

## PENGEMBANGAN MODEL MATEMATIKA PROSES SIMULTAN ANTARA SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI PADA PRODUKSI POLYHYDROXYBUTYRATE

Margono\*

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret  
Jl. Ir. Sutami No. 36 A, Surakarta 57126 Telp/fax: 0271-632112

\*Email: mrgono04@yahoo.com

**Abstract:** One of the amylolytic bacteria that are able to accumulate polyhydroxybutyrate (PHB) intracellularly is *Bacillus* sp. However, the ability of these bacteria to synthesize PHB is unknown so further research is still needed. This study aimed to develop a mathematical model of the fermentation process that can be used as a tool for process optimization in the context of the production of PHB using amylolytic bacterium *Bacillus* sp. and substrate tapioca. Mathematical model is based on a review of simultaneous process between the saccharification and fermentation. Mathematical model consists of 5 simultaneous ordinary differential equations and 15 kinetics parameters. Parameters of the mathematical models was determined by matching the data (data fitting) of experiments and simulations using the genetic algorithm method and MATLAB programming language. The data was obtained from the experiments of batch process using 1000 mL of shaken flask with working volume of 250 mL. Incubation was performed in an incubator shaker at room temperature, the speed of 130 rpm, and initial pH 7.0. The values of the parameters were  $\mu_{opt}$  0.037 1/hour,  $V_m$  1,235 1/hr,  $K_m$  60.654 g / L, the cell yield ( $Y_{RSg}$ ) 0.170 g dry weight / g glucose and product yield ( $Y_{PSg}$ ) 0.032 g PHB / g glucose.

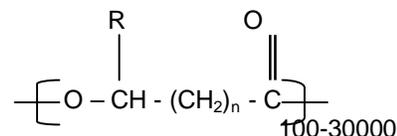
**Keywords:** *Bacillus* sp.; optimization; parameters; mathematical models; polyhydroxybutyrate

### PENDAHULUAN

Penggunaan bahan sintetik, khususnya plastik, semakin meningkat dari waktu ke waktu. Akumulasi sampah plastik tak dapat dihindari dan menimbulkan masalah lingkungan karena pada umumnya plastik yang digunakan sulit terurai dan tidak semuanya dapat didaur ulang. Sebagai contoh, menurut Scott (2000), di Eropa, hanya sekitar 25 % sampah plastik diproses daur ulang sehingga 75 % dibuang ke tempat sampah. Disamping itu, cadangan bahan baku plastik yaitu minyak bumi semakin berkurang dari waktu ke waktu. Cadangan minyak Indonesia saat ini terdiri dari 4,19 milyar barrel cadangan terbukti dan 4,44 milyar barrel cadangan potensial (Yusgiantoro, 2006). Cadangan minyak tersebut diperkirakan akan habis dalam waktu 10 – 15 tahun. Oleh karena itu, perlu ada bahan alternatif yang dapat mengatasi permasalahan tersebut.

*Polyhydroxybutyrate* (PHB) merupakan bahan plastik alternatif potensial karena sifat-sifatnya mirip polipropilen, ramah lingkungan (biodegradabel) dan diproduksi dari bahan terbarukan. PHB memiliki kegunaan yang luas dalam bidang kesehatan dan bioteknologi, juga dalam industri makanan dan kosmetik. Aplikasi penggunaannya antara lain alat-alat bedah,

bahan-bahan pendukung yang ditanam dalam tubuh (misalnya: organ tiruan, benang jahit operasi, dan tulang pengganti), *bioadhesive*, dan bahan-bahan untuk ortopedi (Angelova and Hunkeler, 1999). Rumus bangun PHB ditunjukkan pada Gambar 1.

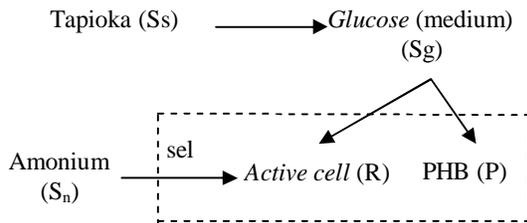


Gambar 1. Rumus Bangun PHB

Namun demikian, biaya produksi PHB masih cukup tinggi sehingga produk plastik ini belum memasyarakat seperti plastik berbasis minyak bumi. Tingginya biaya produksi antara lain disebabkan oleh faktor biaya bahan baku, yaitu 40% biaya produksi (Lee, 1996). Oleh karena itu, salah satu usaha untuk menurunkan biaya produksi adalah dengan menggunakan bahan baku murah, antara lain tapioka. *Bacillus* sp. merupakan salah satu kelompok bakteri yang mampu mendegradasi tapioka (amilolitik) sekaligus mensintesis PHB. Hanya saja, kemampuan bakteri ini dalam mensintesis PHB belum diketahui dan belum ada publikasi

tentanginya. Dengan demikian, studi kinetika proses sintesis PHB menggunakan *Bacillus* sp. penting untuk dilakukan. Hasil studi kinetika tersebut ditampilkan dalam bentuk model matematika sehingga dapat digunakan sebagai alat bantu untuk melakukan optimasi proses.

Tujuan penelitian ini adalah melakukan pemodelan matematika pada proses fermentasi produksi PHB menggunakan bakteri amilolitik *Bacillus* sp. dan substrat tapioka. Pemodelan matematika dikembangkan berdasarkan model pemanfaatan tapioka oleh bakteri amilolitik sebagai berikut.



Gambar 2. Proses Pemanfaatan Tapioka oleh Bakteri

Gambar 2 menunjukkan bahwa dalam proses produksi PHB ada 2 langkah proses simultan, yaitu sakarifikasi ekstraseluler dan fermentasi PHB intraseluler. Perhitungan jumlah masing-masing komponen didasarkan pada 5 persamaan matematika yang mewakili kondisi masing-masing komponen bahan ( $S_s$ ,  $S_g$ ,  $S_n$ , dan  $P$ ).

## LANDASAN TEORI

Kondisi riil dalam peristiwa fermentasi sebenarnya sangat kompleks sehingga memerlukan berbagai asumsi agar dapat disusun model matematika yang lebih sederhana. Berbagai asumsi yang dipakai dalam tulisan ini adalah sebagai berikut:

1. Selalu terjadi kesetimbangan antara konsentrasi glukosa dalam medium dengan glukosa dalam sel.
2. Sel ( $X$ ) tersusun dari 2 komponen, yaitu komponen aktif ( $R$ ) dan produk PHB ( $P$ ).
3. Kinetika pertumbuhan mengikuti kinetika Monod (Bailey and Ollis, 1986). Pengaruh nutrisi pembatas berupa sumber nitrogen (ion amonium) dan sumber karbon (glukosa) dan bentuk penghambatannya dinyatakan secara terpisah serta mengikuti salah satu dari persamaan empiris yang diajukan oleh Andrews (1968):

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_{Si}}} \quad (1)$$

Khanna dan Srivastava (2005):

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \left[ 1 - \left( \frac{S}{S_m} \right)^n \right] \quad (2)$$

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \left( 1 - \frac{S}{S_m} \right)^n \quad (3)$$

Kecepatan pertumbuhan bakteri dalam kultur *batch* sebanding dengan jumlah bakteri dan dituliskan dalam persamaan sebagai berikut (Shuler and Kargi, 2002).

$$\frac{dR}{dt} = \mu_{opt} R \quad (4)$$

4. Hubungan kecepatan pembentukan produk ( $P$ ) dengan kecepatan pertumbuhan mengikuti model *growth associated product* dan *non growth associated product*.

$$\frac{dP}{dt} = k_1 \frac{dR}{dt} + k_2 R \quad (5)$$

5. Seluruh reaksi enzimatik yang terjadi mengikuti kinetika *Michaelis Menten*.

Reaksi sakarifikasi ekstraseluler (tapioka menjadi glukosa) dianggap mengikuti kinetika *Michaelis-Menten* dan dinyatakan sebagai berikut.

$$v = v_m \frac{S_s}{K_m + S_s} \quad (6)$$

Jika kecepatan pembentukan glukosa dianggap sebanding dengan jumlah bakteri maka neraca massa tapioka ( $S_s$ ) dalam medium adalah sebagai berikut.

$$\frac{dS_s}{dt} = -vR = -v_m \frac{S_s}{K_m + S_s} R \quad (7)$$

Glukosa selalu terbentuk menurut reaksi (6) serta dikonsumsi oleh bakteri untuk pertumbuhan sel ( $R$ ), pembentukan produk ( $P$ ), dan *maintenance*, sehingga neraca massa glukosa dapat dituliskan dalam persamaan berikut.

$$\frac{dS_g}{dt} = v_m \frac{S_s}{K_m + S_s} R - \left( \frac{1}{Y_{RS_g}} + \frac{k_1}{Y_{PS_g}} \right) \left( \frac{dR}{dt} \right) - \left( \frac{k_2}{Y_{PS_g}} + m_1 \right) R \quad (8)$$

Ion amonium dalam medium fermentasi dimanfaatkan oleh bakteri untuk pertumbuhan sel ( $R$ ) dan *maintenance*. Neraca massa amonium ( $S_n$ ) dalam medium adalah sebagai berikut.

$$-\frac{dS_n}{dt} = \frac{1}{Y_{RS_n}} \frac{dR}{dt} + m_2 R \quad (9)$$

Model matematika yang digunakan untuk perhitungan konsentrasi bahan setiap saat terdiri dari 5 persamaan diferensial ordiner simultan, yaitu persamaan (4), (5), (7), (8), dan (9). Parameter kinetika terdiri dari 15 buah, 5 ditetapkan dengan percobaan tersendiri dan lainnya ditentukan secara simultan menggunakan metode algoritma genetika.

## METODE PENELITIAN

**Medium dan inokulum.** Bakteri amilolitik *Bacillus* sp. pembentuk PHB ditumbuhkan dalam medium Ramsay (1990) yang dimodifikasi. Komposisi medium fermentasi (per liter) adalah  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  6,7 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,5 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,0 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2 g,  $\text{FeSO}_4$  28,5 mg,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  10 mg, *trace element* 1 mL. Komposisi *trace element* (per liter) adalah  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0,3 g,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0,2 g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  10 mg,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  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, dan  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  10 mg. Komposisi medium starter terdiri dari (per liter) *beef extract* 3 g, *peptone* 5 g, *yeast extract* 3 g, dan glukosa 10 g. Inkubasi starter dilakukan dalam *incubator shaker* pada suhu kamar dan kecepatan 130 rpm selama 24 jam.

Studi penghambatan oleh substrat. Bentuk penghambatan pertumbuhan oleh substrat yang dipelajari adalah pengaruh glukosa dan amonium. Kultur percobaan berupa erlenmeyer volume 250 mL dan diisi medium sebanyak 70 mL. Pengaruh konsentrasi glukosa dipelajari pada konsentrasi amonium sulfat 1 g/L. Konsentrasi glukosa divariasikan pada konsentrasi 0,1; 0,5; 2; 4; 10; 30; 40; 50; 60; 70; 80; 90; 100; 110 g/L. Medium diinokulasi dengan starter sebanyak 10 % v/v, kemudian diinkubasi dalam *incubator shaker* pada suhu kamar, kecepatan 130 rpm dan pH awal 7,0. Sampel diambil secara periodik dan dilakukan analisis kadar berat kering sel. Percobaan pengaruh konsentrasi amonium dilakukan dengan konsentrasi glukosa 10 g/L dan konsentrasi amonium sulfat bervariasi. Konsentrasi amonium dipelajari pada 0,027; 0,136; 0,272; 0,545; 0,817; 1,635; 2,180; 2,724; 5,449; 8,173; 10,898 g/L. Medium diinokulasi dengan starter sebanyak 10 v/v, kemudian diinkubasi dalam *incubator shaker* pada suhu kamar, kecepatan 130 rpm, dan pH awal 7,0. Sampel diambil secara periodik setiap 45 menit dan dilakukan analisis kadar berat kering sel.

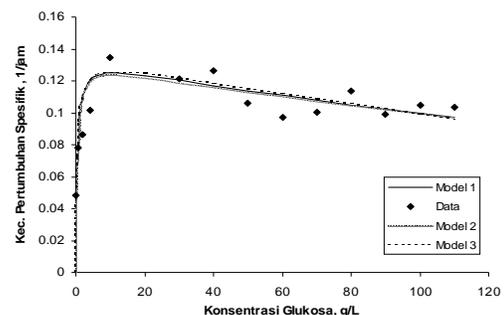
Fermentasi. Percobaan dilakukan menggunakan Erlenmeyer 1 L dengan volume medium 250 mL. Starter untuk inokulasi terdiri dari 2 tahap, yaitu starter 1 menggunakan medium starter dan starter 2 menggunakan medium fermentasi. Starter 1 diinkubasi selama

24 jam dan starter 2 diinkubasi selama 48 jam. Substrat sumber karbon pada percobaan ini menggunakan tapioka dengan konsentrasi 10 g/L. Fermentasi dilakukan selama 97 jam dan dilakukan sampling secara periodik. Analisis sampel terdiri dari pemeriksaan konsentrasi berat kering, produk PHB, gula total, glukosa, dan ion amonium.

Analisis kimia. Konsentrasi berat kering sel dianalisis menggunakan spektrofotometer pada 600 nm. Gula total menggunakan metode fenol (Dubois, 1956). PHB diekstraksi dari dalam sel menggunakan 3 mL buffer fosfat dan 1 mL larutan hipoklorid komersial, diinkubasi dalam shaker selama 24 jam, disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, kemudian secara berturut-turut pellet dicuci menggunakan 5 mL aquades dan 3 mL aseton serta masing-masing disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. Pelet dicuci dengan 3 mL eter secara perlahan kemudian dikeringkan. Pelet ditambah dengan 3 mL asam sulfat pekat dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit, setelah dingin diukur absorbansinya pada 238 nm. Glukosa dianalisis menggunakan glucose kit (*Glucose GOD FS*) produk diasys, Germany. Konsentrasi ion amonium dianalisis menggunakan *phenate metode*.

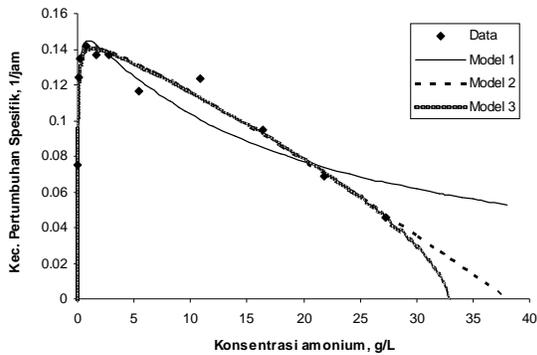
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi penghambatan oleh substrat. Konsentrasi substrat (glukosa dan amonium) sangat berpengaruh pada kecepatan pertumbuhan sel. Percobaan dengan variasi kadar substrat menunjukkan bahwa pada konsentrasi tinggi kecepatan pertumbuhan sel semakin menurun. Hal ini berarti bahwa ada proses penghambatan oleh substrat. Hasil percobaan studi penghambatan oleh substrat menunjukkan pola yang berbeda antara pengaruh glukosa dengan pengaruh amonium terhadap pertumbuhan. Pengaruh substrat terhadap pertumbuhan ditunjukkan pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Glukosa terhadap Pertumbuhan Sel

Tetapan masing-masing persamaan adalah  $K_s = 0,413$  g/L dan  $K_{si} = 291,022$  g/L untuk persamaan (1),  $K_s = 0,396$  g/L,  $S_m = 598,905$  g/L, dan  $n = 0,761$  untuk persamaan (2), serta  $K_s = 0,412$  g/L,  $S_m = 982,567$  g/L, dan  $n = 2,802$  untuk persamaan (3). Ralat relatif rata-rata persamaan (1), (2), dan (3) masing-masing sebesar 9,08, 8,81 dan 9,34 persen. Berdasarkan data tersebut, secara matematik ketiga persamaan memiliki tingkat kesesuaian dengan data yang relatif sama. Namun demikian, persamaan (2) dan (3) memuat besaran fisis konsentrasi glukosa maksimum yang belum diverifikasi. Bahkan  $S_m$  pada persamaan (3) memiliki nilai yang tidak wajar. Dengan demikian, persamaan penghambatan oleh glukosa lebih sesuai jika menggunakan persamaan (1). Pola penghambatan oleh glukosa tersebut berbeda dengan pola yang ditunjukkan oleh fruktosa pada bakteri *R. eutropha*. Khanna dan Srivastava (2005) menunjukkan bahwa pola penghambatan oleh fruktosa pada *R. eutropha* lebih sesuai dengan model persamaan (3).



Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi Amonium terhadap Pertumbuhan Sel

Tetapan masing-masing persamaan adalah  $\mu_m = 0,159$  1/jam,  $K_s = 0,048$  g/L dan  $K_{si} = 18,958$  g/L untuk persamaan (1),  $\mu_m = 0,147$  1/jam,  $K_s = 0,037$  g/L,  $S_m = 37,983$  g/L, dan  $n = 1,168$  untuk persamaan (2), serta  $\mu_m = 0,148$  1/jam,  $K_s = 0,038$  g/L,  $S_m = 32,913$  g/L, dan  $n = 0,672$  untuk persamaan (3). Ralat relatif rata-rata masing-masing persamaan secara berurutan sebesar 8,95, 5,23, dan 4,66 persen. Berdasarkan pola pengaruh konsentrasi amonium yang ditunjukkan Gambar 4 dan tingkat kesalahan relatif rata-rata dapat disimpulkan bahwa persamaan (3) lebih mewakili pola pengaruh konsentrasi amonium terhadap pertumbuhan bakteri. Khanna dan Srivastava (2005) menunjukkan pola yang sama pada penghambatan pertumbuhan oleh amonium pada bakteri *R. eutropha*.

Berdasarkan studi penghambatan di atas, kinetika pertumbuhan bakteri yang dipengaruhi oleh konsentrasi glukosa dan amonium dapat dituliskan seperti pada persamaan (10). Nilai tetapan kinetika pada persamaan (10) adalah  $K_{Sg} = 0,413$  g/L,  $K_{Sgi} = 291,022$  g/L,  $K_{Sn} = 0,038$  g/L,  $S_{nm} = 32,913$  g/L, dan  $n = 0,672$ . Nilai  $\mu_{opt}$  ditentukan berdasarkan percobaan fermentasi menggunakan substrat tapioka.

$$\frac{dR}{dt} = \mu_{opt} \left( \frac{S_g}{K_{Sg} + S_g + \frac{S_g^2}{K_{Sgi}}} \right) \left( \frac{S_n}{K_{Sn} + S_n} \right) \left( 1 - \frac{S_n}{S_{nm}} \right)^n R \quad (10)$$

Fermentasi. Model matematika yang terdiri dari persamaan (5), (7), (8), (9), dan (10) harus diselesaikan secara simultan. Parameter kinetika yang ada pada 5 persamaan tersebut terdiri dari 15 buah, yaitu  $\mu_{opt}$ ,  $K_m$ ,  $v_m$ ,  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $m_1$ ,  $m_2$ ,  $Y_{RSg}$ ,  $Y_{PSg}$ ,  $Y_{RSn}$ ,  $K_{Sg}$ ,  $K_{Sgi}$ ,  $K_{Sn}$ ,  $S_{nm}$ , dan  $n$ . Penentuan parameter kinetika dilakukan dalam 2 jenis percobaan, yaitu 5 parameter terakhir ( $K_{Sg}$ ,  $K_{Sgi}$ ,  $K_{Sn}$ ,  $S_{nm}$ , dan  $n$ ) ditentukan berdasarkan percobaan penghambatan oleh substrat sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya dan 10 parameter yang lain ditentukan dari percobaan fermentasi menggunakan substrat tapioka. Hasil percobaan fermentasi ditunjukkan pada Tabel 1.

Parameter kinetika ditentukan menggunakan cara pencocokan data (*data fitting*) dengan parameter jumlah kesalahan kuadrat terkecil atau SSE (*Sum Square of Errors*) minimum. Perhitungan SSE dilakukan dengan persamaan (11).

Penentuan nilai parameter kinetika tersebut dilakukan dengan metode algoritma genetika dan penyelesaian persamaan diferensial menggunakan metode Runge Kutta. Metode penyelesaian tersebut dilakukan dengan *software MATLAB 6.5*. Hasil optimasi parameter kinetika tersebut ditunjukkan pada Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Parameter kinetika

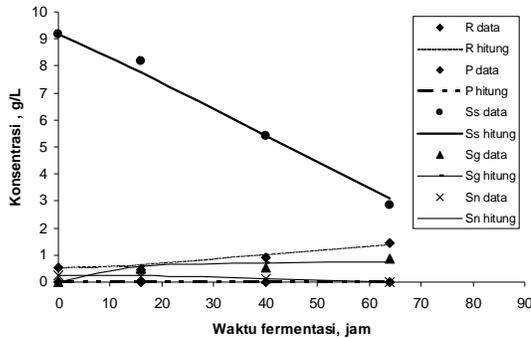
No.	Parameter	Satuan	Harga
1.	$\mu_{opt}$	1/jam	0,0367
2.	$K_m$	g/L	60,6536
3.	$v_m$	1/jam	1,2350
4.	$k_1$	-	0,000080
5.	$k_2$	1/jam	0,000062
6.	$m_1$	1/jam	0,000436
7.	$m_2$	1/jam	0,000129
8.	$Y_{RSg}$	g sel/g glk	0,1698
9.	$Y_{PSg}$	g PHB/g glk	0,0321
10.	$Y_{RSn}$	g sel/g amm	3,5924

Tabel 1. Hasil fermentasi menggunakan substrat tapioca

No	Waktu, jam	Konsentrasi, g/L				
		R	P	Ss	Sg	Sn
1.	0	0,52	0,0079	9,1568	0	0,2655
2.	16	0,45	0,0106	8.1681	0,5033	0,2018
3.	24	0,91	0,0054	5.4169	0,5331	0,1077
4.	64	1,45	0,0131	2.847	0,87	0,0168

$$SSE = \sum [l_1 (S_{Sdata} - S_{Shitung})^2 + l_2 (S_{gdata} - S_{ghitung})^2 + l_3 (S_{ndata} - S_{nhitung})^2 + l_4 (R_{data} - R_{hitung})^2 + l_5 (P_{data} - P_{hitung})^2] \quad (11)$$

Perbandingan konsentrasi hasil perhitungan dan data percobaan diunjukkan pada Gambar 5. Ralat relatif rata-rata konsentrasi hasil perhitungan terhadap data percobaan adalah sebesar 13,65 %.



Gambar 5. Konsentrasi Fungsi Waktu (Data dan Simulasi)

### KESIMPULAN

Proses produksi PHB dari tapioca dapat dilakukan dalam satu tahap fermentasi dengan menggunakan bakteri amilolitik *Bacillus* sp. Proses ini terdiri dari 2 proses simultan, yaitu sakarifikasi ekstraseluler dan fermentasi intraseluler. Model matematika yang terdiri dari 5 persamaan diferensial simultan dengan 15 parameter kinetika dapat digunakan untuk memprediksi konsentrasi masing-masing komponen bahan (berat kering, produk PHB, tapioca sisa, glukosa, dan amonium sisa) dengan ralat relatif rata-rata 13,65%.

### DAFTAR DAN ARTI LAMBANG

- $K_m$  : tetapan kejenuhan reaksi sakarifikasi, g/L.
- $K_{Sg}, K_{Sn}$  : tetapan kejenuhan glukosa atau ammonium, g/L.
- $K_{Sgi}$  : tetapan penghambatan oleh glukosa, g/L.
- $n$  : tetapan.
- $P$  : konsentrasi PHB, g/L.
- $R$  : konsentrasi sel aktif, g/L.
- $S$  : konsentrasi substrat, g/L.
- $S_m$  : konsentrasi substrat maksimum saat bakteri tidak dapat tumbuh lagi, g/L.
- $S_g, S_n$  : konsentrasi substrat glukosa atau ammonium, g/L.
- $S_{nm}$  : konsentrasi amonium maksimum saat bakteri tidak dapat tumbuh lagi, g/L.
- $S_s$  : konsentrasi tapioca sisa, g/L.
- $t$  : waktu fermentasi, jam.
- $X$  : kadar berat kering sel, g/L.
- $\mu$  : kecepatan pertumbuhan spesifik bakteri, 1/jam.
- $\mu_m$  : kecepatan pertumbuhan spesifik maksimum bakteri, 1/jam.
- $\mu_{opt}$  : kecepatan pertumbuhan spesifik optimum, 1/jam.
- $k_1, k_2$  : tetapan
- $l_1, l_2, l_3, l_4, l_5$  : tetapan
- $m_1, m_2$  : tetapan
- $v_m$  : kecepatan reaksi maksimum sakarifikasi, 1/jam.
- $Y_{RSg}$  : yield sel terhadap glukosa, g sel/g glukosa.
- $Y_{PSg}$  : yield PHB terhadap glukosa, g PHB/g glukosa.
- $Y_{RSn}$  : yield sel terhadap amonium, g sel/g amonium.

---

## DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, J.F., 1968, A Mathematical Model for the Continuous Culture of Microorganisms Utilizing Inhibitory Substrates, dalam Bailey, J.E. and Ollis, D.F., 1986, *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2<sup>nd</sup> ed., p.392, McGraw-Hill Book Company, New York.
- Angelova, N. and Hunkeler, D., 1999, *Rationalizing The Design of Polymeric Biomaterials*, Tibtech, 17, 409-417.
- Bailey, J.E. and Ollis, D.F., 1986, *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2<sup>nd</sup> ed., McGraw-Hill Book Co., New York.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F., 1956, *Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances*, Anal. Chem., 28, 350-356.
- Khanna, S. and Srivastava, A.K., 2005, *A Simple Structured Mathematical Model for Biopolymer (PHB) Production*, Biotechnol. Prog., 21(3), 830-838.
- Lee, S.Y., 1996, *Plastic Bacteria? Progress and Prospects for Polyhydroxyalkanoate Production in Bacteria*, Tibtech, 14, 431-438.
- Ramsay, B.A., Lomaliza, K., Chavarie, C., Dube, B., Bataille, and Ramsay, J.A., 1990, *Production of Poly( $\beta$ -Hydroxybutyric-Co- $\beta$ -Hydroxyvaleric) Acids*, Appl. Environ. Microbiol., 56(7), 2093-2098.
- Scott, G., 2000, *Green Polymers*, Polym. Degrad. Stab, 68, 1-7.
- Shuler, M.L. and Kargi, F., 2002, *Bioprocess Engineering Basic Concepts*, 2<sup>nd</sup> ed., Prentice Hall PTR, Upper Saddle River.
- Yusgiantoro, P., 2006, *Pidato Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral Republik Indonesia*, Jakarta 2006 International Geosciences Conference and Exhibition and Pengumuman Lelang dan Penawaran Langsung Wilayah Kerja Baru Migas Tahun 2006.