

BAB VII
TUGAS KHUSUS
ANALISA FAKTOR-FAKTOR YANG BERPENGARUH DALAM PROSES
FERMENTASI ASAM GLUTAMAT PT. AJINOMOTO INDONESIA

A. Latar Belakang

Fermentasi merupakan suatu proses untuk mengubah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Fermentasi sering kali diaplikasikan dalam bahan pangan yang nantinya dapat menghasilkan produk pangan jenis baru. Proses tersebut dilakukan dengan menggunakan bantuan dari mikroorganisme. Beberapa produk fermentasi dalam bidang pangan diantaranya adalah tempe yang berbahan dasar kedelai dengan pemanfaatan kerja dari kapang *Rhizopus Oryzae*, yoghurt berbahan dasar susu dengan memanfaatkan bantuan dari bakteri *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus*. Produk fermentasi diyakini memiliki nilai gizi yang lebih karena produk pangan yang dihasilkan memiliki daya cerna yang lebih tinggi dibandingkan dengan produk pangan pada umumnya (produk non-fermentasi), hal tersebut dikarenakan komponen atau senyawa yang ada dalam produk pangan fermentasi sudah dalam bentuk yang paling kecil (sederhana). Sehingga gizi yang ada dalam produk pangan fermentasi akan mudah terserap oleh tubuh. Industri pangan di Indonesia saat ini banyak yang telah memproduksi produk hasil proses fermentasi. Salah satu contohnya adalah PT. Ajinomoto Indonesia yang memproduksi monosodium glutamat(MSG).

Proses fermentasi dalam pembuatan MSG merupakan proses yang penting dilakukan, karena proses tersebut merupakan tahapan awal dihasilkannya asam glutamat. Selain itu, proses tersebut sangat menentukan keberlangsungan proses selanjutnya, sehingga sangat penting dilakukan pemaksimalan mengenai rangkaian proses fermentasi untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Selain itu, pengendalian terhadap proses fermentasi sangat diperlukan untuk dihasilkan asam glutamat yang sesuai dengan harapan perusahaan dan agar terhindar dari kontaminan dalam media fermentasi, karena ketika adanya kontaminan dalam media fermentasi secara otomatis media tersebut harus dibuang dengan sia-sia, sehingga hal tersebut dapat merugikan perusahaan.

Faktor yang sangat berpengaruh dalam keberhasilan proses fermentasi adalah faktor dalam proses, faktor-faktor tersebut diantaranya adalah pH, suhu, aerasi, dan aseptik, sehingga perlu dilakukan optimasi terhadap faktor-faktor tersebut. Optimasi faktor-faktor dapat dilakukan melalui analisa berkala sehingga kegiatan tersebut dapat dijadikan evaluasi untuk membuat kondisi proses sesuai dengan standar.

Dengan adanya optimasi terhadap proses fermentasi dan faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses, diharapkan pertumbuhan bakteri yang berperan dapat maksimal yang dapat diketahui melalui analisa nilai *optical density* (OD), sehingga hasil yang diharapkan berupa asam glutamat juga sesuai dengan harapan perusahaan.

1. Tujuan

- a. Menganalisis optimasi pH, suhu, aerasi, dan aseptik dalam tahapan proses fermentasi
- b. Mengetahui fluktuatif pertumbuhan bakteri yang berperan (*Brevibacterium lactofermentum*) dalam proses fermentasi melalui nilai *optical density* (OD)

2. Manfaat

- a. Dapat mengetahui keseluruhan proses fermentasi asam glutamat dalam pembuatan monosodium glutamat (MSG), serta optimasinya terhadap faktor-faktor yang berperan seperti pH, suhu, aerasi, dan aseptik.
- b. Dapat mengetahui fluktuatif pertumbuhan bakteri yang berperan (*Brevibacterium lactofermentum*) ketika dalam kondisi optimum fermentasi.

B. Tinjauan Pustaka

Fermentasi adalah suatu reaksi oksidasi reduksi di dalam sistem biologi yang menghasilkan energi. Fermentasi menggunakan senyawa organik yang biasanya digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi bentuk lain. Hasil-hasil fermentasi terutama tergantung pada jenis bahan pangan (substrat), macam mikroba dan kondisi sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dan metabolisme mikroba tersebut (Fransiska, 2012).

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi asam glutamat yaitu: 1) baik pada proses pembiakan maupun fermentasi, suhu proses harus terjaga kurang lebih 30-35°C (optimum 34°C) karena proses metabolisme yang berlangsung bersifat eksoterm. pH dikontrol antara 7-8 dengan cara menambahkan NH_3 . Penurunan pH diakibatkan oleh produksi asam glutamat oleh bakteri; 2) fermentasi asam glutamat merupakan fermentasi aerobik, oleh karena itu pengaliran udara (sebagai suplai oksigen) dan aerasi harus cukup agar tidak terbentuk asam laktat (bila kekurangan oksigen); 3) kadar gula selama proses fermentasi akan semakin berkurang karena diubah oleh bakteri menjadi asam glutamat, maka penambahan tetes feeding penting dilakukan saat fermentasi berlangsung; 4) efek biotin, kadar yang digunakan 10-20 mg/L. biotin berperan penting dalam akumulasi asam glutamat dalam jumlah yang besar, dan 5) efek penicillin, untuk seleksi mikroba dan mengakumulasi asam glutamat pada saat fase pertumbuhan, serta memudahkan glutamat untuk dipanen karena glutamat terekstraksi keluar sel (Chairi, 2013)

Kondisi yang optimum untuk suatu proses fermentasi tergantung pada jenis organismenya. Pengendalian faktor-faktor fermentasi bertujuan untuk menciptakan kondisi yang optimum bagi pertumbuhan dan produksi metabolit yang diinginkan dari suatu organisme tertentu. Fermentasi medium cair lebih memungkinkan untuk mengendalikan faktor-faktor fisik dan kimia yang mempengaruhi proses fermentasi seperti suhu, pH dan kebutuhan oksigen (Sulistyaningrum, 2008).

Formulasi media adalah suatu tahap yang penting dalam menentukan keberhasilan dari suatu uji coba di laboratorium, pengembangan terkontrol dan proses pabrikasi. Komponen dari medium harus sesuai dengan persyaratan untuk biomassa sel dan produksi metabolit dan semuanya itu harus

memenuhi kecukupan pemberian energi untuk biosintesis dan pemeliharaan sel (Stanbury dan Whitaker, 1994).

Selain optimasi dari kultur medium pemilihan bakteri yang tepat, maka kondisi juga perlu diperhatikan. Terutama untuk proses produksi dalam skala besar. Pada fermentasi asam amino, nilai nutrisi dari kultur media sangat tinggi dan itu akan meningkatkan resiko pertumbuhan bakteri asing (kontaminan). Untuk itu maka bakteri yang tidak digunakan harus dieliminir dari fermentor dan kultur media, sehingga kontaminasi dapat dicegah selama proses fermentasi. Sterilisasi panas dan filtrasi udara adalah metode yang umum digunakan pada fermentasi asam glutamat (Kumon and Tetsuya, 1991).

Pada skala industri main fermentor sebagai tangki fermentasi utama, merupakan tempat terjadinya fermentasi. Pada main fermentor, suhu operasi dijaga konstan 31,5-37°C dan pH dijaga sekitar 7,7. Selain itu, dilakukan juga penambahan bahan pendukung, yaitu urea sebagai sumber karbon. Proses ini berlangsung selama holding time 28-30 jam disertai dengan pengadukan karena waktu fermentasinya lama maka perlu dilakukan penambahan media sebagai sumber makanan dari bakteri (Sano, 2009).

Selama proses fermentasi asam glutamat, dilakukan kontrol terhadap beberapa faktor yakni O₂, NH₄⁺, pH, asam fosfat dan biotin. Apabila aerasi selama fermentasi cukup akan terbentuk asam glutamat sedangkan apabila kurang akan terbentuk asam laktat atau suksinat. Ammonia (NH₄⁺) dimanfaatkan oleh mikroba sebagai sumber nitrogen. Apabila jumlahnya kurang maka akan terbentuk asam α -ketoglutarat sedangkan apabila berlebih akan terbentuk glutamin (Siris, 2011, dalam Rifa'i, 2018).

Pengaturan pH selama proses fermentasi asam glutamat juga berpengaruh terhadap hasil fermentasi, dimana pH yang asam akan membentuk glutamin dan N-asetoglutamin. Sedangkan pada pH netral atau basa lemah, asam glutamat akan terbentuk optimal. Penambahan asam fosfat yang kurang akan menghasilkan valin sedangkan adanya biotin yang berlebih akan membentuk asam laktat dan asam suksinat. Selain itu juga seperti halnya proses fermentasi pada umumnya, suhu fermentasi diatur sesuai dengan suhu optimum dari mikroba yang digunakan agar mikroba tersebut dapat lebih optimum berperan dalam proses fermentasi (Siris, 2011, dalam Rifa'i, 2018).

Biosintesis dari asam glutamat merupakan proses aerob yang membutuhkan oksigen selama proses fermentasinya. Untuk mengoptimalkan produksi, kadar oksigen terlarut harus dijaga pada kondisi optimumnya (Fransiska, 2012).

Dalam fermentasi kontinyu, larutan nutrisi steril dalam volume tertentu ditambahkan ke dalam fermentor secara terus-menerus, dan pada saat bersamaan cairan fermentasi yang mengandung sel dan produk-produk fermentasi dikeluarkan dari fermentor dengan volume yang sama. Penambahan medium baru dengan kecepatan tertentu dapat menghasilkan keadaan *steady state*, yaitu suatu keadaan dimana jumlah sel-sel yang terbentuk sama dengan jumlah sel-sel yang dikeluarkan dari fermentor (Sulistyaningrum, 2008).

Metode TPC merupakan metode untuk menghitung jumlah mikroba yang terdapat pada sampel makanan dan produk hasil pertanian. Jumlah mikroba harus dibatasi pada produk makanan dan hasil pertanian harus mengikuti standar-standar yang sudah ditetapkan (Wati, 2018).

Total plate count dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroorganisme dalam suatu sampel, yang pada prinsipnya jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat diamati secara mikroskopis tanpa menggunakan mikroskop (BSN 1994 dalam Susianawati, 2006).

Perhitungan sel dilakukan secara kualitatif dengan mengukur kekeruhan sel (Turbidimetri) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Turbidimetri merupakan metode yang cepat untuk menghitung jumlah bakteri dalam suatu larutan menggunakan spektrofotometer. Bakteri menyerap cahaya sebanding dengan volume total sel (ditentukan oleh ukuran dan jumlah). Ketika mikroba bertambah jumlahnya atau semakin besar ukurannya dalam biakan cair, terjadi peningkatan kekeruhan dalam biakan. Kekeruhan dapat disebut *optical density* (absorpsi cahaya, biasanya diukur pada panjang gelombang 520 nm – 700 nm). Kurva standar dapat memperlihatkan jumlah organisme/ml (ditentukan dengan metode hitungan cawan) hingga pengukuran *optical density* (ditentukan dengan spektrofotometer) (Lestienne, 2005). Nilai OD tersebut merupakan nilai yang menunjukkan tinggi rendahnya pertumbuhan atau populasi bakteri dalam suatu media, semakin tinggi OD maka semakin banyak pula jumlah mikroorganisme dalam kultur tersebut (Laboffe, 2010).

C. Pembahasan

Fermentasi merupakan proses yang sangat krusial, dikarenakan pada proses tersebut berhubungan dengan pertumbuhan dan perkembangbiakan dari bakteri. Jadi setiap komponen yang berpengaruh terhadap perkembangbiakan bakteri perlu diperhatikan untuk mencapai proses fermentasi yang sesuai harapan. Dengan hal tersebut, maka dibutuhkannya optimasi terhadap faktor-faktor yang berperan dalam proses fermentasi seperti pH, suhu, aerasi, dan aseptik. Optimasi terhadap faktor-faktor tersebut diharapkan dapat menghasilkan jumlah sel bakteri yang maksimal dilihat melalui analisa nilai OD (*Optical Density*), sehingga hal tersebut diharapkan dapat menghasilkan asam glutamat yang tinggi. Menurut Sulistyaningrum (2008) fermentasi medium cair lebih memungkinkan untuk mengendalikan faktor-faktor fisik dan kimia yang mempengaruhi proses fermentasi seperti suhu, pH dan kebutuhan oksigen.

PT. Ajinomoto Indonesia melakukan optimasi tersebut dengan melakukan analisa terhadap faktor-faktor di setiap tahapan proses fermentasi. Adapun perbandingan antara perusahaan dengan literatur, dapat dilihat pada **Tabel 11**.

Tabel 11. Optimasi Faktor-Faktor antara Perusahaan dengan Literatur.

Parameter	Optimasi oleh Perusahaan	Literatur	Penjelasan
Suhu	Suhu diatur pada kisaran 31,5°C pada <i>first seed</i> dan <i>second seed</i> (<i>seeding</i>), sedangkan <i>main fermentation</i> suhu diatur 31,5°C ditengah proses ditingkatkan menjadi 35°C dan ditingkatkan kembali menjadi 38 °C	Menurut Chairi (2013) dan Sano (2009) Pada proses pembiakan maupun fermentasi, suhu dalam proses dijaga pada rentang 30-37°C	Optimasi suhu oleh perusahaan sesuai dengan literatur. Suhu yang digunakan dalam proses <i>seeding</i> dan <i>main fermentation</i> dijaga pada kisaran 31,5°C disesuaikan dengan kondisi optimum dari bakteri yang berperan <i>B.lactofermentum</i> . Akan tetapi, ditengah proses terjadi peningkatan suhu menjadi 35°C dan ditingkatkan kembali menjadi 38 °C dengan tujuan untuk induksi asam glutamat dan mematikan bakteri secara perlahan

pH	pH ketika proses <i>seeding</i> hingga <i>mainfermentation</i> dijaga pada 6,9-7,2. Dilakukan pengecekan secara manual dan otomatis melalui monitor dan pada proses <i>main fermentation</i> dilakukan penambahan NH ₃	Menurut Chairi (2013) dan Sano (2009) Pada proses berlangsung, pH dikontrol rentang 7-8	Optimasi pH dalam perusahaan sesuai dengan literatur. pH dikontrol dan dijaga pada kisaran 7 karena merupakan pH optimum bakteri. Penambahan NH ₃ bertujuan untuk menjaga pH dalam kisaran 7, karena ketika <i>main fermentation</i> akan dihasilkan asam yang dapat menurunkan pH dalam proses. Pengecekan secara manual dan otomatis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui nilai pH yang akurat
Aerasi (FIC)	Aerasi dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan oksigen dalam proses dan pemberian aerasi disesuaikan dengan nilai data OD (<i>Optical Density</i>) yang didapat ketika proses berlangsung	Menurut Chairi (2013) dan Siris (2011, dalam Rifa'i, 2018) aerasi dalam fermentasi harus cukup agar dapat dihasilkan asam glutamat	Optimasi aerasi dalam perusahaan sesuai dengan literatur. Aerasi penting dilakukan untuk memenuhi kebutuhan oksigen dalam proses fermentasi aerob. Penambahan aerasi disesuaikan dengan jumlah bakteri yang berkembang karena semakin tinggi jumlah bakteri maka kebutuhan oksigen juga akan meningkat agar dapat dihasilkannya asam glutamate
Aseptik	Analisa aseptik dengan menggunakan analisa TPC dilakukan 3-4 kali dalam tiap tahapan proses, analisa ini dilakukan	Menurut Wati (2018) metode TPC merupakan metode untuk menghitung jumlah mikroba	Optimasi aseptik dalam perusahaan sesuai dengan literatur. TPC dilakukan untuk mengetahui dan

untuk mengetahui ada atau tidaknya kontaminan dalam proses <i>seeding</i> maupun <i>main fermentation</i> . Batas toleran kontaminan dalam <i>main fermentation</i> adalah 10^4 cfu	yang terdapat pada sampel makanan dan produk hasil pertanian. Jumlah mikroba harus dibatasi mengikuti standar-standar yang sudah ditetapkan	melakukan pengontrolan terhadap kontaminan dalam media fermentasi. Analisa ini dapat dijadikan bahan evaluasi untuk melakukan proses fermentasi yang lebih aseptik.
---	---	---

Adapun perbandingan analisa OD (*Optical Density*) antara perusahaan dengan literatur yang digunakan untuk mengetahui fluktuatif pertumbuhan bakteri yang berperan, dapat dilihat pada **Tabel 12**.

Tabel 12. Analisa OD (*Optical Density*) antara Perusahaan dengan Literatur.

Parameter	Optimasi oleh Perusahaan	Literatur	Penjelasan
OD (<i>Optical Density</i>)	Analisa nilai OD dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer 562 nm. Tujuan analisa OD adalah untuk mengetahui pertumbuhan sel bakteri	Menurut Lestienne (2005) perhitungan sel dilakukan secara kualitatif dengan mengukur kekeruhan sel (Turbidimetri) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Kekeruhan dapat disebut <i>optical density</i>	Optimasi OD dalam perusahaan sesuai dengan literatur. OD dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan sel bakteri melalui tingkat kekeruhan suatu sampel dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 562 nm. Ketika nilai OD tinggi maka dapat dikatakan jumlah bakteri dalam media sampel tersebut juga tinggi

Penjelasan mengenai optimasi faktor-faktor yang berperan dan nilai OD (*Optical Density*) dalam proses *seeding* maupun *main fermentation* sebagai berikut:

1. *First Seed*

First Seed merupakan tahapan awal pada proses fermentasi yang bertujuan untuk menumbuhkan sel (*seeding*) bakteri *Brevibacterium*

lactofermentum. Selama proses kultivasi suhu diatur $\pm 31,5^{\circ}\text{C}$ dengan pH 7,2 karena dalam kondisi tersebut merupakan kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri *Brevibacterium lactofermentum*, proses ini berlangsung selama 24 jam. Dalam *first seed* dilakukan beberapa analisa, mulai dari analisa pH, suhu, OD (*Optical Density*), hingga TPC. Untuk analisa pH, suhu, OD (*Optical Density*) dilakukan pada CT (0, 2, 10, 15, 18, 21) jam, sedangkan untuk analisa TPC dilakukan pada F_{BF} , CT (0, 18) jam dan F_{BO} .

Adapun data pengamatan faktor-faktor dan parameter dalam proses *first seed* pada F-tank D dengan no. batch 6279 yang dilakukan secara berkala tiap 3 jam sekali selama 24 jam, dapat dilihat pada **Tabel 13** dan **Tabel 14**.

F-tank D

No. batch: 6279

Tanggal Start: 12 Januari 2020

Tabel 13. Data Pengamatan Parameter F-Tank D

CT	TIME	pH _{RC}	pH _{check}	T ($^{\circ}\text{C}$)	OD	PIC (kg/cm^2)	FIC (Nm^3/H)
0	23.30	7.01	6.88	30.4	0.026	0.5	1
2	01.30	6.9	6.87	31.4		0.5	1
10	09.30	7.05	6.95	31.6		0.5	1.5
15	14.30	7.08	7.1	30.6	0.07	0.8	1.7
18	17.30	6.93	6.81	30.9	0.169	0.5	1.7
21	20.30	6.85	7.55	30.8	0.399	1	2
24	23.30	7.14	7	30	0.708	1	2

Tabel 14. Data Aseptik (TPC) F-Tank D

Cek	Kontaminan
<i>Before Kultivate</i>	Negatif
CT _{0jam}	Negatif
CT _{18jam}	Negatif
BO	Negatif

Adapun data pengamatan faktor-faktor parameter dalam proses *first seed* pada F-tank C dengan no. batch 1696 yang dilakukan secara berkala tiap 3 jam sekali selama 24 jam, dapat dilihat pada **Tabel 15** dan **Tabel 16**.

F-tank C

No. batch: 1696

Tanggal Start: 15 Januari 2020

Tabel 15. Data Pengamatan Parameter F-Tank C

CT	TIME	pH _{RC}	pH _{check}	T (°C)	OD	PIC (kg/cm ²)	FIC (Nm ³ /H)
0	14.00	7.06	7.02	29.5	0.026	0.5	1
2	16.00	7.05	7.01	29.7		0.5	1
10	24.00	7.08	6.98	30.8	0.044	0.5	1.5
15	05.00	7.5	7.06	29.8	0.164	0.9	1.7
18	08.00	6.94	6.7	30.2	0.462	0.8	1.7
21	11.00	6.97	6.86	30.4	0.69	1	2

Tabel 16. Data Aseptik (TPC) F-Tank C

Cek	Kontaminan
<i>Before Kultivate</i>	Negatif
CT _{0jam}	Negatif
CT _{18jam}	Negatif
BO	Negatif

Pada dua data pengamatan *first seed* dapat dilihat untuk pH selalu pada kisaran 6,9-7,2 yang dilakukan pengecekan berkala melalui dua cara yaitu dengan pengecekan pada alat yang telah terhubung langsung dengan fermentor (pH_{RC}) dan dengan dilakukan pengecekan secara manual dengan mengambil sampel langsung pada fermentor dan dicek pada alat pH meter (pH_{check}). Ketika terdapat perbedaan yang terlalu jauh pada pH_{RC} dan pH_{check} maka akan dilakukan *adjust*. Untuk suhu juga dapat dilihat, pada dua data pengamatan selalu berkisar $\pm 31,5^{\circ}\text{C}$ yang disesuaikan dengan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Brevibacterium lactofermentum*.

Pada *first seed* juga dilakukan analisa TPC pada kedua F-tank (D dan C) yang bertujuan untuk mendeteksi adanya bakteri kontaminan pada proses tersebut, yang dilakukan sebelum kultivasi yaitu ketika hanya media saja dalam F-tank, CT (0, 18) jam dan pada akhir proses ketika diperoleh BO. Semua analisa TPC pada waktu tersebut menunjukkan hasil yang negatif terhadap kontaminasi, sedangkan untuk aerasi (FIC) yaitu pensuplaian oksigen dapat dilihat pada kedua data bahwa terjadi peningkatan FIC dari 1Nm³/H hingga 2Nm³/H, hal ini disesuaikan dengan nilai OD yang dihasilkan, jadi ketika semakin tinggi nilai OD maka FIC juga akan dilakukan peningkatan karena ketika OD tinggi menandakan jumlah bakteri yang berkembang semakin banyak sehingga membutuhkan suplai oksigen yang banyak pula.

Setelah proses *first seed* selesai, dilanjutkan dengan proses *keeping* bakteri. Pada tahap ini bakteri dibiarkan selama 2 hari dengan kondisi suhu dalam tangki diatur $\pm 10^{\circ}\text{C}$ dengan tujuan untuk membiarkan bakteri dalam keadaan dorman dan dilakukan analisa TPC secara berkala. Dalam proses ini akan diambil keputusan bakteri akan dilanjutkan ke tahap selanjutnya atau tidak, bergantung pada analisa yang menunjukkan adanya kontaminasi atau tidak.

Adapun data pengamatan faktor-faktor dalam proses *keeping* pada F-tank D dengan no. batch 6279 yang dilakukan secara berkala tiap 24 jam sekali, dapat dilihat pada **Tabel 17** dan **Tabel 18**.

Tabel 17. Data Pengamatan Parameter Proses *Keeping* F-Tank D

CT	Time	Date	T ($^{\circ}\text{C}$)	pH _{RC}	pH _{check}	PIC (kg/cm ²)	FIC (Nm ³ /H)
48	23.30	1/9/2020	10.8	7.53	7.2	1	1
72	23.30	1/10/2020	10.9	7.5	7.2	1	1
96	23.30	1/11/2020	11.5	7.6	7.21	1	1

Tabel 18. Data Aseptik (TPC) *Keeping* F-Tank D

Cek	Kontaminan
CT _{48jam}	Negatif
CT _{72jam}	Negatif
CT _{96jam}	Negatif

Adapun data selanjutnya pengamatan faktor-faktor dalam proses *keeping* pada F-tank C dengan no. batch 1696 yang dilakukan secara berkala tiap 24 jam sekali, dapat dilihat pada **Tabel 19** dan **Tabel 20**.

Tabel 19. Data Pengamatan Parameter Proses *Keeping* F-Tank C

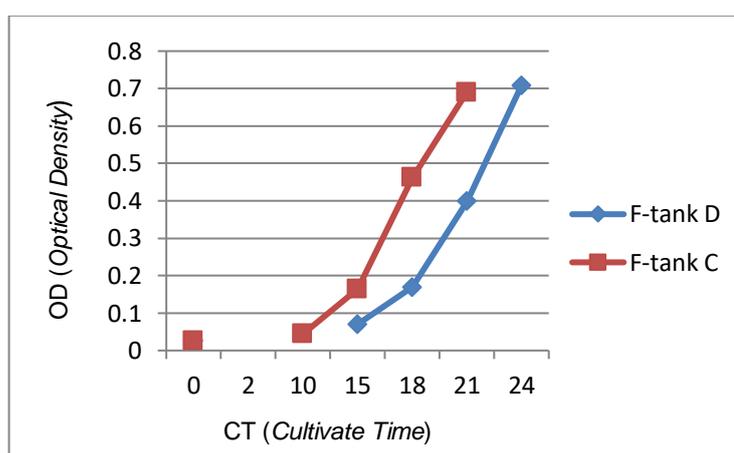
CT	Time	Date	T ($^{\circ}\text{C}$)	pH _{RC}	pH _{check}	PIC (kg/cm ²)	FIC (Nm ³ /H)
48	14.00	1/16/2020	8.9	7.2	6.88	1	0.6
72	14.00	1/17/2020	10.3	7.3	6.88	1	0.6
96	14.00	1/18/2020	10.5	7	6.9	1	0.6
120	14.00	1/19/2020	10.2	7.4	6.94	1	0.1

Tabel 20. Data Aseptik (TPC) *Keeping* F-Tank C

Cek	Kontaminan
CT _{48jam}	Negatif
CT _{72jam}	Negatif
CT _{96jam}	Negatif
CT _{120jam}	Negatif

Proses *keeping* dilihat dari dua data pengamatan yang dilakukan selama 2 hari, dilakukan dengan kondisi suhu dalam tangki $\pm 10^{\circ}\text{C}$ dengan tujuan agar bakteri *Brevibacterium lactofermentum* dalam keadaan dorman untuk tidak terus menerus melakukan perkembangbiakkan yang dapat mengakibatkan bakteri memasuki fase stasioner dan bahkan mungkin fase *death*, sembari dilakukan analisa TPC untuk mendeteksi adanya kontaminan atau tidak. Untuk pH sama seperti proses *first seed* yaitu berkisar pada pH 7,2. Hasil dari kedua data pengamatan dideteksi tidak adanya kontaminan. Setelah dideteksi negatif terhadap kontaminasi selama *keeping* berlangsung, maka bakteri akan ditransfer ke tahapan proses selanjutnya yaitu pada *second seed*.

Adapun grafik pertumbuhan *B. lactofermentum* pada proses *first seed* dapat dilihat pada **Gambar 51**.



Gambar 51. Grafik Pertumbuhan *B.lactofermentum* Pada *First Seed*

Dari dua data pengamatan *first seed* yang diperoleh, dapat dilihat bahwa ketika CT (*Cultivate Time*) semakin lama maka secara otomatis nilai OD (*Optical Density*) juga semakin tinggi. Dalam mendapatkan nilai OD dari suatu sampel dapat dilakukan dengan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang yang digunakan adalah 562 nm, nilai OD digunakan untuk melihat banyaknya bakteri yang tumbuh pada suatu sampel dengan melihat tingkat kekeruhan/kepekatan suatu sampel. Jadi dapat dikatakan ketika sampel memiliki nilai OD tinggi berarti diindikasikan bahwa pertumbuhan bakteri *Brevibacterium lactofermentum* meningkat. Target OD yang harus dicapai yaitu sebesar $\pm 0,8$. Dari grafik menunjukkan bahwa pada proses *first seed*,

bakteri *Brevibacterium lactofermentum* dalam fase lag yaitu adaptasi dan mulai memasuki fase logaritmik yaitu bakteri mengalami perkembangbiakan.

2. Second Seed

Proses ini hampir sama dengan *first seed*, memiliki tujuan untuk menumbuhkan bakteri *Brevibacterium lactofermentum*. Dalam proses perkembangbiakan bakteri, kondisi diatur dengan suhu $\pm 31,5^{\circ}\text{C}$, pH 6,9-7,2 yang terjadi selama 24 jam. Selama proses berlangsung juga dilakukan analisa terhadap pH, suhu, OD (*Optical Density*), hingga TPC. Untuk analisa pH, suhu, OD (*Optical Density*) dilakukan tiap 3 jam sekali sedangkan untuk analisa TPC pada batch 64T dilakukan pada CT (0, 12, 15) jam dan BO sedangkan pada batch 60T dilakukan pada CT (0, 9, 12) jam dan BO. Pada prosesnya juga dilakukan *feeding* berupa TCM pada saat mencapai nilai batasan OD yang telah ditentukan. Proses *second seed* bakteri sebisa mungkin dalam fase logaritmiknya agar perkembangbiakan terjadi maksimal.

Adapun data pengamatan parameter dalam proses *second seed* pada *seedtank* 64E dengan no. batch 6279 yang dilakukan secara berkala tiap 24 jam sekali, dapat dilihat pada **Tabel 21** dan **Tabel 22**.

Seed tank 64E

No. batch: 6279

Tanggal Start: 15 Januari 2020

Tabel 21. Data Pengamatan Parameter *Seed Tank* 64E

CT	TIME	pH _{RC}	pH _{check}	T (°C)	OD	PIC (kg/cm ²)	FIC (Nm ³ /H)	Feed (KL)
0	02.00	6.99	6.94	31	0.011	0.5	400	
3	05.00	7.03	7.05	31.5		0.5	400	
6	08.00	6.91	6.9	30.6	0.027	0.5	400	
12	14.00	6.95	6.92	31.6	0.17	1.6	800	1206
15	17.00	6.92	6.95	31.4	0.281	1.6	800	2703
18	20.00	6.97	6.9	31.4	0.448	1.6	800	5196
20	22.00	6.92	6.14	31.8	0.517	1.6	800	6954
SBO	01.20	6.97	7.01	31.1	0.579	1.6	800	9620

Tabel 22. Data Aseptik (TPC) *Seed Tank* 64E

Cek	Kontaminan
CT _{0jam}	Negatif
CT _{12jam}	Negatif
CT _{15jam}	Negatif
BO	Negatif

Adapun data pengamatan parameter dalam proses *second seed* pada *seedtank* 60B dengan no. batch 1696 yang dilakukan secara berkala tiap 24 jam sekali, dapat dilihat pada **Tabel 23** dan **Tabel 24**.

Seed tank 60B

No. batch: 1696

Tanggal Start: 19 Januari 2020

Tabel 23. Data Pengamatan Parameter *Seed Tank* 60B

CT	TIME	pH _{RC}	pH _{check}	T (°C)	OD	PIC (kg/cm ²)	FIC (Nm ³ /H)	Feed (KL)
0	21.00	7.01	6.94	31.9	0.025	0.5	100	
3	00.00	6.96	6.89	32.1		0.5	100	
5	02.00	7.01	6.91	31.9	0.023	0.5	100	
9	06.00	6.98	6.92	32.1	0.072	1.2	150	45
12	09.00	6.9	6.82	32.3	0.162	1.6	200	418
15	12.00	6.97	6.92	32.2	0.298	1.6	200	900
18	15.00	6.97	6.9	32	0.385	1.6	200	1229
20	18.00	7.08	6.95	32.2	0.49	1.6	200	
SBO	19.00	7.05	6.98	31.9	0.53	1.6	200	

Tabel 24. Data Aseptik (TPC) *Seed Tank* 60B

Cek	Kontaminan
CT _{0jam}	Negatif
CT _{9jam}	Negatif
CT _{12jam}	Negatif
BO	Negatif

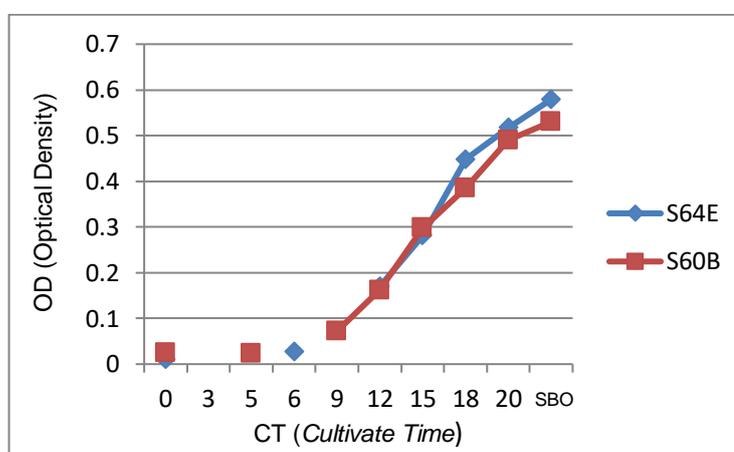
Pada dua data pengamatan *second seed* dapat dilihat untuk pH, suhu sama seperti dalam proses *first seed*. Serta untuk aerasi (FIC) yaitu pensuplaian oksigen yang dilakukan sesuai dengan nilai OD yang dihasilkan, jadi ketika semakin tinggi nilai OD maka FIC juga akan dilakukan peningkatan karena ketika OD tinggi menandakan jumlah bakteri yang berkembang semakin banyak sehingga membutuhkan suplai oksigen yang tinggi.

Dalam *second seed* proses pemindahan bakteri dari *first seed* dilakukan secara berkala dengan volume bakteri tiap kali dipindahkan ± 100 liter, selain pemindahan bakteri juga dilakukan *feeding* secara berkala yang jumlah penambahannya bergantung pada nilai OD yang telah dicapai. Pada kedua data pengamatan tersebut dilakukan pada tangki yang berbeda yaitu S64E dan S60B, perbedaan tangki 64T dan 60T terletak pada kapasitas volumenya

saja jadi bisa dilihat mengapa dari hasil data keduanya pada penambahan *feeding* memiliki jumlah yang berbeda.

Analisa TPC pada *seed tank* juga dilakukan, yaitu jika pada S64E dilakukan pada CT (0, 12, 15) dan BO sedangkan pada S60B pada CT (0, 9, 12) dan BO. Dari proses analisa TPC pada waktu tersebut, dideteksi semua negatif terhadap kontaminan yang artinya dari *second seed* bakteri *Brevibacterium lactofermentum* dapat digunakan pada *main fermentation*.

Adapun grafik pertumbuhan *B.Lactofermentum* pada *second seed* dapat dilihat pada **Gambar 52**.



Gambar 52. Grafik Pertumbuhan *B. lactofermentum* Pada *Second Seed*

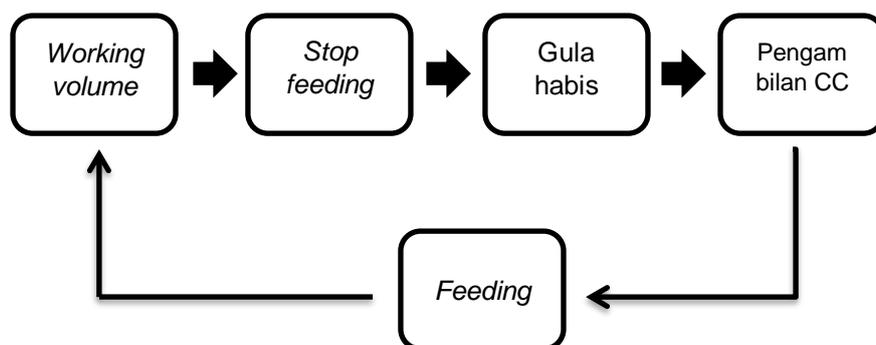
Second seed merupakan proses untuk perkembangbiakkan bakteri *Brevibacterium lactofermentum*, dengan dilakukan proses pengecekan atau pengontrolan terhadap parameter yang berpengaruh pada tiap rentang waktu 3 jam sekali. Dari dua data pengamatan *second seed* yang diperoleh, dapat dilihat bahwa ketika CT (*Cultivate Time*) semakin lama maka secara otomatis nilai OD (*Optical Density*) juga semakin tinggi. Dari grafik yang didapat, bisa dikatakan bahwa antara CT dan OD berbanding lurus yang artinya semakin lama CT berlangsung maka nilai OD semakin tinggi, dari grafik tersebut dapat diketahui bahwa pada proses *second seed* bakteri *Brevibacterium lactofermentum* dalam fase logaritmik yaitu bakteri mengalami pertumbuhan secara maksimal.

3. *Main Fermentation*

Proses ini merupakan proses utama dari fermentasi, karena mulai dihasilkannya asam glutamat oleh bakteri *Brevibacterium lactofermentum*.

Bakteri yang tumbuh pada *second seed* akan dimasukkan secara keseluruhan pada *main fermentor* dan untuk media yang digunakan bahan baku utamanya adalah TCM (*Treated Cane Molasses*) dan *beet molasses*. Dalam prosesnya pH diatur 6,9-7,2 dan untuk suhu $\pm 31,5^{\circ}\text{C}$ dan ditengah proses suhu akan dinaikkan menjadi $\pm 35^{\circ}\text{C}$ dan dinaikkan lagi menjadi $\pm 38^{\circ}\text{C}$ yang tujuannya untuk menipiskan dinding sel dari bakteri agar asam glutamat dalam sel dapat keluar dan perlahan untuk mematikan bakteri tersebut. Proses dilakukan selama 32 jam dan dilakukan beberapa analisa diantaranya analisa pH, suhu, OD (*Optical Density*), hingga TPC. Untuk analisa pH, suhu, OD (*Optical Density*) dilakukan tiap 3 jam sekali sedangkan TPC dilakukan ketika M_{BF} , CT (0, 6, 9, 15) jam dan M_{BO} .

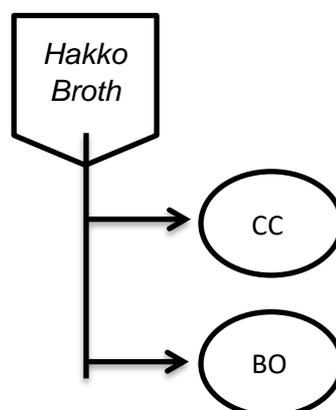
Hasil akhir dari proses ini berupa HB (*Hakko Broth*) yang terdiri atas CC (*Continues Cut*) dan BO (*Broth Out*), pada proses ini CC diambil secara berkala ketika fermentor telah mencapai *working volume* yang artinya volume dalam tangki sudah maksimal dan menunggu gula dalam tangki telah habis (ditandai dengan pergerakan pH yang konstan). Setelah pengambilan CC, akan dilanjutkan dengan proses *feeding* kembali dan pengambilan CC kembali dan begitu seterusnya hingga waktu proses berakhir (32 jam). Skema pengambilan CC dan proses *feeding* dapat dilihat pada **Gambar 53**.



Gambar 53. Skema Pengambilan CC dan Proses *Feeding*

Sumber: PT. Ajinomoto Indonesia, 2020

Sedangkan untuk BO merupakan hasil akhir dari proses *main fermentation*. Pada intinya CC dan BO sama, melainkan berbeda waktu pengambilan saja, jika CC di tengah proses berjalan dan diambil secara kontinyu sedangkan BO di akhir proses. Skema HB (*Hakko Broth*) dapat dilihat pada **Gambar 54**.



Gambar 54. Skema Pengambilan HB (*Hakko Broth*)

Sumber: PT. Ajinomoto Indonesia, 2020

Adapun data pengamatan parameter dalam proses *main fermentation* pada *maintank* 64E dengan no. batch 6279 yang dilakukan secara berkala tiap 3 jam sekali selama 32 jam, dapat dilihat pada **Tabel 25** dan **Tabel 26**.

Main tank 64E

No. batch: 6279

Tanggal Start: 16 Januari 2020

Tabel 25. Data Pengamatan Parameter *Main Tank* 64E

CT	TIME	pH _{RC}	pH _{check}	T (°C)	OD	PIC (kg/cm ²)	FIC (Nm ³ /H)	Feed (KL)
0	01.30	6.95	6.87	30.6	0.133	0.8	4041	
3	04.30	6.96	6.92	32.2		0.8	4009	
6	07.30	6.83	6.85	32		1.2	6546	16.3
9	10.30	6.84	6.9	31.4		1.45	8561	33.5
12	13.30	7.25	7.27	37.5	0.481	1.45	8007	73.4
15	16.30	7.91	7.21	37.7	0.43	1.45	8418	106.8
18	19.30	7.02	7.24	40.2	0.476	1.45	8470	146.9
21	22.33	7.2	7.27	39		1.45	8931	186.7
24	01.30	7.15	7.19	38	0.394	1.45	9081	220.1
27	04.30	7.27	7.21	38.5		1.45	8017	250.2
32	08.00	7.4	7.19	38.5	0.336	1.39	5141	259.1

Tabel 26. Data Aseptik (TPC) *Main Tank* 64E

Cek	Kontaminan
<i>Before Fermentation</i>	Negatif
CT _{0jam}	Positif 13 koloni
CT _{6jam}	Positif 10 koloni
CT _{9jam}	Negatif
CT _{15jam}	Negatif
BO	Negatif

Adapun data pengamatan parameter dalam proses *main fermentation* pada *maintank* 60B dengan no. batch 1696 yang dilakukan secara berkala tiap 3 jam sekali selama 32 jam, dapat dilihat pada **Tabel 27** dan **Tabel 28**.

Main tank 60B

No. batch: 1696

Tanggal Start: 20 Januari 2020

Tabel 27. Data Pengamatan Parameter *Main Tank* 60B

CT	TIME	pH _{RC}	pH _{check}	T (°C)	OD	PIC (kg/cm ²)	FIC (Nm ³ /H)	Feed (KL)
0	19.30	6.8	6.91	31.7	0.093	0.8	2000	
3	22.30	6.71	6.95	31.4	0.143	0.8	2000	
6	01.30	6.79	6.9	31.3	0.267	1	3000	2.3
9	04.30	6.78	6.89	31.1	0.336	1.3	3000	8
12	07.30	7.16	7.23	31.7	0.422	1.5	3725	14.9
15	10.30	7.22	7.29	38.3	0.455	1.5	3725	28
18	13.30	7.31	7.26	38.6	0.465	1.5	3725	43
21	16.30	7.24	7.15	38.5		1.5	3750	55
24	19.30	7.18	7.25	38.4	0.423	1.5	3750	66.8
27	22.30	7.25	7.2	38.4		1.5	3000	78.1
29 ^¼	00.45	7.28	7.3	38.1	0.401	1	2500	82.1

Tabel 28. Data Aseptik (TPC) *Main Tank* 60B

Cek	Kontaminan
<i>Before Fermentation</i>	Negatif
CT _{0jam}	Negatif
CT _{6jam}	Negatif
CT _{9jam}	Negatif
CT _{15jam}	Negatif
BO	Negatif

Pada dua data pengamatan *main fermentation* dapat dilihat untuk pH selalu pada kisaran 6,9-7,2. Selain itu, ketika terjadi penurunan pH akibat telah dihasilkannya asam glutamat dalam proses maka akan dilakukan penambahan NH₃ untuk mengembalikan pH dalam kisaran angka yang diinginkan. Sedangkan untuk suhu ±31,5°C dan ditengah proses suhu akan dinaikkan menjadi ±35°C dan dinaikkan lagi menjadi ±38°C, hal ini bertujuan untuk menginduksi produk asam glutamat dan mematikan bakteri secara perlahan. Serta untuk aerasi (FIC) yaitu pensuplaian oksigen yang dilakukan sesuai dengan nilai OD yang dihasilkan, jadi ketika semakin tinggi nilai OD maka FIC juga akan dilakukan peningkatan karena ketika OD tinggi

menandakan jumlah bakteri yang berkembang semakin banyak sehingga membutuhkan suplai oksigen yang tinggi.

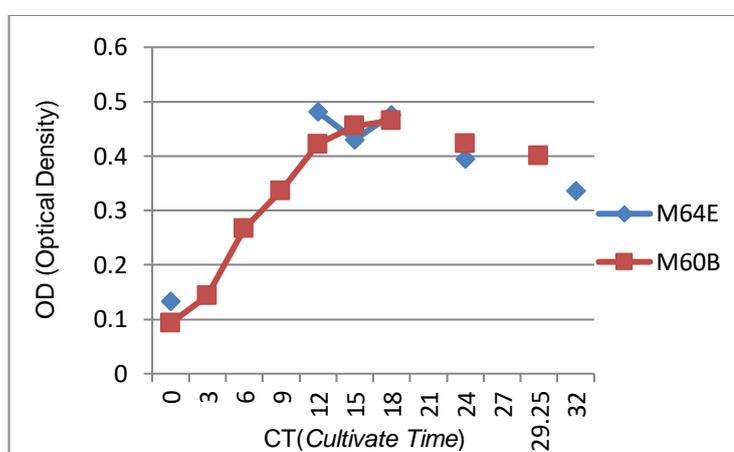
Pada *main fermentation* diakhir proses akan dihasilkan HB (*Hakko Broth*), yang bisa dalam bentuk CC dan BO. Jika CC merupakan hasil fermentasi yang dilakukan pengambilan ditengah-tengah proses, pengambilan CC dilakukan ketika fermentor telah mencapai *working volume* dan *feeding* dihentikan. Sedangkan untuk BO merupakan hasil fermentasi yang terdapat diakhir proses fermentasi. Dilihat dari dua data pengamatan yang didapat, proses *feeding* mulai dilakukan pada CT_{6jam} yang artinya pada CT_{6jam} tersebut sudah mulai dilakukannya pengambilan CC yang kemudian prosesnya dilanjut dengan proses *feeding* untuk melanjutkan proses fermentasi, bahan yang digunakan *feeding* pada proses ini hanya berupa TCM (*Treated Cane Molasses*). Pengambilan CC sendiri biasa dilakukan dengan jumlah volume yang sama di tiap pengambilannya.

Analisa TPC yang telah dilakukan, didapatkan hasil sesuai dengan data pengamatan yaitu pada tangki M64E diperlakukan CT (0 dan 6) jam dideteksi positif adanya bakteri kontaminan yang tumbuh, yaitu pada CT_{0jam} terdapat koloni yang tumbuh sebanyak 13 koloni bakteri sedangkan pada CT_{6jam} terdapat 10 koloni. Akan tetapi dengan terbentuknya koloni tersebut hasil fermentasi tetap dikirimkan ke seksi H4 untuk proses selanjutnya yaitu isolasi dan purifikasi, hal tersebut karena koloni bakteri kontaminan yang terbentuk masih dapat dihitung yang artinya tidak terlalu banyak dan ketika pengecekan atau analisa TPC yang terakhir (BO) hasilnya menunjukkan negatif. Untuk hasil fermentasi yang tidak dapat dikirimkan ke seksi H4 dan harus dibuang adalah ketika analisa TPC terdapat bakteri sebanyak 10^5 cfu, batasan toleran adanya kontaminan di *main fermentation* adalah 10^4 cfu. Sedangkan untuk hasil analisa TPC pada tangki M60B menunjukkan hasil yang negatif disemua pengecekan.

Adanya koloni bakteri yang terdeteksi tersebut sering terjadi di seksi H2 fermentasi. Hal ini dimungkinkan terjadi karena dalam proses pengambilan sampel dan analisa TPC kurang dilakukan secara aseptik dan para pekerja yang kurang mematuhi standar SOP yang ada, sehingga dapat terjadi kontaminasi silang terhadap sampel yang diambil dan hal tersebut mengakibatkan terdeteksinya bakteri kontaminan dalam *petridish*. Selain itu,

dapat dimungkinkan kurangnya alat yang tersedia seperti mikroskop dan inkubator. Sehingga kegiatan dalam mendeteksi jenis bakteri kontaminan yang tumbuh tersebut terbatas, hal tersebut mengakibatkan kegiatan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri kontaminan tidak dapat dilakukan. Dengan adanya permasalahan tersebut diharapkan perusahaan lebih memperhatikan perihal SOP pekerja, kegiatan yang lebih aseptis lagi dan peralatan penunjang dalam upaya deteksi jenis bakteri kontaminan.

Adapun grafik pertumbuhan *B. lactofermentum* pada *main fermentation* dapat dilihat pada **Gambar 55**.



Gambar 55. Grafik Pertumbuhan *B. lactofermentum* Pada *Main Fermentation*

Main fermentation merupakan proses utama dalam fermentasi karena dalam tahap ini mulai dihasilkan asam glutamat oleh bakteri *Brevibacterium lactofermentum*, dengan dilakukan proses pengecekan atau pengontrolan terhadap parameter yang berpengaruh pada tiap rentang waktu 3 jam sekali. Pada proses ini, bakteri yang ada dalam *seed tank* akan dimasukkan secara keseluruhan dalam *main fermentation*. Dilihat dari dua data yang diperoleh, untuk nilai OD yang dihasilkan berbeda dengan *first seed* dan *second seed* yang berbanding lurus terhadap CT, ketika CT semakin lama maka nilai OD semakin tinggi berbeda dengan di *main fermentation* yang ketika CT_{24jam} hingga CT selanjutnya nilai OD malah mengalami penurunan. Hal tersebut dapat dikatakan wajar, karena pada CT_{24jam} suhu yang diatur adalah $\pm 38^{\circ}\text{C}$ sedangkan bakteri *Brevibacterium lactofermentum* hanya dapat bertahan hidup pada suhu 37°C , dengan hal tersebut secara otomatis bakteri

sudah banyak yang mengalami fase *death* sehingga bukan mengalami pertumbuhan yang pesat tetapi malah banyak bakteri yang telah mati.

Serta ketika dilihat dari grafik yang terbentuk, dapat dikatakan dalam proses ini sebisa mungkin menghindari fase stasioner karena ketika telah memasuki fase tersebut bisa dimungkinkan bakteri menghasilkan metabolit sekunder yang mungkin saja dapat mengganggu hasil yang diinginkan dalam proses fermentasi ini. Jadi dapat dilihat dari grafik, pergerakan pertumbuhan bakteri setelah memasuki fase logaritmik langsung masuk pada *fase death*, hal tersebut dilakukan dengan cara peningkatan suhu pada proses fermentasi.

D. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

- a. Optimasi parameter yang dilakukan oleh PT. Ajinomoto Indonesia memiliki kesesuaian dengan literatur yang meliputi pH dengan kisaran 7, suhu pada rentang 30-37°C, OD (*Optical density*), aerasi diatur menyesuaikan dengan banyaknya bakteri yang tumbuh dalam media serta aseptik dilakukan melalui analisa TPC untuk mendeteksi adanya kontaminan.
- b. Dalam optimasi parameter (pH, suhu, OD (*Optical density*), aerasi serta aseptik) untuk menunjang keberhasilan dari proses fermentasi, dilakukan sampling dan analisa terhadap parameter tersebut pada tiap prosesnya secara berkala.
- c. Pertumbuhan bakteri *Brevibacterium lactofermentum* pada tahapan *first seed* memasuki fase lag atau adaptasi dan mulai memasuki fase logaritmik, *second seed* sudah memasuki fase logaritmik yang artinya bakteri telah mengalami pertumbuhan yang maksimal dan *main fermentation* bakteri mengalami fase logaritmik dan fase *death*.

2. Saran

- a. Memberikan edukasi kepada pekerja mengenai teknis aseptis agar dalam kegiatan analisa TPC dapat dilakukan secara akurat
- b. Pengadaan inkubator baru dan mikroskop untuk pengamatan TPC agar dapat terdeteksi bakteri kontaminan yang tumbuh sehingga dapat dilakukan pencegahan terhadap pertumbuhan bakteri kontaminan tersebut.