. sel(g/l.jam)		Prod.PHB (g/l.jam)		Pustaka
			<i>Batch</i>	<i>Fed batch</i>	<i>Batch</i>	<i>Fed batch</i>	
1.	<i>B. cereus</i> SPV	Glukosa	0,089	0,107	0,02	0,03	Valappil dkk. (2007)
2.	<i>A. chroococcum</i>	Pati terlarut	0,290	1,365	0,13	0,27	Kim dan Chang (1998)
3.	<i>B. cereus</i> IFO 13690	Tapioka	0,188	0,391	0,005	0,01	Artikel ini

**KESIMPULAN**

*Bacillus cereus* IFO 13690 mengakumulasi PHB mengikuti pola hubungan pertumbuhan dengan produksi PHB secara berasosiasi (*growth associated product*). Hasil percobaan proses *batch* menunjukkan bahwa akumulasi PHB paling tinggi dicapai pada percobaan dengan konsentrasi amonium awal 1,20 g/l dan DO 5 % jenuh. Akumulasi PHB tertinggi mencapai 0,13 g/l dalam waktu fermentasi 29 jam atau setara dengan produktivitas PHB 0,005 g/l.jam dan kadar PHB dalam sel sebesar 2,42 %. Produktivitas sel dan PHB proses *fed-batch* 2 kali lebih tinggi dibandingkan dengan proses *batch*, yaitu 0,39 g/l.jam dan 0,01 g/l.jam.

**DAFTAR PUSTAKA**

Ahn, W.S., Park, S.J. dan Lee, S.Y. (2000). Production of poly(3-hydroxybutyrate) by fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli* with a highly concentrated whey solution. *Applied and Environmental Microbiology* **66**: 3624-3627.

Ahn, W.S., Park, S.J. dan Lee, S.Y. (2001). Production of poly(3-hydroxybutyrate) from whey by cell recycle fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnology Letters* **23**:235-240.

Anderson, A.J. dan Dawes, E.A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiology Review* **54**: 450-472.

APHA, AWWA, dan WPCF (1976). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 14<sup>th</sup> ed.APHA, Washington.

Borah, B., Thakur, P.S. dan Nigam, J.N. (2002). The influence of nutritional and environmental conditions on the accumulation of poly-β-hydroxybutyrate in *Bacillus mycoides* RLJ B-017. *Journal of Applied Microbiology* **92**: 776-783.

Chen, G.Q. dan Wu, Q. (2005). The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering material. *Biomaterials* **26**: 6565-6578.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. dan Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* **28**: 350-356.

Grothe, E. dan Chisti, Y. (2000). Poly(β-hydroxybutyric acid) thermoplastic production by *Alcaligenes latus*: Behaviour of fed-batch cultures. *Bioprocess Engineering* **22**: 441-449.

Halami, P.M. (2008). Production of polyhydroxyalkanoate from starch by the native isolate *Bacillus cereus* CFR06. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **24**: 805-812.

Kim, B.S. dan Chang, H.N. (1998). Production of poly (3-hydroxybutyrate) from starch by *Azotobacter chroococcum*. *Biotechnology Letters* **20**: 109-112.

Kim, B.S., Lee, S.C., Lee, S.Y., Chang, H.N., Chang, Y.K. dan Woo, S.I. (1994). Production of poly (3-hydroxybutyric-co-3-hydroxyvaleric acid) by fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with substrate control using on-line glucose analyzer. *Enzyme and Microbial Technology* **16**: 556-561.

Labuzek, S. dan Radecka, I.(2001). Biosynthesis of PHB copolymer by *Bacillus cereus* UW85. *Journal of Applied Microbiology* **90**: 353-357.

Lee, S.Y., Choi, J. dan Wong, H.H. (1999). Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation: Mini review. *International Journal of Biological Macromolecules* **25**: 31-36.

Park, S.J., Park, J.P. dan Lee, S.Y. (2002). Production of poly (3-hydroxybutyrate) from whey by fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli* in a pilot-scale fermenter. *Biotechnology Letters* **24**:185-189.

Ramsay, B.A., Lomaliza, K., Chavarie, C., Dube, B., Bataille, P., dan Ramsay, J.A.(1990). Production of poly(β-hydroxybutyric-co- β-hydroxyvaleric) acids. *Applied and Environmental Microbiology* **56**: 2093-2098.

Romli, M. (2003). *Potensi Ubi Kayu dalam Perekonomian Nasional*. Makalah disampaikan pada Temu Usaha

- Nasional Pengembangan Industri Berbasis Cassava, Surabaya 30 September 2003, Dinas Pertanian Propinsi Jawa Timur.
- Senior, P.J., Beech, G.A., Ritchie, G.A.F. dan Dawes, E.A. (1972). The role of oxygen limitation in the formation of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate during batch and continuous culture of *Azotobacter beijerinckii*. *Biochemical Journal* **128**: 1193-1201.
- Shang, L., Jiang, M. dan Chang, H.N. (2003). Poly(3-hydroxybutyrate) synthesis in fed-batch culture of *Ralstonia eutropha* with phosphate limitation under different glucose concentrations. *Biotechnology Letters* **25**: 1415-1419.
- Valappil, S.P., Misra, S.K., Boccaccini, A.R., Keshavarz, T., Bucke, C. dan Roy, I. (2007). Large scale production and efficient recovery of phb with desirable material properties, from the newly characterised *Bacillus cereus* SPV. *Journal of Biotechnology* **132**: 251-258.
- Wang, F. dan Lee, S.Y. (1997). Poly(3-hydroxybutyrate) production with high productivity and high polymer content by a fed-batch culture of *Alcaligenes latus* under nitrogen limitation. *Applied and Environmental Microbiology* **63**: 3703-3706.
- Wu, Q., Huang, H., Hu, G., Chen, J., Ho, K.P. dan Chen, G.Q. (2001). Production of poly-3-hydroxybutyrate by *Bacillus sp.* JMa5 cultivated in molasses media. *Antonie van Leeuwenhoek* **80**: 111-118.