

Studi Kinetika Konsumsi Glukosa oleh *Aspergillus Niger* dalam Produksi Bioethanol dari Lignoselulosa

Setyo Erna Widiyanti ^{1,a}

¹ Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Ujung Pandang, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Makassar 90245 Indonesia

^asetyoernawidiyanti@gmail.com

Abstract — Global warming resulted from CO₂ level increase in the atmosphere has caused elevation of earth temperature and uncertain climate changes. To prevent the rise of CO₂ in the atmosphere can be done by using biomass fuel such as bioethanol. The raw materials of bioethanol can be derived from oil palm empty fruit bunch. Enzymatic hydrolysis utilizes cellulase-producing fungus and in this research, *Aspergillus niger* was chosen. The glucose produced is consumed by *A. niger* as carbon source and this is undesirable, therefore it should be minimized as low as possible. Knowing the rate of glucose consumption is important to have a model of the hydrolysis reaction rate which will be helpful in the design process on an industrial scale hydrolysis reactor.

This study aimed to determine the equations that can be used to approximate the growth rate of *A. niger*, glucose consumption, the formation of citric acid, and the kinetic parameters used to modeling the kinetics of glucose consumption by *A. niger*. Kinetics of glucose consumption by *A. niger* was studied in batch system with variation of initial glucose concentration of 30, 50, 70 g/l. The growth rate of *A. niger*, glucose consumption, and the formation of citric acid were modeled using 3 equations; i.e. Monod with non-competitive product inhibition, Luedeking-Piret, and Luedeking-Piret growth associated product formation, respectively. The values of kinetic parameters such as μ_{max} , K_s , K_p , were 0.65 hour⁻¹, 157.5 g/l, 0.3 g/l, for initial glucose concentration of 30, 50, 70 g/l, respectively. The values of α (kinetic parameter for growth associated product formation and α would be equal to $Y_{p/x}$) and $Y_{x/s}$ were 0.4903, 0.8531, 0.9863; 0.5124, 0.2704, 0.2381, for initial glucose concentration of 30, 50, 70 g/l, respectively. Higher initial glucose concentration would increase α but it lowered $Y_{x/s}$.

Keywords— glucose, *A. niger*, citric acid, Monod non-competitive product inhibition, Luedeking-Piret

Abstrak— Pemanasan global mengakibatkan peningkatan suhu bumi dan perubahan iklim tidak menentu. Hal ini diakibatkan dari semakin bertambahnya CO₂ di atmosfer. Untuk meminimalisasi penambahan jumlah CO₂ di atmosfer dapat dilakukan dengan penggunaan bahan bakar yang berbahan baku biomassa yaitu bioethanol. Bahan baku bioethanol dapat berasal dari tandan kosong kelapa sawit (TKKS). Proses hidrolisis secara enzimatik dapat menggunakan jamur penghasil selulase seperti *Aspergillus niger*. Jamur *A. niger* menghidrolisis

selulosa untuk mendapatkan glukosa. Sebagian glukosa hasil hidrolisis dikonsumsi *A. niger* untuk memenuhi kebutuhan sumber karbonnya. Konsumsi glukosa oleh *A. niger* merupakan hal yang tidak diinginkan dan sebisa mungkin diminimalkan. Besarnya laju konsumsi glukosa penting diketahui untuk mendapatkan model laju reaksi hidrolisis yang nantinya akan bermanfaat pada proses perancangan reaktor hidrolisis pada skala industri.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan persamaan yang dapat digunakan untuk mendekati kecepatan pertumbuhan *A. niger*, kecepatan konsumsi glukosa, kecepatan produksi asam sitrat oleh *A. niger*, serta mengetahui parameter-parameter kinetika yang digunakan dalam penyusunan model kinetika konsumsi glukosa oleh *A. niger*. Kinetika konsumsi glukosa oleh *A. niger* dipelajari secara *batch* dengan variasi konsentrasi awal glukosa 30, 50, 70 g/l. Laju pertumbuhan, konsumsi glukosa, produksi asam sitrat oleh *A. niger* mendekati dengan persamaan Monod non-competitive product inhibition, Luedeking-Piret, Luedeking-Piret dengan pola *growth associated product formation*. Nilai-nilai parameter kinetika berupa μ_{max} , K_s , K_p untuk konsentrasi awal glukosa 30, 50, 70 g/l adalah 0,65 Jam⁻¹, 157,5 g/l, 0,3 g/l. Nilai α (parameter kinetika untuk pembentukan asam sitrat mengikuti pola pertumbuhan *A. niger* yang nilainya sama dengan $Y_{p/x}$) dan $Y_{x/s}$ untuk konsentrasi awal glukosa 30, 50, 70 g/l adalah 0,4903; 0,8531; 0,9863 dan 0,5124; 0,2704; 0,2381. Dengan semakin besar konsentrasi awal glukosa semakin besar pula nilai α , akan tetapi semakin kecil nilai $Y_{x/s}$.

Kata Kunci—Glukosa, *A. niger*, asam sitrat, Monod non-competitive product inhibition, Luedeking-Piret

I. Pendahuluan

Pemanasan global mengakibatkan naiknya suhu bumi dan perubahan iklim tidak menentu. Pemanasan global terjadi akibat dari semakin bertambahnya CO₂ di atmosfer. Untuk meminimalisasi penambahan jumlah CO₂ di atmosfer dapat dilakukan dengan penggunaan bahan bakar yang berbahan baku biomassa yaitu bioethanol. Bahan baku bioethanol dapat berasal dari tandan kosong kelapa sawit (TKKS). Pada proses produksi bioethanol dari TKKS, ada 4 tahapan proses

yaitu *pretreatment* TKKS, hidrolisis selulosa menjadi glukosa, fermentasi glukosa menjadi etanol, dan pemurnian etanol. Dari keempat tahap ini, tahap hidrolisis selulosa merupakan salah satu tahap yang terpenting.

Proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatik. Proses hidrolisis secara enzimatik dapat menggunakan jamur penghasil selulase seperti *Aspergillus niger*. Jamur *A. niger* menghidrolisis selulosa untuk mendapatkan glukosa. Sebagian glukosa hasil hidrolisis dikonsumsi *A. niger* untuk memenuhi kebutuhan sumber karbonnya. Produk yang diinginkan dari proses hidrolisis selulosa adalah glukosa, sehingga konsumsi glukosa oleh *A. niger* merupakan hal yang tidak diinginkan dan sebisa mungkin diminimalkan. Besarnya laju konsumsi glukosa penting diketahui untuk mendapatkan model laju reaksi hidrolisis yang nantinya akan bermanfaat pada proses perancangan reaktor hidrolisis pada skala industri. Penelitian ini bertujuan menentukan persamaan yang dapat digunakan untuk mendekati pertumbuhan, kecepatan konsumsi glukosa, kecepatan produksi asam sitrat oleh *A. niger*, serta mengetahui parameter-parameter kinetika yang digunakan dalam penyusunan model kinetika konsumsi glukosa oleh *A. niger*.

Model kinetika disusun berdasarkan beberapa asumsi proses berikut ini:

1. Neraca massa *Aspergillus niger* (x) dalam reaktor *batch* adalah:

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu \cdot C_x \quad (1)$$

μ merupakan kecepatan pertumbuhan spesifik netto mikroorganisme [1]. Persamaan (1) adalah persamaan Monod, dimana nilai μ dinyatakan pada persamaan (2).

$$\mu = \mu_g - k_d \quad (2)$$

μ_g adalah kecepatan pertumbuhan spesifik, k_d adalah kecepatan kematian karena metabolisme. Nilai k_d pada fase eksponensial sangat kecil, sehingga nilai k_d dapat diabaikan ($\mu = \mu_g$) [1].

Pertumbuhan *A. niger* dihambat oleh produk yang dihasilkannya [2],[3] sehingga μ_g adalah:

$$\mu_g = \frac{\mu_{max}}{\left(1 + \frac{K_s}{C_s}\right) \left(1 + \frac{C_p}{K_p}\right)} \quad (3)$$

Persamaan (3) di substitusi ke persamaan (1), sehingga diperoleh persamaan akhir untuk menghitung laju pertumbuhan yang dinyatakan pada persamaan (4).

$$\frac{dC_x}{dt} = \frac{\mu_{max}}{\left(1 + \frac{K_s}{C_s}\right) \left(1 + \frac{C_p}{K_p}\right)} C_x \quad (4)$$

Persamaan (4) merupakan persamaan Monod dengan produk inhibitor nonkompetitif

2. Neraca massa glukosa dalam reaktor *batch* adalah sebagai berikut:

$$\frac{dC_s}{dt} = -r_s \quad (5)$$

$$-r_s = -\frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dC_x}{dt} - m_s C_x \quad (6)$$

Glukosa yang digunakan untuk pertumbuhan sudah termasuk glukosa yang digunakan untuk pemeliharaan sel, sehingga persamaan (6) dapat disederhanakan menjadi persamaan (7):

$$-r_s = -\frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dC_x}{dt} \quad (7)$$

Persamaan (7) disubstitusi ke persamaan (5), sehingga diperoleh persamaan akhir untuk menghitung laju pengurangan glukosa yang dinyatakan pada persamaan (8).

$$\frac{dC_s}{dt} = -r_s = -\frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dC_x}{dt} \quad (8)$$

Persamaan (8) merupakan persamaan Luedeking-Piret.

3. *A. niger* memproduksi asam sitrat hanya pada fase pertumbuhan [2]-[4]. Neraca massa asam sitrat pada reaktor *batch* adalah:

$$\frac{dC_p}{dt} = r_p \quad (9)$$

Laju pembentukan asam sitrat mengikuti pola *growth-associated product formation* dapat dilihat pada persamaan (10)

$$r_p = \alpha \frac{dC_x}{dt} \quad (10)$$

Persamaan (10) disubstitusikan ke persamaan (9), sehingga diperoleh persamaan akhir untuk menghitung laju pembentukan asam sitrat yang dinyatakan pada persamaan (16).

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \frac{dC_x}{dt} \quad (11)$$

Nilai α pada persamaan (11) sama dengan nilai $Y_{p/x}$. Persamaan (11) merupakan persamaan Luedeking-Piret dengan pola *growth-associated product formation*.

II. Metode Penelitian

A. Inokulasi.

Inokulasi *A. niger* dilakukan dengan metode gores pada media agar miring. Inokulum hasil inokulasi disimpan ke dalam inkubator selama 7 hari pada suhu 25 °C. Pada saat inokulum akan digunakan, inokulum ditambahkan 6 ml larutan garam fisiologis (0,85% NaCl) dan divorteks selama 10 menit.

B. Fermentasi Glukosa Secara Batch.

Komposisi media fermentasi adalah (g/l): 30 – 70, glukosa; 20, KH₂PO₄; 8, (NH₄)₂SO₄; 5, MgSO₄.7H₂O, dan 0,52, inokulum. pH medium awal 5,5. Kecepatan penggoyangan 100 rpm (kecepatan penggoyangan disesuaikan dengan kondisi proses fermentasi), apabila kecepatan penggoyangan terlalu besar akan membuat rusak filamen jamur. Proses fermentasi dilakukan selama 240 jam dan sampel dianalisis setiap 24 jam.

C. Analisis Sampel.

Penyiapan analisis sampel dilakukan dengan cara memanaskan sampel dalam *autoclave* pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm, selama 15 menit. Kemudian sampel disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Filtrat hasil sentrifugasi digunakan untuk analisis konsentrasi glukosa, analisis konsentrasi asam sitrat, dan pH. Sedangkan endapan hasil sentrifus digunakan untuk analisis sel. Analisis konsentrasi *A. niger* dilakukan dengan metode berat kering. Analisis konsentrasi glukosa dilakukan dengan metode DNS. Konsentrasi asam sitrat dianalisis dengan titrasi asam basa. pH sampel dianalisis dengan menggunakan pH meter.

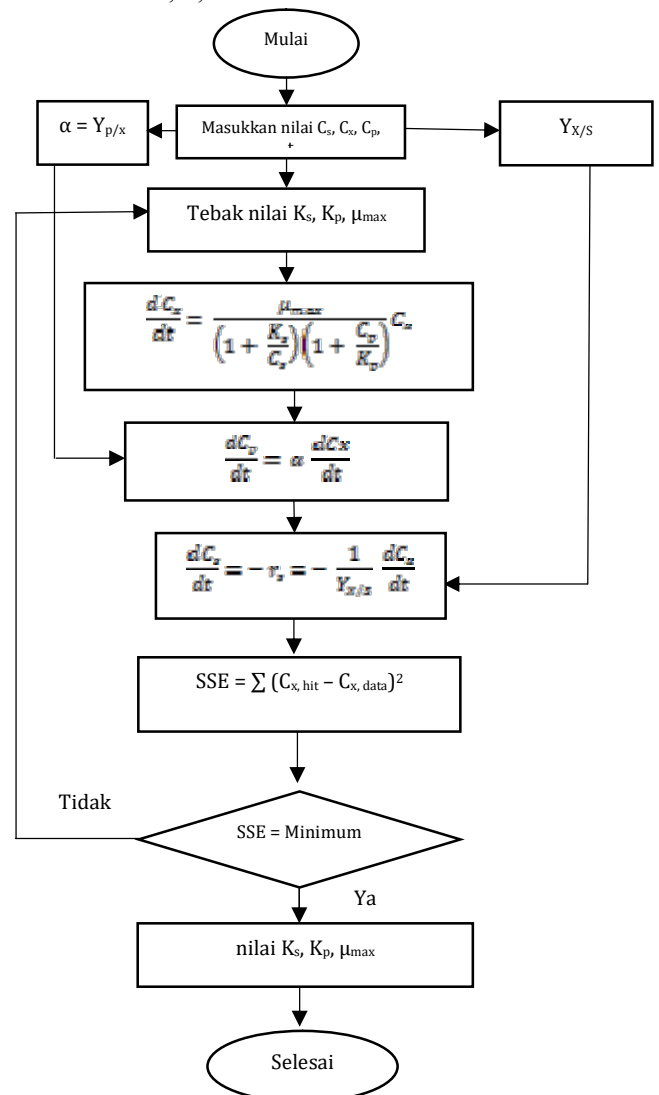
D. Perhitungan Tetapan Model Kinetika.

Dengan menggunakan persamaan (4), (8), (11) dan data C_x , C_s , C_p setiap waktu, maka parameter-parameter

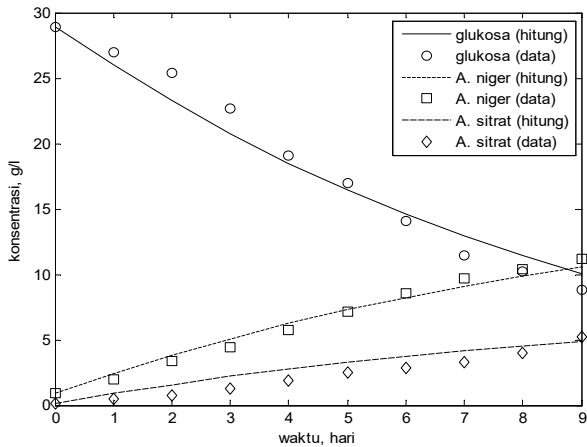
kinetika fermentasi glukosa oleh *A. niger* dapat ditentukan. Nilai-nilai parameter kinetika merupakan nilai-nilai yang didapat pada saat *A. niger* sudah memasuki fase eksponensial. Sehingga t_0 (waktu awal) untuk perhitungan digunakan waktu pada saat *A. niger* memasuki fase eksponensial. Algoritma dari penyelesaian kinetika fermentasi glukosa oleh *A. niger* dapat dilihat pada Gambar 1.

III. Hasil dan Pembahasan

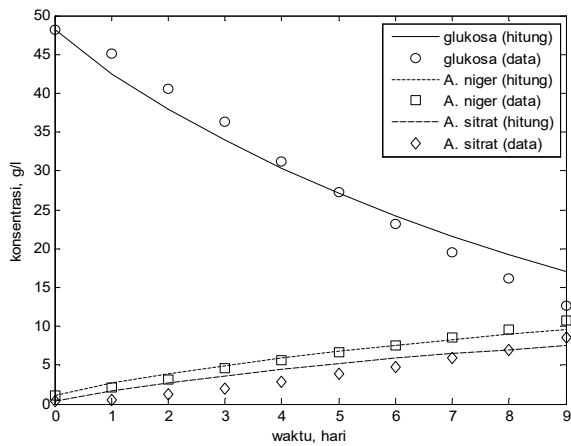
Hasil simulasi laju pertumbuhan *A. niger*, konsumsi glukosa dan produksi asam sitrat untuk konsentrasi awal glukosa 30, 50, dan 70 g/l dapat dilihat pada Gambar 2, 3, dan 4.



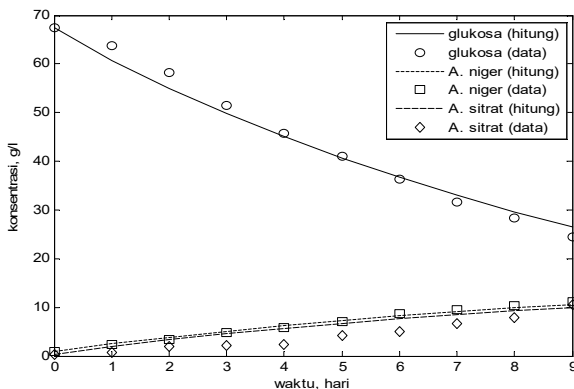
Gambar 1. Algoritma penyelesaian kinetika konsumsi glukosa oleh *A. niger*



Gambar 2. Hasil simulasi laju pertumbuhan *A. niger*, konsumsi glukosa dan produksi asam sitrat untuk konsentrasi awal glukosa 30 g/l.



Gambar 3. Hasil simulasi laju pertumbuhan *A. niger*, konsumsi glukosa dan produksi asam sitrat untuk konsentrasi awal glukosa 50 g/l.



Gambar 4. Hasil simulasi laju pertumbuhan *A. niger*, konsumsi glukosa dan produksi asam sitrat untuk konsentrasi awal glukosa 70 g/l.

Tabel 1. Parameter kinetika konsumsi glukosa oleh *A. niger* dari berbagai penelitian.

Parameter	Kons. Glukosa			Pham et al. (1997) ^[4]	Woinarochy et al. (2010) ^[2]	Amenagha won and Aisien (2012) ^[3]	Znad et al. (2003) ^[5]
	30 g/l	50 g/l	70 g/l	C _{s0} = 120 g/l	C _{s0} = 150 g/l	C _{s0} = 3,032 g/l	C _{s0} = 150 g/l
μ_{max} (jam ⁻¹)	0,65	0,65	0,65	-	0,97494	0,0132	0,668
K _s (g/l)	157,5	157,5	157,5	-	115,3839	0,0006	130,902
K _p (g/l)	0,3	0,3	0,3	-	0,1006	0,2572	-
α atau Y _{px}	0,4903	0,8531	0,9863	3,4725	2,8841	13,6708	-
Y _{x/s}	0,5124	0,2704	0,2381	0,2333	0,22882	0,0711	-
SSE	4,2.10 ⁻¹¹	4,6.10 ⁻¹¹	1,2.10 ⁻¹⁰	-	-	-	-

Berdasarkan Tabel 1 nilai μ_{max} untuk konsentrasi awal glukosa 30, 50, dan 70 g/l adalah 0,65 Jam⁻¹. Nilai μ_{max} hasil dari berbagai penelitian adalah 0,97494 [2]; 0,0132 [3] dan 0,668 [5] Jam⁻¹. μ_{max} adalah laju pertumbuhan spesifik maksimum untuk setiap mikroorganisme. Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini sama, yaitu *A. niger* akan tetapi nilai μ_{max} setiap penelitian berbeda. Hal ini disebabkan nilai μ_{max} dipengaruhi oleh kondisi media fermentasi dari *A. niger* tumbuh dan jenis substrat yang dikonsumsi.

K_s merupakan konstanta kejenuhan Monod. Nilai K_s menunjukkan afinitas sel terhadap substrat, dengan nilai K_s merupakan konsentrasi substrat pada saat $\mu = 0,5 \mu_{max}$. Besarnya nilai K_s pada saat konsentrasi awal glukosa 30, 50, dan 70 g/l adalah 157,5 g/l. Nilai K_s hasil dari berbagai penelitian adalah 115,3839 g/l^[2] dengan konsentrasi awal glukosa 150 g/l; 0,0006 g/l^[3] dengan konsentrasi awal glukosa 3,032 g/l; 130,902 g/l^[5] dengan konsentrasi awal glukosa 150 g/l. Nilai K_s dipengaruhi oleh jenis substrat dan mikroorganisme.

K_p merupakan konstanta produk inhibisi. Nilai K_p adalah konsentrasi produk (asam sitrat) dengan laju pertumbuhan mikrobia mengalami reduksi sebesar 0,5 μ_{max} . Besarnya nilai K_p pada saat konsentrasi awal glukosa 30, 50, dan 70 g/l adalah 0,3 g/l. Besarnya nilai

K_p dari berbagai penelitian adalah yang dilakukan oleh adalah 0,1006^[2] dan 0,2572 g/l[3]. Nilai K_p dipengaruhi oleh jenis produk yang dihasilkan mikroorganisme.

α adalah konstanta untuk pembentukan asam sitrat mengikuti pola pertumbuhan. Nilai α merupakan nilai $Y_{p/x}$ (yield asam sitrat dari *A. niger*). Besarnya nilai α pada konsentrasi awal glukosa 30, 50, dan 70 g/l adalah 0,4903; 0,8531; dan 0,9863. Pada penelitian ini semakin besar konsentrasi awal glukosa, semakin besar pula nilai α . Nilai α pada berbagai penelitian adalah 3,4725[4]; 2,8841[2]; dan 13,6708 [3]. Nilai α dari penelitian ini lebih kecil dari ketiga penelitian tersebut. Hal ini disebabkan media fermentasi yang digunakan oleh ketiga penelitian tersebut disesuaikan untuk *A. niger* dapat memproduksi asam sitrat sebesar-besarnya. Sedangkan dalam penelitian ini digunakan medium yang difokuskan untuk mengoptimalkan pertumbuhan *A. niger* (penelitian ini terfokus pada kecepatan konsumsi glukosa *A. niger* pada saat proses hidrolisis, sehingga media yang digunakan disesuaikan dengan proses hidrolisis selulosa). Sehingga asam sitrat yang dihasilkan dari penelitian ini kurang maksimal.

Parameter kinetika berupa μ_{max} , K_s , K_p tidak dipengaruhi oleh konsentrasi awal glukosa. Hal ini disebabkan oleh mikroorganisme yang digunakan sama yaitu *Aspergillus niger* van Tieghem 6018 NRRL A-11 264 dan substrat yang digunakan adalah glukosa *anhydrous*, serta produk yang dihasilkan sama yaitu asam sitrat. Nilai α dipengaruhi oleh konsentrasi awal glukosa, semakin besar konsentrasi awal glukosa, semakin besar pula nilai α .

iv. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Laju pertumbuhan *A. niger* didekati dengan persamaan Monod *non-competitive product inhibition*.
2. Laju pengurangan glukosa dapat didekati dengan persamaan Luedeking-Piret.
3. Laju pembentukan asam sitrat didekati dengan persamaan Luedeking-Piret dengan pola *growth associated product formation*.

4. Nilai Parameter kinetika berupa μ_{max} , K_s , K_p adalah 0,65 jam⁻¹, 157,5 g/l, 0,3 g/l. Nilai α untuk konsentrasi awal glukosa 30, 50, dan 70 g/l adalah 0,4903; 0,8531; 0,9863.

Daftar Notasi

C_x	=	Konsentrasi biomassa, g/l
C_s	=	Konsentrasi substrat (glukosa), g/l
C_p	=	Konsentrasi produk, g/l
K_s	=	Konstanta kejenuhan monod, nilainya sama dengan konsentrasi substrat ketika $\mu_g = 0,5 \mu_m$, g/l
K_p	=	Konstanta produk inhibisi, nilainya sama dengan konsentrasi produk (asam sitrat) pada saat laju pertumbuhan spesifik mikrobial mengalami reduksi sebesar 0,5 μ_{max} , g/l
k_d	=	Laju kematian karena metabolisme, Jam ⁻¹
m_s	=	Koefisien pemeliharaan, jam ⁻¹
r_s	=	Laju penyerapan substrat, g/(l.jam)
r_p	=	Laju pembentukan produk, g/(l.jam)
t	=	Waktu, Jam
$Y_{X/S}$	=	yield, massa biomassa per massa glukosa
$Y_{p/x}$	=	yield, massa asam sitrat per massa biomassa
α	=	Koefisien pembentukan produk mengikuti pola <i>growth-associated product formation</i>
μ	=	Laju pertumbuhan spesifik, Jam ⁻¹
μ_g	=	Laju pertumbuhan spesifik netto, Jam ⁻¹
μ_{max}	=	Laju pertumbuhan spesifik maksimum, Jam ⁻¹

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Bapak Agus Prasetya dan kolega di jurusan Teknik Kimia PNUP yang telah banyak memberikan kontribusi dalam penyelesaian penulisan ini.

Daftar Pustaka

- [1] Shuler, M. L., and Kargi, F., "Bioprocess Engineering Basic Concepts", Prentice-Hall International Inc., New Jersey, 1992.
- [2] Woinaroschy, A., Nica, A., Ofiteru, I., Lavric, V., "Kinetic Models for Citric Acid Production, REV". CHIM. (Bucharest), 61(10), 2010.
- [3] Amenaghawon, N., and Aisien, F., "Modelling and Simulation of Citric Acid Production from Corn Starch Hydrolysate Using *Aspergillus niger*", Environment and Natural Resources Research, 2 (1), 2012, pp.73-85.
- [4] Pham, C., Marquez, R., Guzman, J., "Submerged Batch Fermentation Of Citric Acid Production Using *Aspergillus niger*: Optimization and Kinetic Modelling", Scientific Paper: Submerged Batch, 1997, pp.166-181.
- [5] Znad, A., Blazej, M., Bales, V., and Markos, J., "A Kinetic Model For Gluconic Acid Production by *Aspergillus niger*", Chem. Pap., 58 (1), 2003, pp.23-28.